

Prueba colorimétrica para vinos y mostos
2x 100 mL R1 + 10 mL R2 + 5 mL calibrador (100 pruebas)

Para uso "in vitro" solamente
Conservar entre +2 y +8°C

Principio

El contenido total de sulfito en vinos se mide a un pH en el cual todo el sulfito está libre (ej. se disocia del acetaldehído) y reacciona con un cromógeno específico. La cantidad de este cromógeno es proporcional a la cantidad de sulfito presente en la muestra. El cromógeno se mide en un espectrofotómetro a 340 nm.

Especificaciones

Longitud de onda: 340 nm (± 5 nm)
Trayecto óptico: 1.00 cm (vidrio; plástico)
Temperatura: 20 – 37°C
Método: Punto final
Tiempo de reacción: 15 minutos
Medida: contra aire o agua
Linealidad: 10 – 300 mg/L (Sulfito total)

Reactivos

- # 1: Reactivo 1 (tampón), 2 frascos de aprox. 100 ml cada uno
- # 2: Reactivo 2 (cromógeno), 1 frasco de aprox. 10 ml
- # 3: Calibrador, 1 frasco de aprox. 5 ml (SO₂ = 300 mg/L)

Todos los reactivos están listos para su uso. Son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad indicada, si no se contaminan durante el manipuleo.

Llevar los reactivos a temperatura ambiente (+20 to +37°C) y agitar suavemente antes de su utilización. Utilizar de manera adecuada para evitar toda contaminación. Cerrar inmediatamente después de utilización.

Deben aplicarse las reglas generales de seguridad para el trabajo en laboratorios químicos. Luego de su utilización, los reactivos pueden eliminarse como residuos de laboratorio. Los embalajes pueden reciclarse.

Preparación de las muestras

- Los vinos pueden analizarse directamente.
- **Tenga en consideración que el dióxido de azufre es volátil y pueden ocurrir pérdidas.**
- Utilizar muestras claras y transparentes cuya concentración está en el rango de medida directamente; de no ser así, diluir con el tampón (reactivo 1).
- Las soluciones turbias deben filtrarse o centrifugarse.
- No es posible almacenar el vino en recipientes abiertos; siempre volver a cerrar la botella o el recipiente después del pipeteo.

Procedimiento de la prueba

| Pipetear en las cubetas: | Blanco reactivo (BR) | Calibrador | Muestra |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------|---------|
| Reactivo 1 (tampón) | 1900 µL | 1900 µL | 1900 µL |
| Calibrador (300 mg/L) | - | 100 µL | - |
| Muestras (vinos) | - | - | 100 µL |
| Agua destilada | 100 µL | - | - |
| Mezclar*. Leer la absorbancia A ₁ a 340 nm después de 2 a 3 minutos | | | |
| Reactivo 2 (cromógeno) | 100 µL | 100 µL | 100 µL |
| Mezclar*. Leer la absorbancia A ₂ a 340 nm después de 15 minutos | | | |

* Utilizar espátulas para **mezclar vigorosamente**, de no ser así se observan malas recuperaciones (utilizar una espátula para cada cubeta hasta el final del ensayo).

Cálculo de los resultados

$$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{muestra o patrón}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{BR}}$$

Donde df = factor de dilución de las densidades ópticas a causa de los volúmenes de reactivos o de muestra:

$$df = (\text{muestra} + R1) / (\text{muestra} + R1 + R2) = 0.952$$

$$y C_{\text{muestra}} [\text{mg/L}] = \frac{C_{\text{patrón}} [\text{mg/L}]}{\Delta A_{\text{patrón}}} \times \Delta A_{\text{muestra}}$$

Como la concentración del patrón es 300 mg/L, esto da el siguiente cálculo:

$$C_{\text{muestra}} [\text{mg/L}] = 300 \times (\Delta A_{\text{muestra}} / \Delta A_{\text{patrón}})$$

No se recomienda cuantificar por debajo de 10 mg/L, sino informar los resultados como "< 10 mg/L".

Notas

1. Interferencias: pueden interferir compuestos que contienen tioles libres o grupos tioles reactivos.
2. Sensibilidad: en el procedimiento manual, el límite de detección es de ~ 5 mg/L.
3. Están disponibles a pedido algunas aplicaciones para autoanalizadores.
4. Utilizar solamente agua bi-distilada fresca para diluir el calibrador. De no ser así, se producen pérdidas (oxidación) y se sobreestiman las muestras.
5. Para vinos tintos, la recuperación puede ser baja (<80% para muestras < 50 mg/L). Para corregir, es posible añadir 10 mg/L a los resultados. Pero es necesario considerar que, si la iodometría se efectúa con un simple tratamiento alcalino (sin destilación), entonces el método va a medir todas las sustancias reductoras y no solamente SO₂. El método colorimétrico sólo mide SO₂, por lo tanto es normal encontrar resultados menos elevados.

Controles de Calidad

Es necesario controlar cada ensayo con un control calidad. Con este fin, se recomiendan utilizar metabisulfito de sodio (Na₂S₂O₅), ya que parece más estable que el sulfito de sodio (Na₂SO₃). Como no está estabilizado como el calibrador incluido en el kit, debe prepararse **fresco cada día** como se describe:

- Preparación de la solución madre 1000 mg/L (SO₂)
Pesar 148.4 Mg de metabisulfito de sodio en un frasco volumétrico de 100 ml y llevar a volumen (SO₂ = 1000 mg/l).
- Preparación de los controles de calidad
Utilizar tubos de plástico como los Eppendorf. Se observan pérdidas de Na₂S₂O₅ hasta un 30% cuando las diluciones se realizan en tubos en vidrio.

Resultados:

Ejemplo con absorbancias típicas:

| mg SO ₂ /L | A1 | A1*df | A2 | Δ A | menos el blanco |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-----------------|
| 0 | 0,133 | 0,127 | 0,188 | 0,061 | 0,000 |
| 10 | 0,143 | 0,136 | 0,251 | 0,115 | 0,053 |
| 50 | 0,129 | 0,123 | 0,439 | 0,316 | 0,255 |
| 100 | 0,133 | 0,127 | 0,707 | 0,580 | 0,519 |
| 200 | 0,133 | 0,127 | 1,210 | 1,083 | 1,022 |
| 300 | 0,130 | 0,124 | 1,711 | 1,587 | 1,526 |