

UTILIDAD DEL TEST

Los sulfitos se producen de forma natural durante la fermentación, pero también se añaden para detener el proceso de fermentación. En el vino actúan como conservantes para prevenir el deterioro tanto por su capacidad antioxidante como por su acción antimicrobiana. Bajo el concepto de sulfitos totales se determina la presencia de los mismos tanto en forma de anhídrido sulfuroso (SO₂), como en forma de ion bisulfito (HSO₂⁻) o ácido sulfuroso (H₂SO₃) ya sea en forma libre o unida a otros compuestos como azúcares o polifenoles. Es necesario controlar la concentración máxima de sulfito presente ya que a concentraciones altas puede resultar tóxico.

MÉTODO

En medio neutro los sulfitos se disocian de acetaldehído, polifenoles y azúcares y reaccionan con el 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB) para dar un compuesto coloreado (5-mercapto-2-nitrobenzoato).

La concentración de sulfito es proporcional a la absorbancia a 420 nm.

CONTENIDO

RT	1 x 30 mL	Tampón pH 8.2, etanol (>40%), DNTB
RB	1 x 30 mL	Tampón pH 8.2, etanol (>40%)
CAL	1 x 5 mL	Bisulfito sódico 150 mg/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 0.300 OD a 420 nm.

MUESTRAS

Para uso con muestras de vino y otras bebidas.

Utilice TOTAL SULFITE STD (Código SD6010) como calibrador. 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 una intensidad de color muy alta, pueden aparecer interferencias. Trate la muestra con hidróxido de sodio 2N en proporción 1: 1 para eliminar el color y aplique un factor de dilución de 2 al resultado. Muestras con concentración superior al rango de medida deben diluirse acordeamente 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:RT o S:RB diferentes.

Pipetear en cubetas separadas:

	Reac. Blank (RB)		Reac. Muestra (RS)	
	Blanco	Muestra	Blanco	Muestra
Reactivo R1B	800 µL	800 µL	--	--
Reactivo R1T	--	--	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 420 nm para el blanco de reacción (RB) y la reacción de muestra (RS).

La concentración de sulfito Total se determina como:

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

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

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

APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240	150	240
Nombre	SO2T-RB		SO2T-RT	
Método	Punto Final A		Punto Final A	
Dirección	Creciente		Creciente	
Onda Principal	420		420	
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]	18 - 19	28 - 29	18 - 19	28 - 29
Unidades	mg/L		mg/L	
Decimales	0		0	
Rango medida	5 ~ 250		5 ~ 250	
R1 Lim. Abs	3000		3000	
Ratio Dil. Auto.	--		--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--		--	

*El factor es 10000/K de la recta de calibración TOTAL SO2-RT

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

Utilizar la opción de métodos calculados para SULFITO TOTAL como:

[SULFITO TOTAL]
 [SO2T-RT]-[SO2T-RB]
 Units: mg/L
 Reference range: 5-250
 Print experimental test: No

El procedimiento es lineal hasta 250 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): 5 mg/L

Límite de Linealidad: 250 mg/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)
2. Bermejer, HU. Methods of Enzymatic Analysis, 2nd 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, 1st Ed. (1990).

