

METODOS ANALISIS

GRADO PROBABLE (mostos)

El contenido de azúcares de un mosto también se puede determinar por refractometría. Existen refractómetros de bolsillo muy manejables para el control de las vendimias en viñedo, pero también los hay fijos para el control de la uva en la bodega e incluso de laboratorio, de mayor precisión. Hoy en día casi todos los refractómetros vienen dotados de un sistema de corrección de temperatura y de varias escalas, donde se puede leer directamente la riqueza en azúcares del mosto °Baumé, °Brix, grado alcohólico probable, etc.

MASA VOLÚMICA A 20°C Y DENSIDAD RELATIVA A 20°C (mostos y vinos)

La masa volúmica es el cociente de la masa de un determinado volumen de vino o mosto a 20°C por ese volumen. Se expresa en gramos por mililitro y su símbolo es $\rho_{20^\circ\text{C}}$.

La densidad relativa a 20°C ó densidad $_{20^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}}$ es la relación, expresada en número decimal, entre la masa de un cierto volumen de vino o de mosto a 20°C y la masa del mismo volumen de agua a la misma temperatura. Su símbolo es d

Procedimiento: Verter en una probeta 250ml de muestra preparada para el ensayo, introducir el aerómetro y el termómetro. Leer el termómetro un minuto después de haber agitado para obtener el equilibrio de la temperatura. Retirar el termómetro y leer la masa volúmica aparente a $t^\circ\text{C}$ sobre el tallo del aerómetro tras un minuto de reposo.

Corregir la acción de la temperatura sobre la masa volúmica aparente a $t^\circ\text{C}$ mediante las tablas que se aplican en los casos de vinos secos, mostos y vinos que contienen azúcar.

GRADO ALCOHÓLICO VOLUMÉTRICO (vino)

El grado alcohólico volumétrico es igual al número de litros de etanol contenidos en 100 litros de vino, medidos ambos volúmenes a la temperatura de 20°C. Su símbolo es "% vol".

El etanol, sus homólogos y los ésteres de ambos están comprendidos en el grado alcohólico, por encontrarse en el destilado.

Fundamento: Destilación del vino alcalinizado mediante una suspensión de hidróxido de calcio. Determinación del grado alcohólico en el destilado.

Procedimiento: Echar en un matraz aforado un volumen de vino de 200ml. Anotar la temperatura del vino. Verterlo en el matraz del aparato de destilación o en el borboteador del aparato de arrastre por vapor de agua. Lavar el matraz aforado cuatro veces con 5ml. de agua que se verterán en el matraz de destilación o en el borboteador. Añadir 10ml. de hidróxido de calcio y algunos fragmentos de materia porosa inerte (piedra pómez).

Recoger el destilado en el matraz aforado de 200ml. que ha servido para medir el vino. Debe recogerse un volumen igual a las tres cuartas partes, aproximadamente, del volumen inicial en

el caso de la destilación, ó 198-199ml. de destilado en el caso de arrastre por vapor de agua. Completar a 200ml. con agua destilada a una temperatura idéntica a la temperatura inicial, con una aproximación de ± 2 °C. Mezclar con precaución, mediante un movimiento circular.

Verter el destilado en una probeta cilíndrica de 36mm. de diámetro y 320mm de altura. Mantener la probeta en posición vertical. Introducir el termómetro y el alcoholómetro. Efectuar la lectura del termómetro 1 minuto después de haber agitado para igualar la temperatura de la probeta, del termómetro, del alcoholómetro y del destilado. Retirar el termómetro y leer el grado alcohólico aparente tras 1 minuto de reposo. Realizar por lo menos tres lecturas utilizando una lupa. En el grado aparente medido a t° C debe corregirse la acción de la temperatura utilizando una tabla.

Es necesario que la temperatura del líquido no se diferencie en mucho de la temperatura ambiente (5° C de diferencia, como máximo).

ACIDEZ TOTAL (mosto y vinos)

La acidez total es la suma de los ácidos valorables cuando se lleva el pH a 7 añadiendo una solución alcalina valorada.

Fundamento: Valoración potenciométrica o valoración en presencia de azul de bromotimol como indicador del final de reacción, mediante comparación con un patrón de coloración.

Procedimiento: Eliminación del dióxido de carbono. Colocar aproximadamente 50ml. de vino, en un matraz kitasato; agitar y, al mismo tiempo, hacer el vacío con una trompa de agua. La agitación debe durar de 1 a 2 minutos.

En un vaso de precipitados, echar 30ml. de agua destilada y hervida, 1ml. de solución de azul de bromotimol y 10ml. si se trata de vino o 50ml. en el caso del mosto. Añadir la solución 0,1M de hidróxido sódico hasta obtener una coloración verdeazulada. Se denominará n al número de mililitros de solución de hidróxido sódico 0,1M utilizados.

La acidez total, expresada en gramos de ácido tartárico por litro, será $0,75.n$

$$\text{Acidez sulfúrica} \times 1,530 = \text{Acidez tartárica}$$

pH (mostos y vinos)

Fundamento: Medida de la diferencia de potencial entre dos electrodos sumergidos en el vino que se estudia. Uno de los electrodos tiene un potencial que es una función definida del pH del líquido, el otro tiene un potencial fijo y conocido y constituye el electrodo de referencia.

Procedimiento: Operar directamente sobre los vinos habiendo efectuado previamente una correcta calibración del aparato.

ACIDEZ VOLÁTIL (vinos)

La acidez volátil está constituida por los ácidos grasos pertenecientes a la serie acética que se encuentran en los vinos, bien en estado libre, bien en estado salificado.

Fundamento: Valoración de los ácidos volátiles separados del vino por arrastre de vapor de agua y rectificación de los vapores. Previamente debe eliminarse el dióxido de carbono del vino. La acidez del dióxido de azufre libre y combinado destilado en dichas condiciones debe restarse de la acidez del destilado. Debe restarse, la acidez del ácido sórbico eventualmente añadido al vino. El ácido salicílico que en algunos países se utiliza para estabilizar los vinos antes del análisis, se encuentra en parte en el destilado. Es necesario valorarlo y restarlo de la acidez.

Procedimiento: Poner alrededor de 50ml. de vino en un matraz kitasato; agitar y, al mismo tiempo, hacer el vacío por medio de la trompa de agua. La agitación debe durar de 1 a 2 minutos.

Echar en el borboteador 20ml. de vino desprovisto de carbónico. Añadir 0,5g. de ácido tartárico aproximadamente. Recoger, por lo menos, 250ml. de destilado.

Valorar con la solución 0,1M de hidróxido sódico en presencia de dos gotas de solución de fenolftaleína. Se denominará n' ml. al volumen utilizado.

Añadir 4 gotas de ácido clorhídrico diluido 1/4, 2ml. de engrudo de almidón y algunos cristales de yoduro de potasio. Valorar el dióxido de azufre libre con solución 0,005M de yodo. Se denominará n'' ml. al volumen utilizado.

Añadir la solución saturada de borato sódico hasta que reaparezca la coloración rosa. Valorar el dióxido de azufre combinado con la solución 0,005M de yodo. Se denominará n''' ml. al volumen utilizado.

La acidez volátil, expresado en gramos de acético por litro, con dos decimales, será: $0,300 (n - 0,1n' - 0,05n'')$

ACIDO L-LÁCTICO, ÁCIDO L-MÁLICO, GLICEROL (mostos y vinos)

Son determinados por test enzimáticos según metodología descrita por la Boehringer-Mannheim

DETERMINACION DEL ACIDO TARTARICO POR COLORIMETRIA RAPIDA

1.- PRINCIPIO

El àcido tartàrico reacciona con el àcido vanàdico para dar una coloraci3n anaranjada medible a 500 nm. Los antocianos interfieren en esta reacci3n, y en los vinos tintos hay que hacer una segunda lectura, en las mismas condiciones de pH, para eliminar las interferencias. Tambi3n se puede tratar la muestra previamente mediante una E.F.S.

2.- REACTIVOS

Disoluci3n T-1: Ac3tico al 30%

Disoluci3n T-2: Disolver 10 g de metavanadato am3nico en 150 ml de NaOH 1N. Añadir 200ml de disoluci3n de acetato s3dico al 27 % . Llevar a un litro con agua destilada (no debe haber ning3n precipitado)

Disoluci3n T-3:

D - A : Disolver 4.5 g de cloruro am3nico en 150 ml de NaOH 1N . Añadir 200 ml de disoluci3n de acetato s3dico al 27 % . Llevar a un litro con agua destilada.

D - B : Disoluci3n de ac3tico al 30%

La disoluci3n T - 3 = 1vol D-A + 1vol D-B

El pH de esta disoluci3n ha de ser igual al pH de la disoluci3n obtenida al mezclar 1vol de T - 1 + 1 vol de T-2. Si no coinciden ajustar el pH con NaOH.

Patrones:

Preparar una disoluci3n de 5 g/l tartàrico (5 mg/ml).

En aforados de 50 ml, pipetear respectivamente, 10 , 20 , 30 y 40 ml de la disoluci3n de 5 g/l, y envasar con agua destilada (se obtienen disoluciones de 1, 2, 3 y 4 g/l , respectivamente).

Referencia = Agua

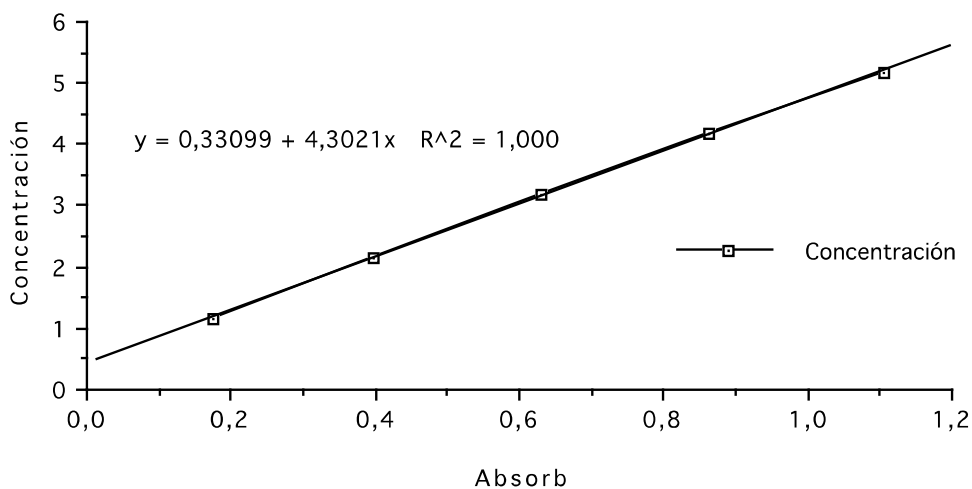
3.- MODO OPERATORIO

En 4 tubos de ensayo 1, 2, 3 y 4 echar los siguientes volúmenes

	1	2	3	4
	M	T	M	T
Vino o mosto	1	0	1	0
Agua	0	1	0	1
T-1	10	10	0	0
T-2	10	10	0	0
T-3	0	0	20	20

Homogenizar por agitación. Esperar como mínimo 5 minutos y hacer la medida de la DO a 500 nm bajo 1 cm.

Se llevan los valores de (DO1-DO2) - (DO3-DO4) sobre una curva de calibración establecida bajo las mismas condiciones realizada con disoluciones sintéticas de ácido tartárico de 1, 2, 3, 4 y 5 g/L, calculándose la concentración de ácido tartárico presente en el vino., expresada en g/L y con una sola cifra decimal. La curva de calibración fué la siguiente:



4. CONSIDERACIONES

En el caso de vinos blancos no es necesario preparar los tubos 3 y 4 se puede asimilar el valor de $DO3 - DO4 = 0$

Para determinaciones en serie los tubos 2 y 4 sirven para toda la serie.

La curva de calibración es estable y solamente hay que rehacerla cuando se cambien los reactivos.

En los tubos 1 y 2 se realiza la reacción coloreada del ácido tartárico. En el 3 y 4 las reacciones para contrarrestar la coloración propia del vino.

La muestra ha de estar limpia. Se propone hacer una filtración previa de la misma, si es menester, y se puede hacer pasar previamente por un SepPak C18 antes de realizar el análisis.

SULFUROSO LIBRE Y TOTAL (mostos y vinos)

Procedimiento: Determinación del dióxido de azufre libre por valoración yodométrica directa.
Determinación del dióxido de azufre combinado por valoración yodométrica tras hidrólisis alcalina.

Dióxido de azufre libre: En un erlenmeyer de 500ml., echar:
-50ml de vino
-5ml. de engrudo de almidón
-30mg. de EDTA (complexona III)
-3ml. de ácido sulfúrico al 1/10

Valorar inmediatamente con yodo 0,025M hasta que la coloración azul se mantenga claramente durante 10 a 15 segundos. Sea n ml el volumen de yodo utilizado.

Dióxido de azufre libre en miligramos por litro: $32 n$

Dióxido de azufre combinado: Añadir 8ml. de solución 4M de hidróxido sódico, agitar una sola vez y dejar 5 minutos en contacto. Verter de un golpe, y agitando enérgicamente el contenido de un pequeño vaso en el que se hayan echado 10ml. de ácido sulfúrico al 1/10.

Valorar inmediatamente con yodo 0,025M. Sea n' el volumen de yodo empleado.

Añadir 20ml. de solución 4M de hidróxido sódico, dejar en contacto 5 minutos después de haber agitado una sola vez. Diluir con 200ml. de agua lo más fría posible.

Agitando enérgicamente, verter de un golpe 30ml. de ácido sulfúrico al 1/10 previamente colocados en una probeta. Valorar el dióxido de azufre liberado con el yodo 0,025M. Sea el n'' el volumen de yodo empleado.

Dióxido de azufre total en miligramos por litro: $32 (n + n' + n'')$

DETERMINACION DEL NITRÓGENO FACILMENTE ASIMILABLE EN MOSTOS (NFA) (Índice de formol)

El NFA está constituido por el nitrógeno amínico (Aminoácidos) más el nitrógeno amoniacal menos la prolina (aminoácido no asimilable por las levaduras).

Reactivos:

- 1.- NaOH 1 N
- 2.- NaOH 0.1 N
- 3.- Cl₂ Ba 1 N
- 4.- ClH (d=1.19)
- 5.- Aldehído fórmico al 40% (d=1.09)

Preparación de la muestra:

- El mosto debe ser centrifugado previamente y decantado antes de la realización de los análisis.

Procedimiento:

- En un vaso de precipitados de 200 ml (forma alta) se añaden 100 cc de muestra y se llevan a pH = 8.0 con NaOH 1N (ajustar el pH al final con NaOH).
- Añadir 10 cc de Cl₂ Ba 1 N (para defecar).
- Esperar 15 min.
- Pasar la muestra a un matraz aforado de 200, enrasar con agua destilada, agitar y filtrar (embudo de 10 cc de diámetro con papel de filtro).
- Recoger el filtrado en un vaso de precipitados.
- Sacar del filtrado 100 cc de muestra y llevar a pH = 8 con NaOH 0.1 N
- Añadir 25 cc de aldehído fórmico al 40%, anteriormente llevado a pH = 8 con NaOH 0.1 N
- Valorar con la solución de NaOH 0.1 N hasta llegar a pH = 8.

Expresión del resultado:

Se expresa en mg/l de Nitrógeno

$$\text{NFA} = 28 \times n$$

Donde n = cc de NaOH 0.1 N consumidos en la valoración

Bibliografía:

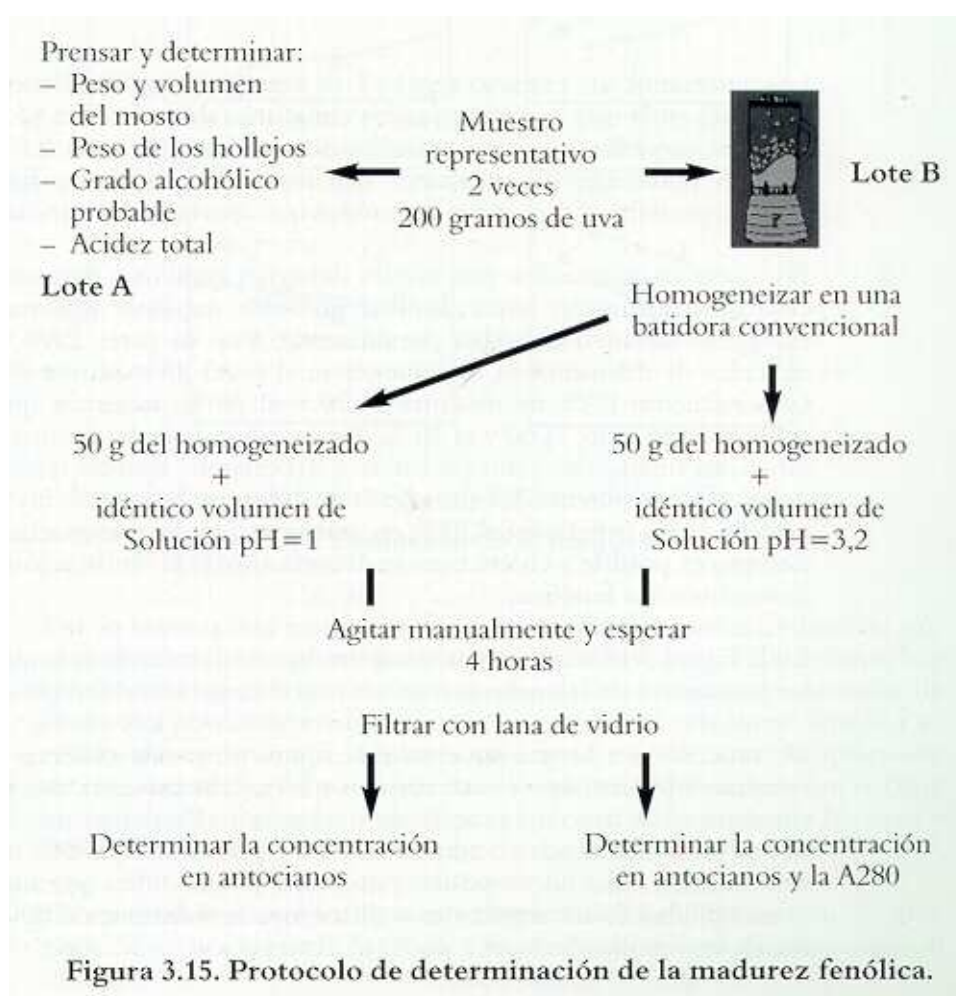
Aerny J., 1996. Composés azotés des moûts et des vins. Revue suisse Vitic. Hortic. Vol. 28 (3): 161-165.

Determinación de NH_4^+ : Test de BOEHRINGER MANNHEIM; Cat. No 1112732 (50 determinaciones)

METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ FENÓLICA

La determinación de la madurez fenólica es de gran utilidad para poder decidir la fecha de vendimia óptima y para decidir la clasificación en bodega en función de su nivel de calidad e incluso para poder incidir mediante la metodología concreta de vinificación en el nivel de extracción.

Existen diversas metodologías, si bien la más utilizada sea probablemente la descrita por el profesor Glories.



Una vez determinados los antocianos del extracto a $\text{pH} = 1$, así como los antocianos y la absorbancia a 280 nm del extracto a $\text{pH}=3,2$, se procede a calcular los antocianos potenciales, los antocianos extraíbles, y los parámetros EA% y MP%.

Los antocianos del extracto a pH=1 se asimilan a los antocianos totales presentes en la uva, mientras que los antocianos del extracto a pH=3,2 se asimilan a aquellos que serán extraídos durante la vinificación.

EA% representa el porcentaje de antocianos que no serán extraídos.
MP% representa el porcentaje de taninos que aportarán las semillas.

En teoría:

Los **antocianos potenciales y los extraíbles deberían aumentar** durante el proceso de maduración hasta alcanzar un valor máximo.

EA% y MP% deberían de disminuir al incrementarse el nivel de madurez de la uva. (EA% oscila entre el 70 y el 20 %, mientras que MP% suele hacerlo entre el 60 y el 10 %).

Para escoger la fecha óptima de vendimia, en función de estos parámetros deberíamos apuntar hacia valores de antocianos potenciales altos (más de 1000 mg/1), y a niveles de EA% y MP% bajos (inferiores a 30 % en ambos casos). Por desgracia, esto no siempre es posible y en ese caso se debería ajustar la vinificación al nivel de maduración fenólica.

La puesta en marcha de un sistema de decisión de fecha de vendimia en función de controles de madurez fenólica es realmente complicado. Nuestra experiencia práctica en la aplicación de esta metodología indica que existe una variabilidad muy importante en la toma de muestras y en el protocolo de maceración de las uvas y posterior análisis.

Esta metodología, tal y como está descrita, se ha de aplicar con un gran rigor. Si no es así, puede dar lugar a resultados erráticos que desorienten al enólogo.

Por todo ello, este es un tema aun abierto ya que es necesario optimizar los métodos existentes para la determinación del grado de madurez fenólica. Por una parte, concretando más aun las condiciones de preparación de la muestra que disminuyan los errores, y por otra diseñando sistemas que permitan una automatización del proceso. Todo ello sería de gran utilidad en bodega, no sólo para decidir la fecha de la vendimia, sino también para aplicar la estrategia de vinificación que más se ajuste al grado de madurez real de la uva.

En el caso de que la uva llegue bien madura a la bodega, la extracción de los antocianos será rápida y fácil, y además la aportación de taninos astringentes procedentes de las semillas será baja y por tanto se podrán realizar maceraciones largas sin que se corra el riesgo de obtener vinos agresivos.

En caso contrario, si la uva no estuviera lo suficientemente madura, el enólogo podrá actuar utilizando técnicas que permitan un incremento de la velocidad de extracción de los antocianos, para de este modo obtener suficiente color sin necesidad de alargar la maceración, ya que la extracción de cantidades importantes de tanino de semilla pudieran hacer que el vino fuese demasiado duro. De esto y de otros aspectos que

Según esta prueba la dilución podrá ser de la decima o la veinteava parte: 1:9 ó bien 1:19 mL.

Medir a 520 nm con cubeta de vidrio de 1cm de paso.

Expresión de resultados.

$$\text{Antocianos (mg/L)} = \text{DO}_{520} \times 22.76 \times \text{dilución adoptada.}$$

Con la muestra B' (pH=1) se mide:

Prueba antes de empezar el día de muestreo de la dilución con HCl al 1%, la lectura debe estar dentro 200-800 nm.

Según esta prueba la dilución podrá ser de la decima o la veinteava parte: 1:9 ó bien 1:19 mL.

Medir a 520 nm con cubeta de vidrio de 1cm de paso

$$\text{Antocianos (mg/L)} = \text{DO}_{520} \times 22.76 \times \text{dilución adoptada.}$$

Expresión de resultados:

Extractibilidad de los antocianos

$$\text{Ea(\%)} = [(\text{DO}_{520} \text{ pH}=1) - (\text{DO}_{520} \text{ pH}=3,2) / (\text{DO}_{520} \text{ pH}=1)] \times 100$$

Madurez de las pepitas

$$\text{Mp(\%)} = \{[(\text{DO}_{280} \text{ pH}=3,2) - (\text{DO}_{520} \text{ pH}=3,2 \times 40)] / (\text{DO}_{280} \text{ pH}=3,2)\} \times 100$$