



## **TESTE ENZIMÁTICO PARA DETERMINAÇÃO DE D-GLICOSE E D-FRUTOSE EM MOSTO DE UVA E VINHO**

### PRODUTO

Produto no. 4A140, para 30 testes, somente para uso *in vitro*.

### CONTEÚDO

O kit inclui os seguintes reagentes:

N.º do reagente	Reagente	Preparação	Quantidade	Estabilidade
1	Buffer (tampão)	Para ativar o Buffer, adicione o conteúdo do Reagente n.º2	33 mL	18 meses a 4°C (6 meses uma vez ativado)
2	Coenzimas (ATP/NADP)	Coenzimas (ATP/NADP) e misture por inversão até dissolver completamente	0,2 g	18 meses a 4°C
3	G6PDH/HK	Agite suavemente por inversão antes de usar	0,7 mL	18 meses a 4°C
4	PGI	Agite suavemente por inversão antes de usar	0,7 mL	18 meses a 4°C
5	Padrão	Não requer	3.3 mL	18 meses a 4°C

O prazo de validade dos reagentes 1 e 2 pode ser estendido colocando alíquotas em um freezer.

Não congele os reagentes 3 e 4.

Não armazenar os reagentes na temperatura recomendada reduzirá significativamente sua vida útil.

Para a concentração do Padrão, consulte o rótulo do frasco.

### Recomendações de segurança

- Use óculos de segurança
- Não ingerir Buffer (tampão) ou Padrão, pois eles contêm azida de sódio como estabilizador

### PROCEDIMENTO

#### Parâmetros operacionais

Comprimento de onda	340 nm
Cubeta	1 cm, quartzo, sílica, metacrilato ou poliestireno
Temperatura	20 – 25°C
Volume final da cubeta	3,04 mL
Zero	contra o ar, sem a cubeta no feixe de luz

### PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

As amostras devem ser diluídas com água destilada para garantir que a concentração na solução não seja maior que 1,0 g/L. Para a maioria das amostras, uma diluição de 1 em 10 deve ser suficiente.

Vinhos suaves podem exigir uma diluição de até 1 em 50, enquanto vinhos fortificados e de sobremesa podem exigir uma diluição de até 1 em 100 ou mais. Como um guia geral, uma diluição adicional é necessária se a leitura final de absorvância  $A_{340}$  for maior que 1,2 unidades de absorvância. As amostras podem ser usadas diretamente sem descoloração.

Amostras turvas devem ser centrifugadas ou filtradas através de papel de filtro Whatman No. 1 para clarificar.



### ANÁLISE DA AMOSTRA

a. Verifique se o reagente nº 1 (Buffer) foi ativado pela adição das coenzimas do reagente nº 2

b. Pipete os seguintes volumes dos reagentes nas cubetas:

Reagente	Branco	Padrão	Amostra
1. Buffer (tampão)/Coenzimas	1,00 mL (1000 µL)	1,00 mL (1000 µL)	1,00 mL (1000 µL)
Água destilada	2,00 mL (2000 µL)	1,90 mL (1900 µL)	1,90 mL (1900 µL)
Amostra ou Padrão		0,10 mL (100 µL)	0,10 mL (100 µL)

c. Misture bem por inversão e leia as absorvâncias, A<sub>1</sub> após 3 minutos.

d. Pipete o seguinte reagente nas cubetas:

3. G6PDH/HK	0.02 mL (20µL)	0.02 mL (20µL)	0.02 mL (20µL)
-------------	----------------	----------------	----------------

e. Misture bem por inversão e leia as absorvâncias, A<sub>2</sub>, após 10 minutos.

f. Pipete o seguinte reagente nas cubetas:

4. PGI	0.02 mL (20µL)	0.02 mL (20µL)	0.02 mL (20µL)
--------	----------------	----------------	----------------

g. Misture bem e leia as absorvâncias, A<sub>3</sub>, após 10 minutos.

### CÁLCULOS\*

1. Calcule a Absorvância corrigida para D-Glicose:

$$\text{Absorvância de D-Glicose, } A_G = (A_2 - A_1) - (\text{Blank}A_2 - \text{Blank}A_1)$$

2. Calcule a concentração de D-Glicose da seguinte forma:

$$\text{Concentração de D-Glicose (g/L)} = A_G \times 0.8637 \times \text{Dilution Factor}$$

3. Calcule a correção da Absorvância para as amostras de D-Frutose:

$$\text{Absorvância de D-Frutose, } A_F = (A_3 - A_2) - (\text{Blank}A_3 - \text{Blank}A_2)$$

4. Calcule a concentração de D-Frutose da seguinte forma::

$$\text{Concentração de D-Frutose (g/L)} = A_F \times 0.8694 \times \text{Fator de diluição}$$

5. Adicione os resultados da D-Glicose e D-Frutose para obter a concentração total de açúcar residual.

6. Faça o mesmo para o Padrão, substituindo os valores de absorvância do Padrão pelos valores de absorvância da amostra.

\* Uma planilha de cálculo está disponível para download em

<https://www.vintessential.com.au/resources/calculation-worksheets/>

7. Precisão (onde x é a concentração de D-Glicose ou D-Frutose na amostra em g/L):

$$\text{Repetibilidade } r = 0,056x \quad \text{Reprodutibilidade } R = 0,12 + 0,076x$$

### REFERÊNCIA

1. "Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis" OIV, Vol 1, 2006, MA-E-AS311- 02-GLUFRU5, p4.