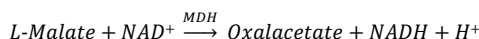


## UTILIDAD DEL TEST

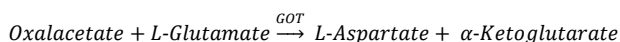
El ácido málico, tanto en forma libre como esterificado, se encuentra presente de forma habitual en frutos en proceso de maduración y es el responsable del sabor astringente de la fruta no madura. Su concentración se reduce según se va completando la maduración. En el proceso de elaboración del vino, más del 30% del ácido málico se transforma mediante un proceso de fermentación en ácido láctico (fermentación maloláctica) que contribuye a reducir la acidez inicial del mosto. El control de los niveles de ácido málico presentes es necesario para mantener las características de sabor, acidez y astringencia deseadas.

## MÉTODO

La malato deshidrogenasa (MDH) cataliza la oxidación del ácido málico a oxalacetato con la formación de NADH.



El oxalacetato es eliminado del medio mediante su transformación a aspartato por la acción de la aspartato amino transferasa (AST/GOT).



El aumento de absorbancia a 340 nm asociada a la formación de NADH es directamente proporcional a la concentración de ácido málico en la muestra.

## CONTENIDO

R1A	2 x 24 mL	Tampón Gly-Gly 200 mM, pH 9.0
R1B	2 x 8 mL	MDH (> 3 U/mL), AST (> 2 U/m)
R2	1 x 16 mL	NAD <sup>+</sup>
CTRL	1 x 3 mL	Control Ácido L-Málico 2,50 g/L (2,12 – 2,88 g/L)

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivo de Trabajo 1 (RT1). Vaciar el contenido del vial de R1B dentro de la botella R1A. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 3 mL de Reactivo R1A + 1 mL de Reactivo R1B. Estable 4 meses a 2-8°C.

El Reactivo 2 y el Control están listos para su uso

Descartar si la absorbancia del blanco es superior a 0.500 OD a 340 nm.

## MUESTRAS

Para uso con muestras de vino y otras bebidas.

Las muestras deben estar libres de turbidez y partículas. Centrifugar o filtrar en caso necesario. La presencia de CO<sub>2</sub> introduce inestabilidad en la medida. Muestras que contengan CO<sub>2</sub> se deben desgasificar previamente. 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 estilada. 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 RT1	720 µL	720 µL
Agua destilada	9 µL	--
Muestra/Patrón	--	9 µL

Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A<sub>1</sub>).

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 (A<sub>2</sub>).

La concentración de ácido málico se determina como:

$$L - \text{Malic} = \frac{(A_2 - 0.80xA_{1})_{\text{sample}} - (A_2 - 0.80xA_{1})_{\text{blank}}}{(A_2 - 0.80xA_{1})_{\text{standard}} - (A_2 - 0.80xA_{1})_{\text{blank}}} \times C \text{ g/L}$$

El factor 0.80 se usa para corregir la absorbancia por la dilución tras añadir R2. C es el valor de concentración indicado en el calibrador para ácido málico.

## APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	L-MALIC	
Método	Punto Final A	
Dirección	Creciente	
Onda Principal	340	
Onda Secundaria	--	
Muestra	3	
Reactivo 1	240	
Reactivo 2	60	
Calibración	Linear	
Ciclo Blanco [150   240]	3 - 4	3 - 4
Ciclo Lectura [150   240]	20 - 21	31 - 32
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0,05 ~ 5,20	
R1 Lim. Abs	5000	
Ratio Dil. Auto.	-	
Vol. Muestra Dil. Auto	-	

El procedimiento es lineal hasta 5,20 g/L. Calibrar a un único punto con el calibrador de mayor valor o a varios puntos según su procedimiento de calidad.

## CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Límite de Cuantificación (LoQ): 0.05 g/L

Límite de Linealidad: 5.20 g/L

## NOTAS

El uso de una muestra control de forma regular proporciona información sobre el estado de calibración y posibles deterioros del reactivo. En caso de desviaciones superiores al 15% sobre el valor diana se aconseja revisar el estado de calibración de la prueba.

## REFERENCIAS

1. Compendium of International methods of analysis – OIV, Vol1&2 (2008). Official method OIV-MA-AS313-11
2. Bermejer, HU. Methods of Enzymatic Analysis, 2<sup>nd</sup> Ed. Vol. 1, p. 112-117. Academic Press, Inc. NY. (1974).
3. Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, Nury FS. Wine analysis and production. Van Nostrand Reinhold, 1<sup>st</sup> Ed. (1990).
4. Resolution OIV-OENO 599-2018. Determination of L-malic acid in wines by automated enzymatic method (2018).

