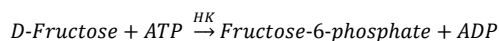
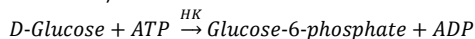


UTILIDAD DEL TEST

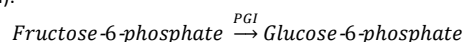
D-Glucosa y D-Fructosa son los principales azúcares reductores (fermentables) presentes en la uva y en otras frutas. Su determinación en la uva permite verificar el estado de madurez de la misma para establecer el momento óptimo de vendimia. En el mosto, para prever la cantidad de alcohol que se producirá durante la fermentación y, al final de la misma, para determinar el residuo remanente que pudiera reactivar fermentaciones no deseadas.

MÉTODO

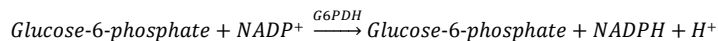
La hexoquinasa (HK) cataliza la fosforilación de D-Glucosa y D-Fructosa mediante la adenosin-5'-trifosfato ATP).



La fructosa-6-fosfato se convierte en glucosa-fosfato mediante la fosfoglucosa isomerasa (PGI).



La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) cataliza la oxidación de la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato mediante la reducción de NADP⁺.



El aumento de absorbancia a 340 nm asociada a la formación de NADPH es directamente proporcional a la concentración total de glucosa y fructosa en la muestra.

CONTENIDO

R1	2 x 30 mL	TEA 100 mM, pH 7.6, ATP 4 mM, NADP ⁺ 3 mM
R2	1 x 15 mL	HK (>0,5 UI/L), G6PDH (>1,8 UI/L), PGI (>8 UI/L)
CTRL	1 x 3 mL	Control Glucosa + Fructosa 3,0 g/L (2,55-3,45 g/L)

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos están listos para uso y son estables hasta la fecha de caducidad conservados a 2-8 °C. No congelar.

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

MUESTRAS

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, 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. Para mostos, diluir 1/40 o 1/20 según la concentración esperada.

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. Leer la absorbancia a 340 nm (A₁).

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 (A₂).

La concentración conjunta de D-Glucosa y D-Fructosa se determina como:

$$Glu + Fru = \frac{(A_2 - 0.80x A_1)_{\text{sample}} - (A_2 - 0.80x A_1)_{\text{blank}}}{(A_2 - 0.80x A_1)_{\text{standard}} - (A_2 - 0.80x A_1)_{\text{blank}}} \times C \text{ g/L}$$

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 glucosa.

APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	GLU+FRU	
Método	Punto Final A	
Dirección	Creciente	
Onda Principal	340	
Onda Secundaria	--	
Muestra	3	
Reactivo 1	240	
Reactivo 2	60	
Calibración	Lineal	
Ciclo Blanco [150 240]	3 -4	3 -4
Ciclo Lectura [150 240]	38 - 40	58 - 60
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0.20 ~ 6,00	
R1 Lim. Abs	5000	
Ratio Dil. Auto.	--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--	

El procedimiento es lineal hasta 6.00 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): 0.20 g/L

Límite de Linealidad: 6.00 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

1. Compendium of International methods of analysis – OIV, Vol1&2 (2008)
2. Bermyer, HU. Methods of Enzymatic Analysis, 2nd Ed. Vol. 1, p. 112-117. Academic Press, Inc. NY. (1974).
3. Resolution OIV-OENO 600-2018. Determination of D-Glucose and D-Fructose in wines by automated enzymatic method. (2018)