

Prueba colorimétrica para vinos y mostos  
2x100 mL R1 + 5 mL R2 + 2x 3.5ml calibrador (100 pruebas)

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

### Principio

El contenido de sulfito libre en vinos se cuantifica con un cromógeno específico a pH ácido. 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. El ácido ascórbico no reacciona.

### Especificaciones

Longitud de onda: 340 nm (± 5 nm)  
Camino óptico: 1.00 cm (vidrio; plástico)  
Temperatura: 20 – 37°C  
Método: Punto final  
Tiempo de reacción: 5 minutos  
Medición: contra aire o agua  
Linealidad: 10 – 100 mg/L (Sulfito libre)

### Reactivos

- # 1: Reactivo 1 (tampón): 2 frascos de aprox. 100 ml cada uno
- # 2: Reactivo 2 (cromógeno): 1 frasco de aprox. 5 ml
- # 3: Calibrador (50 mg/L equivalente SO<sub>2</sub>): 1 frasco de aprox. 3,5 ml

Todos los reactivos están listos para su uso y son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad indicada. No se deben congelar los reactivos. Atemperar los reactivos a temperatura ambiente (+20 a +25°C) y agitar suavemente antes de utilizar. Cerrar inmediatamente después de utilización.

Este kit puede contener sustancias peligrosas. Para informarse sobre las sustancias peligrosas contenidas, por favor consultar las hojas de seguridad de materiales (MSDS) de este producto, disponible en línea en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com). Luego de su uso, 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) directamente en la cubeta.
- Las soluciones turbias deben filtrarse o centrifugarse.
- Cuando va a analizarse una botella de vino, esta debe mantenerse a temperatura ambiente por un mínimo de 12 hs antes de destaparse.
- Los recipientes de las muestras deben abrirse inmediatamente antes del análisis y deben cerrarse inmediatamente al finalizar. El análisis de sulfito de muestras que ya han sido abiertas (y luego cerradas) debe realizarse dentro de las 12 horas posteriores.

### Procedimiento de la prueba

Pipetear en las cubetas:	Blanco reactivo (BR)	Calibrador	Muestra
Reactivo 1 (tampón)	1900 µL	1900 µL	1900 µL
Calibrador (50 mg/L)	-	100 µL	-
Muestras (vinos)	-	-	100 µL
Agua destilada	100 µL	-	-
Mezclar*. Leer la absorbancia A <sub>1</sub> a 340 nm después de 2 a 3 minutos			
Reactivo 2 (cromógeno)	50 µL	50 µL	50 µL
Mezclar*. Leer la absorbancia A <sub>2</sub> a 340 nm después exactamente de 10 minutos.			

\* Utilizar espátulas para **mezclar vigorosamente**, de no ser así se observan malas recuperaciones, especialmente con vinos tintos.

### Cálculo de los resultados

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

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

$$df = (\text{muestra} + R1) / (\text{muestra} + R1 + R2) = 0.976$$

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

Como la concentración del calibrador es 50 mg/L, esto da el siguiente cálculo:

$$C_{\text{muestra}} [\text{mg/L}] = 50 \times (\Delta A_{\text{muestra}} / \Delta A_{\text{calibrador}})$$

### Notas

1. **El dióxido de azufre es volátil, especialmente el SO<sub>2</sub> libre, y pueden ocurrir pérdidas rápidamente.**
2. Interferencias: pueden interferir compuestos que contienen tioles libres o grupos tioles reactivos.
3. Sensibilidad: en el procedimiento manual, el límite de detección es de ~ 5 mg/L, y el límite de cuantificación es de ~10 mg/L.
4. El calibrador ha sido específicamente diseñado para utilizarse con este ensayo colorimétrico, por lo que no puede utilizarse para otros ensayos.
5. Están disponibles a pedido algunas aplicaciones para autoanalizadores.

### Controles de Calidad

Debe prepararse **fresco cada día** como se describe:

- Preparación de la solución madre 1000 mg/L (SO<sub>2</sub>)  
Pesar 148.4 mg de metabisulfito de sodio en un frasco volumétrico de 100 ml y llevar a volumen (SO<sub>2</sub> = 1000 mg/l)  
La relación entre Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y SO<sub>2</sub> es igual al 67.4% (por ejemplo, 1 g de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> contiene 674 mg de SO<sub>2</sub>).
- Preparación de los controles de calidad  
Utilizar tubos de plástico como los Eppendorf. Se observan pérdidas de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> hasta un 30% cuando las diluciones se realizan en tubos en vidrio.

### Ejemplo de resultados:

Ejemplo con absorbancias típicas:

mg SO <sub>2</sub> /L	A1	A1 x df	A2	Δ A	Menos el Blanco
0	0,0520	0,0508	0,2890	0,2382	0,0000
10	0,0510	0,0498	0,3370	0,2872	0,0490
30	0,0500	0,0488	0,4340	0,3852	0,1470
50	0,0520	0,0508	0,5310	0,4802	0,2420
80	0,0510	0,0498	0,6790	0,6292	0,3910
100	0,0500	0,0488	0,7710	0,7222	0,4840

Aún con un calibrador de 50 mg/l, el ensayo es perfectamente lineal hasta 100 mg/l y los resultados pueden extrapolarse hasta dicha concentración.

**Aviso:** Los datos corresponden a nuestro estado actual de tecnología y proporciona información sobre nuestros productos y sus usos. R-Biopharm no ofrece garantías de ningún tipo, ya sea expresa o implícita, excepto que los materiales con los que están fabricados sus productos son de calidad estándar. Los productos defectuosos serán reemplazados. No hay ninguna garantía de comercialización de este producto, o de la idoneidad del producto para cualquier propósito. R-Biopharm no será responsable de ningún daño, incluyendo daño especial o consecuente, o gastos derivados directa o indirectamente del uso de este producto.