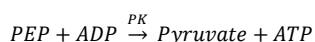
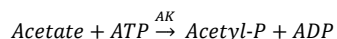


## UTILIDAD DEL TEST

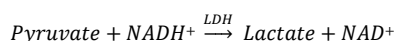
El ácido acético es el principal indicador de deterioro del vino, aunque en pequeñas cantidades (inferior a 300 mg/L) contribuye a dotarlo de características organolépticas apreciadas mediante la formación de ésteres y otros compuestos. Se produce principalmente a partir de la oxidación del etanol por determinadas bacterias (especialmente del género *Acetobacter*). La determinación de ácido acético permite monitorizar posibles situaciones de deterioro durante el proceso de elaboración.

## MÉTODO

La acetato quinasa (AK) fosforila al ácido acético en presencia de ATP produciéndose ADP. El fosfoenolpiruvato (PEP) transfiere el grupo fosfato al ADP mediante la acción de la piruvato quinasa (PK), regenerando el ATP consumido en la reacción anterior y produciendo piruvato.



El piruvato se reduce a lactato consumiendo NADH por la acción de la lactato deshidrogenasa (LDH)



La disminución de absorbancia a 340 nm asociada al consumo de NADH es directamente proporcional a la concentración de acético en la muestra.

## CONTENIDO

R1	2 x 30 mL	Tampón MOPS 100 mM, NADH <sup>+</sup> 0,6 mM, PEP 1,25 mM, ATP 5 mM, pH 7.5
R2	1 x 15 mL	Tampón MOPS 100 mM, pH 7.5, AK (>50 kUI/L), LDH (>40 kUI/L), PK (> 100 kUI/L)
CTRL	1 x 3 mL	Acético 0,50 g/L (0,42 – 0,57 g/L)

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos están listos para el uso. Evitar contaminación con otros reactivos. No congelar

Descartar si la absorbancia del blanco es inferior a 1.000 OD a 340 nm.

## MUESTRAS

Las muestras deben estar libres de turbidez y partículas. Centrifugar o filtrar en caso necesario. Mantener las muestras en tubo cerrado hasta el momento del análisis debido a la volatilidad del ácido acético. En muestras con intensidad de color muy alta, el pigmento puede interferir en la medida. 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 destilada. Multiplicar el resultado final por el factor de dilución.

## PROCEDIMIENTO

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

Utilice WINECONTROL (código SD2200) o WINECALRTU (código SY2100R) como calibrador.

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

Pipetear en una cubeta:

	Reac. Blanco	Reac. Muestra
Reactivo 1	720 µL	720 µL
Agua destilada	9 µL	--
Muestra/Patrón	--	9 µL

Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37 °C.

Después añadir a la cubeta:

	Reac. blanco	Reac. muestra
Reactivo 2	180 µL	180 µL

Mezclar e incubar durante 10 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm inmediatamente después de añadir R2 (A<sub>1</sub>) y a los 10 minutos (A<sub>2</sub>).

La concentración de ácido acético se determina como:

$$\text{Acetic} = \frac{(A_2 - A_1)_{\text{sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{blank}}}{(A_2 - A_1)_{\text{standard}} - (A_2 - A_1)_{\text{blank}}} \times C \text{ g/L}$$

C es el valor de concentración indicado en el calibrador para ácido acético.

## APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	ACETICO	
Método	Punto Final C	
Dirección	Decreciente	
Onda Principal	340	
Onda Secundaria	--	
Muestra	3	
Reactivo 1	240	
Reactivo 2	60	
Calibración	Linear	
Ciclo Blanco [150   240]	0 - 0	0 - 0
Ciclo Lectura [150   240]	5 - 15	5 - 31
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0,03 ~ 1,20	
R1 Lim. Abs	10000	
Ratio Dil. Auto.	-	
Vol. Muestra Dil. Auto	-	

El procedimiento es lineal hasta 1.20 g/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): 0.03 g/L

Límite de linealidad: 1.20 g/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.

## REFERENCIAS

- Compendium of International methods of analysis – OIV, Vol1&2 (2008). Resolución OIV-OENO 621-2019
- Bermeyer, HU. Methods of Enzymatic Analysis, 2<sup>nd</sup> Ed. Vol. 1, p. 112-117. Academic Press, Inc. NY.

