

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 antioxidante 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 578 nm, es proporcional a la concentración de sulfito libre en la muestra.

CONTENIDO

Referencia	Cantidad	Contenido
R1B	1 x 27 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>
R1T	1 x 30 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	1 x 3 mL	Peróxido de hidrógeno
R3	2 x 6 mL	Fucsina básica, Formaldehido
STD	1 x 5 mL	Metabisulfito de sodio 100 mg/L

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivo Blanco (RB): Vaciar el contenido de R2 y de un vial de R3 en la botella R1B. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Esperar al menos 20 minutos antes de usar. Esta mezcla es estable hasta 15 días a temperatura ambiente (20-25 °C) y preservada de la luz.

Reactivo (RT): Vaciar el contenido de un vial de R3 en la botella de R1T. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Esperar al menos 20 minutos antes de usar. 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 superior a 0.500 OD a 578 nm.

MUESTRAS

Utilice FREE SULFITE STD (Código SD6009) como calibrador. Estable 6 meses a 15-25 °C una vez abierto. Los sulfitos son sustancias volátiles: mantener cerrado el frasco de calibrador cuando no esté en uso.

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:RB o S:RT diferentes.

Pipetear en una cubeta:

	Reac. Blanco (RB)		Reac. Muestra (RS)	
	Blanco	Muestra	Blanco	Muestra
Reactivo T	800 µL	800 µL	--	--
Reactivo B	--	--	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 578 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 DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240	150	240
Nombre	SO2-RB		SO2-RT	
Método	Punto Final A		Punto Final A	
Dirección	Creciente		Creciente	
Onda Principal	578		578	
Onda Secundaria	--		--	
Muestra	5		5	
Reactivo 1	200		200	
Reactivo 2	--		--	
Calibración	*Factor		Lineal	
Ciclo Blanco [150 240]	2 - 2	2 - 2	2 - 2	2 - 2
Ciclo Lectura [150 240]	20 - 21	31 - 32	20 - 21	31 - 32
Unidades	mg/L		mg/L	
Decimales	0		0	
Rango medida	2 ~ 160		2 ~ 160	
R1 Lim. Abs	5000		5000	
Ratio Dil. Auto.	--		--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--		--	

*El factor es igual a 10000/K obtenida en FREE SO2-RT

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-RT]-[SO2-RB]
 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.

