

## UTILIDAD DEL TEST

La presencia de cobre en vino es habitual debido tanto a los tratamientos fitosanitarios realizados sobre la uva, así como a la adición controlada de sales de cobre como parte del proceso de elaboración del vino. La mayor parte del cobre es precipitado en forma de sulfuros y filtrado posteriormente. Sin embargo, una concentración residual alta del mismo es tóxica y puede afectar severamente el proceso de fermentación alcohólica, acelerar la oxidación fenólica, ocasionar turbidez y producir precipitados en medio reductores. El control de la concentración de cobre es fundamental para asegurar tanto la estabilidad durante el proceso de maduración como garantizar el consumo seguro.

## MÉTODO

El cobre reacciona de forma específica con el cromógeno 4-(3,5-dibromo-2-piridilazo)-N-etil-N-sulfopropilnilina (3,5-diBr-PAESA) en presencia de dodecil-sulfato sódico (SDS). El aumento de color a 578 nm es directamente proporcional a la concentración de cobre.

## CONTENIDO

R1	1 x 30 mL	Tampón acetato, pH 4.5, SDS <i>ATENCIÓN: H319 Provoca grave irritación ocular. P262 Evitar el contacto con los ojos, la piel y la indumentaria. P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.</i>
R2	1 x 10 mL	Tampón acetato, pH 4.5, 3,5-diBr-PAESA
CTL	1 x 1 mL	Solución Cobre 1,05 mg/L (0,89 – 1,21 mg/L)
STD	1 x 1 mL	Solución de cobre 1,90 mg/L

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivos listos para el uso. Manténgalos cerrados a 2 – 8°C y protegidos de la luz cuando no se utilicen.

## MUESTRAS

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 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:R1:R2 diferentes.

Pipetear en una cubeta:

	Reac. Blank (RB)	
	Blanco	Muestra
Reactivo 1	750 µL	750 µL
Muestra/Std	--	50 µL
Agua destilada	50 µL	--

Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37 °C. Leer la absorbancia a 578 nm (A<sub>1</sub>).

Añadir:

Reactivo 2	250 µL	250 µL
------------	--------	--------

Incubar 3 minutos a 37 °C y leer la absorbancia a 578 nm (A<sub>2</sub>).

La concentración de cobre se determina como:

$$Copper = \frac{(A_2 - 0.77xA_1)_{sample} - (A_2 - 0.77xA_1)_{blank}}{(A_2 - 0.77xA_1)_{standard} - (A_2 - 0.77xA_1)_{blank}} \times C \text{ g/L}$$

El factor 0.77 se usa para corregir la absorbancia por dilución después de añadir R2. El valor de C es el que se indica en la etiqueta del calibrador.

## APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
GENERAL	Nombre	COPPER
	Método	End Point A
	Dirección	Creciente
	Onda Principal	578
	Onda Secundaria	--
	Muestra	10
	Reactivo 1	150
	Reactivo 2	50
	Curva calibración	Lineal
	Blanco [150   240]	3 – 4   3 – 4
	Lectura [150   240]	10 – 11   8 – 9
	Unidades	mg/L
	Decimales	0.00
	Rango Medida	0 ~ 5.0
MONITOR	R1 Lím. Abs	5000
	Ratio Dil. Auto.	5
	Vol. Muestra Dil. Auto	40

El procedimiento es lineal hasta 5 mg/L. Calibre con un único punto utilizando el calibrador de mayor concentración, o con varios puntos según determine su procedimiento de trabajo. Solicite blanco de reactivo en cada sesión.

## CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Límite de Cuantificación (LoQ): 0.0 mg/L

Límite de Linealidad: 5 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.

## REFERENCIAS

1. Compendium of International methods of analysis – OIV, Vol 1&2 (2008).
2. Abe A, Yamashita S, Noma A. Clin. Chem 1989; 35: 552-554.
3. Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, Ribéreau-Gayon P. Tratado de Enología. Ciencias y técnicas del vino. Vol 1, pp 259-261 (2008).