




UTILIDAD DEL TEST

Los sulfitos se producen de forma natural durante la fermentación, pero también se añaden para detener el proceso de fermentación (por ejemplo, es conocido el retraso de la fermentación maloláctica en presencia de sulfitos). Una buena parte del sulfito se encuentra unido de forma reversible a otros compuestos como azúcares o polifenoles; el sulfito libre (ya sea en forma de SO₂, HSO₃⁻ o H₂SO₄), por su parte, actúa como conservante para prevenir el deterioro del vino tanto por su capacidad antioxidativa como por su acción antimicrobiana. El sulfito libre ha sido asociado a diferentes reacciones alérgicas por lo que su determinación específica es un requisito legal en muchos países.

MÉTODO

El método se basa en la reacción específica de la Fucsina y el formaldehído con los iones bisulfito presentes en un medio ácido para formar un complejo coloreado. Otras sustancias capaces de reaccionar con la fucsina se determinan en una reacción paralela en la que el sulfito ha sido neutralizado por un agente oxidante. La diferencia de las absorbancias entre ambas reacciones, medida a 560 nm, es proporcional a la concentración de sulfito libre en la muestra.

CONTENIDO

| | | |
|----|---|--|
| R1 | 2 x 15 mL  | Tampón (pH < 1.5) <i>ATENCIÓN: H290 Puede ser corrosivo para los metales. H317 Puede provocar una reacción alérgica cutánea. P262 Evitar el contacto con los ojos, la piel y la indumentaria.</i> |
| R2 | 2 x 15 mL  | Tampón (pH < 1.5) <i>ATENCIÓN: H290 Puede ser corrosivo para los metales. H317 Puede provocar una reacción alérgica cutánea. P262 Evitar el contacto con los ojos, la piel y la indumentaria.</i> |
| R3 | 1 x 6 mL | Solución de fucsina (<0.2 mM) |
| R4 | 1 x 6 mL  | Formaldehído (<0.05%) <i>ATENCIÓN: H317 Puede provocar una reacción alérgica cutánea. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</i> |
| R5 | 1 x 0,5 mL | Peróxido de hidrógeno |

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivo RB: Pipetear en una botella de R1 exactamente 1.5 mL de R3, 1.5 mL de R4 y 0.15 mL de R5. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Esta mezcla es estable hasta 15 días a temperatura ambiente (20-25 °C) y preservada de la luz

Reactivo RT: Pipetear en una botella de R2 exactamente 1.5 mL de R3 y 1.5 mL de R4. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Esta mezcla es estable hasta 15 días a temperatura ambiente (20-25 °C) y preservada de la luz

Descartar si la absorbancia del blanco es inferior a 0.500 OD a 560 nm.

MUESTRAS

Para uso con muestras de vino y otras bebidas.

Utilice FREE SULFITE STD (Código SY2109) como calibrador. Estable 4 meses a 15-25 °C una vez abierto.

Las muestras deben estar libres de turbidez y partículas. Centrifugar o filtrar en caso necesario. La presencia de CO₂ introduce inestabilidad en la medida. Muestras que contengan CO₂ se deben desgasificar previamente. En muestras con intensidad de color muy alta, pueden aparecer interferencias. Tratar con PVPP (0.1 g por cada 10 mL) para reducir el nivel de color. Muestras con concentración superior al rango de medida deben diluirse acordemente con agua estilada. Multiplicar el resultado final por el factor de dilución.

PROCEDIMIENTO

Trate calibradores, controles y muestras como 'Muestra'. Utilice agua destilada como 'Blanco'.

Los volúmenes referidos pueden ajustarse a otros procedimientos analíticos. La funcionalidad esperada puede variar si se utilizan razones S:R1 o S:R2 diferentes.

Pipetear en una cubeta:

| | Reac. Blank (RB) | | Reac. Muestra (RS) | |
|----------------|------------------|---------|--------------------|---------|
| | Blanco | Muestra | Blanco | Muestra |
| Reactivo 1 | 800 µL | 800 µL | -- | -- |
| Reactivo 2 | -- | -- | 800 µL | 800 µL |
| Agua destilada | 20 µL | -- | 20 µL | -- |
| Muestra/Std | -- | 20 µL | -- | 20 µL |

Mezclar e incubar durante 10 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 560 nm para el blanco de reacción (RB) y la reacción de muestra (RS).

La concentración de sulfito libre se determina como:

$$T_{RB} = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})}{(A_{\text{std}} - A_{\text{blank}})} \times C \text{ mg/L} \quad T_{RS} = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})}{(A_{\text{std}} - A_{\text{blank}})} \times C \text{ mg/L}$$

$$\text{Free Sulfite} = (T_{RS} - T_{RB}) \text{ mg/L}$$

C es el valor de concentración indicado en la etiqueta del calibrador.

APLICACIÓN PARA ANALIZADORES Y15/Y25®

| GENERAL | Nombre | SO2-BLANK (RB) | SO2-TEST (RT) |
|---------|----------------------|------------------|------------------|
| | Modo análisis | Punto final mono | Punto final mono |
| | Tipo muestra | ST1 | ST1 |
| | Unidades | mg/L | mg/L |
| | Tipo reacción | Creciente | Creciente |
| | Decimales | 1 | 1 |
| | Replicados | 1 | 1 |
| PROC. | Lectura | Monocromática | Monocromática |
| | Muestra | 5 | 5 |
| | Reactivo 1 | 200 | 200 |
| | Reactivo 2 | -- | -- |
| | Lavado | 1.2 | 1.2 |
| | Factor Predilución | -- | -- |
| | Factor Postdilución | 2 | 2 |
| | Principal | 560 | 560 |
| | Secundaria | -- | -- |
| | Lectura 1 a | 600 s | 600 s |
| | Lectura 2 a | -- | -- |
| | Añadir reactivo 2 a | -- | -- |
| CAL. | Tipo Calibración | Factor* | Específico |
| | Curva calibración | -- | Regresión lineal |
| OP. | Límite abs. Blank | 0.500 | 0.500 |
| | Lím. Blanco cinético | -- | -- |
| | Límite linealidad | 160 | 160 |

*El factor a utilizar es el inverso de la pendiente de la recta de calibración SO2-TEST

Utilizar RB para la reacción SO2-BLANK y RT para la reacción SO2-TEST.

Utilizar la opción de métodos calculados para SULFITO LIBRE como:

[SULFITO LIBRE]
 [SO2-TEST]-[SO2-BLANK]
 Units: mg/L
 Reference range: 2-160
 Print experimental test: No

El procedimiento es lineal hasta 160 mg/L. Calibre con un único punto utilizando el calibrador de mayor concentración, o con varios puntos según determine su procedimiento de trabajo.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Límite de Cuantificación (LoQ): 2 mg/L

Límite de Linealidad: 160 mg/L

NOTAS

Se recomienda utilizar vinos control para verificar la calidad de la calibración. Cada laboratorio debe establecer sus propios criterios de aceptación, así como las acciones correctivas necesarias en caso de rechazo.

Y15 e Y25 son marcas registradas de BioSystems SA.

