

El presente manual contiene instrucciones detalladas para realizar los análisis de rutina y especiales que permiten caracterizar la calidad de los vinos. El trabajo está destinado a los analistas de las bodegas y se ha diagramado para brindar una fácil comprensión. En cada capítulo se identifica un método de análisis, con el detalle de materiales, reactivos, preparación de soluciones, procedimientos y precauciones de manipulación. El manual ha sido diseñado para su uso en bodegas, por lo que los métodos que incluyen pueden abordarse con la complejidad metodológica y los aparatos de análisis generalmente disponibles.

Al prepararlo se sintetizaron de una manera didáctica y actualizada cada una de las técnicas. Se incluyen en cada análisis, las citas bibliográficas que indican el desarrollo original.

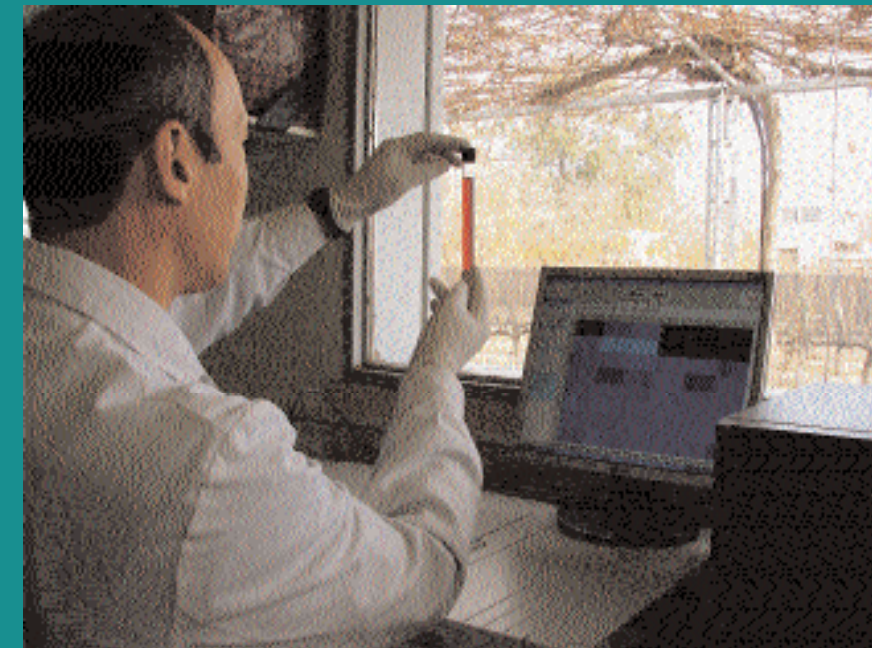
La redacción de este Manual de Técnicas Analíticas para Mostos y Vinos surgió durante la investigación que realizó un grupo de instituciones relacionadas a la vitivinicultura argentina, con el objeto de establecer estándares objetivos de calidad de uvas. Durante el desarrollo de tales estudios surgió la necesidad de brindar una herramienta de apoyo al trabajo de enólogos. Para esto, los autores, investigadores de la cátedra de Enología I de la FCA-UNCuyo y de la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza INTA, recopilaron los protocolos de los análisis físicos y químicos que utilizaban en sus laboratorios.

La publicación del manual se inscribe en el proyecto Desarrollo de Sistemas de Manejo del Viñedo para Optimizar la Calidad y Producción de Uvas de Vinificar y Creación de Estándares de Calidad de Uva. Es un proyecto ejecutado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo y los Consorcios Regionales de Experimentación Agrícola (CREA), con financiación de la Corporación Vitivinícola Argentina (COVIAR).

Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos

Jorge J. B. Nazrala / Silvia C. Paladino
Hernán F. Vila / Claudia C. Lucero

Colaboran: INTA - Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo - AACREA - COVIAR



Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos

Jorge J. B. Nazrala / Silvia C. Paladino / Hernán F. Vila / Claudia C. Lucero

ISBN: 978-987-1623-41-9



Centro Regional Mendoza - San Juan
<http://www.inta.gov.ar/region/mesa/index.htm>

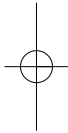


Ediciones
Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria

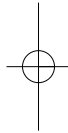
Publicaciones
Regionales



MANUAL DE TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA MOSTOS Y VINOS



Jorge J. B. Nazrala
Silvia C. Paladino
Hernán F. Vila
Claudia C. Lucero



Diciembre 2009
Mendoza - Argentina

MANUAL DE TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA MOSTOS Y VINOS

Autores: Jorge J.B. Nazrala, Silvia C. Paladino, Hernán F. Vila, Claudia C. Lucero

Diseño interior: Inca Editorial

Colaboran:

INTA - Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo - AACREA - COVIAR

Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos / Jorge J. B.
Nazrala ... [et.al.]. - 1a ed. - Luján de Cuyo : Ediciones INTA, 2009.
62 p. : il. ; 28x20 cm.

ISBN 978-987-1623-41-9

1. Vinos. 2. Mosto de Uva. I. Nazrala, Jorge J. B.
CDD 634.8

Fecha de catalogación: 09/12/2009

Reservados todos los derechos. Queda rigurosamente prohibida, sin la autorización escrita de la autora, bajo las sanciones establecidas en las leyes, la reproducción parcial o total de esta obra por cualquier medio o procedimiento, incluidos la reprografía y el tratamiento informático.

Copyright © 2009

EDICIONES INTA

Centro Regional Mendoza-San Juan

Acceso Sur y Aráoz s/n, Luján de Cuyo

CP 5507 Mendoza

<http://www.inta.gov.ar/region/mesa/index.htm>

Tirada 500 ejemplares

Primera Edición

Impreso en Argentina - Printed in Argentina

ISBN 978-987-1623-41-9

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723
Mendoza, República Argentina

Los autores

Jorge J. B. Nazrala: ingeniero agrónomo, magister scientiae en viticultura y enología, profesor titular e investigador de la Cátedra de Enología I, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo, Argentina.

Silvia C. Paladino: ingeniera agrónoma, magister scientiae en tecnología de alimentos, docente e investigadora de la Cátedra de Enología I, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo, Argentina.

Hernán F. Vila: ingeniero agrónomo, magister scientiae en viticultura y enología, investigador del Laboratorio de Viticultura de la EEA INTA Mendoza, Argentina.

Claudia C. Lucero: ingeniera agrónoma, investigadora del Laboratorio de Viticultura de la EEA INTA Mendoza, Argentina.

Tabla de contenidos

	Página
Prefacio	5
1. Medición de pH	6
2. Contenido de azúcar por medios físicos	8
3. Alcohol etílico	12
4. Acidez total	14
5. Acidez volátil – Método Duclaux y Jaulmes	16
6. Azúcares reductores	20
7. Cloruros	23
8. Sulfatos	25
9. Extracto seco	27
10. Cenizas	29
11. Anhídrido sulfuroso libre, total y molecular	31
12. Ácidos orgánicos por cromatografía de papel	35
13. Taninos condensados o proantocianidinas	39
14. Catequinas o flavan-3-oles	41
15. Antocianos totales	44
16. Índice de polifenoles totales (IPT)	47
17. Polifenoles totales por Folin-Ciocalteu	48
18. Componentes del color rojo (total, polimérico y copigmentado)	50
19. Intensidad colorante y matiz	53
20. Índice de gelatina	55
21. Límites y tolerancias	58
22. Abreviaturas	60
23. Bibliografía	61

Prefacio

La redacción de este Manual de Técnicas Analíticas para Mostos y Vinos surgió durante el estudio que realizó un grupo de instituciones relacionadas a la vitivinicultura argentina, con el objeto de establecer estándares objetivos de calidad de uvas. Estas instituciones, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo (FCA-UNCuyo), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Asociación Argentina de Consorcios de Experimentación Agrícola (AACREA), notaron la necesidad de generar dichos estándares como un medio para dar mayor transparencia a las relaciones que se establecen en la cadena de valor. Con estos fines convergieron en un proyecto que fue auspiciado y financiado por la Corporación Vitivinícola Argentina (COVIAR), entidad encargada de coordinar el plan estratégico Argentina Vitivinícola 2020.

Durante el desarrollo de los estudios relativos a la creación de los estándares surgió la necesidad de brindar una herramienta de apoyo al trabajo de los enólogos, responsables primarios en la calidad del vino. Para esto, los autores, investigadores de la cátedra de Enología I de la FCA-UNCuyo y de la Estación Experimental Mendoza del INTA, recopilaron los protocolos de los análisis físicos y químicos que utilizaban en sus laboratorios.

Así surgió este manual, que contiene instrucciones detalladas para realizar los análisis de rutina y especiales que permiten caracterizar la calidad de los vinos. El trabajo está destinado a los analistas de las bodegas, se ha diagramado para brindar una fácil comprensión. En cada capítulo se identifica un método de análisis, con el detalle de materiales, reactivos, preparación de soluciones, procedimientos y precauciones de manipulación. El manual ha sido diseñado para su uso en bodegas, por lo que los métodos que incluye pueden abordarse con la complejidad metodológica y los aparatos de análisis generalmente disponibles. Se sintetizó de una manera didáctica y actualizada cada una de las técnicas. Se incluyen, en cada análisis, las citas bibliográficas que indican el desarrollo original.

Los autores,
noviembre de 2009.

1. MEDICIÓN DE pH

La acidez en un jugo de uva o vino se puede evaluar de distintas formas, aquí se proponen dos. Una es la cuantificación de la acidez total, representada por ácidos disociados o no y sales ácidas presentes en la muestra (g L^{-1}). La otra es el pH, el cual está relacionado con el grado de disociación de los ácidos de la muestra, reflejado en la cantidad de iones hidrógenos (H^+) que liberan. Este valor varía para cada ácido presente en la muestra; por ejemplo el ácido tartárico es un ácido más fuerte que el málico y libera mayor cantidad de iones H^+ en solución. El pH es el logaritmo negativo (base 10) de la concentración de H^+ , como se identifica en la siguiente fórmula.

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

Esta fórmula nos muestra que a medida que hay más ácidos disociados o mayor concentración de iones H^+ en la muestra, disminuye el pH de la misma.

La medida de este valor es muy importante debido a que influye en los aspectos sanitarios y organolépticos tanto del mosto como del vino. Valores bajos de pH son mejores para la fermentación y conservación de los vinos. Los vinos son más frescos en la boca y de colores más vivaces. Valores altos predisponen al ataque de microorganismos indeseables, disminuyen la cantidad de anhídrido sulfuroso activo o molecular; los vinos son menos frescos, chatos al paladar, se reduce en ellos la vivacidad del color rojo y aumenta la predisposición a la oxidación.

Materiales:

- Potenciómetro calibrado (peachímetro; figura 1)
- Termómetro
- Agua destilada
- Soluciones buffer pH 4 y pH 7 (para calibración)



Figura 1: Potenciómetro (peachímetro)

Método:

Calibrar el peachímetro con las soluciones buffer, teniendo la precaución de enjuagar bien el electrodo con agua destilada y secarlo con papel tissue por fuera. Posteriormente se introduce el electrodo en el jugo a medir, el cual debe estar a una temperatura cercana a 20°C . Si la lectura no se realiza a esta temperatura, debe corregirse el valor, observando las tablas de corrección del peachímetro, en caso de que el mismo no sea autocompensado por temperatura.

Interpretación de resultados:

El valor se obtiene por lectura directa en el visor del peachímetro.

2. CONTENIDO DE AZUCAR POR MEDIOS FÍSICOS

a) SÓLIDOS SOLUBLES

Esta determinación se basa en el índice de refracción de la luz cuando atraviesa un líquido como el mosto. Es necesario tener en cuenta que no sólo mide azúcares, sino todos los sólidos solubles en suspensión de la muestra. El valor de sólidos solubles varía notablemente con la temperatura, por lo que su determinación debe realizarse a 20° C, si no es así se corrige mediante tablas. Actualmente existen refractómetros autocompensados por temperatura, que no requieren corrección. La escala de este aparato expresa % de sólidos solubles; mediante fórmulas se puede calcular los gramos de azúcar por litro en mostos (g L⁻¹). Esta determinación no puede usarse en mostos en fermentación o vinos debido a la influencia del índice de refracción del alcohol.

En vitivinicultura vulgarmente se expresa grado Brix (° Brix) como equivalente al % de sólidos solubles. Un ° Brix se define como 1 g de sacarosa cada 100 g de solución. Si bien en el mosto los azúcares son los compuestos más abundantes, también se encuentran en solución ácidos, polifenoles, proteínas, minerales, polisacáridos, que intervienen en el índice de refracción. Por esta razón, la expresión correcta en mostos es sólidos solubles y no ° Brix (apropiado para expresar la concentración de un almíbar, que solo contiene sacarosa y agua).

Materiales:

- Refractómetro (figura 2)
- Termómetro (en caso de no tener refractómetro compensado por temperatura)
- Agua destilada y papel tissue para lavado de refractómetro.

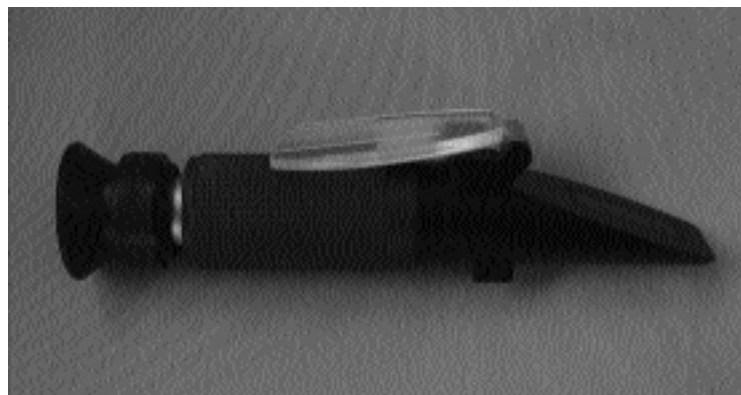


Figura 2: Refractómetro

Método:

Calibrar el refractómetro a 0 con agua destilada. Medir la temperatura del mosto en caso de no utilizar refractómetros autocompensados, para corregir el valor en función de la misma. En refractómetro limpio y seco, se colocan unas gotas de mosto, se cierra y se ve a través de la escala orientando el aparato hacia una fuente de luz y haciendo foco en la escala, mediante el ocular. La lectura se realiza como se observa en figura 3, obteniendo de esta manera el % de sólidos solubles. Recordar siempre que la limpieza de este aparato debe realizarse con agua destilada y secándolo suavemente con papel tissue.

Recordar siempre que la limpieza de este aparato debe realizarse con agua destilada y secándolo suavemente con papel tissue.

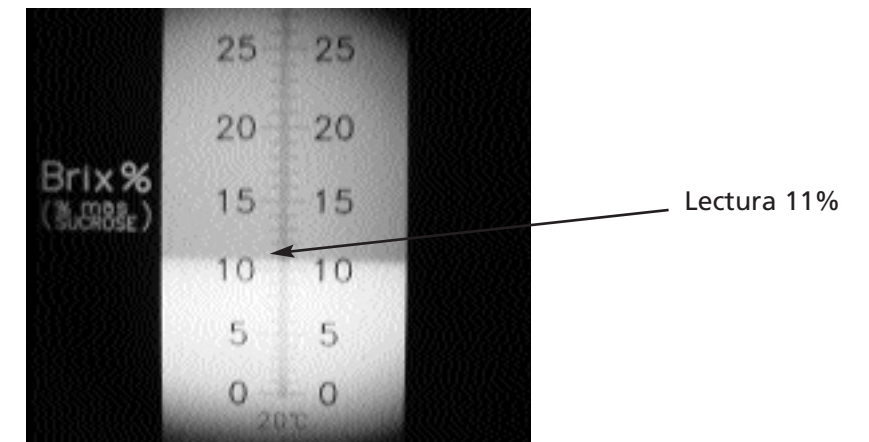


Figura 3: Lectura realizada en ocular de refractómetro.

Resultados:

La lectura de % de sólidos solubles, debe realizarse a 20° C. Si la lectura se hace a una temperatura diferente, el valor debe corregirse por la Tabla 1. La mayoría de los refractómetros son autocompensados y no necesitan corrección por temperatura.

Tabla 1: Correcciones necesarias de % sólidos solubles, cuando no se realiza a la temperatura de 20° C.

Temperatura °C	LECTURA EN REFRACTÓMETRO						
	0	5	10	15	20	25	30
	RESTAR AL VALOR LEÍDO						
10	0,500	0,540	0,580	0,610	0,640	0,660	0,680
11	0,460	0,490	0,530	0,550	0,580	0,600	0,620
12	0,420	0,450	0,480	0,500	0,520	0,540	0,560
13	0,370	0,400	0,420	0,440	0,460	0,480	0,490
14	0,330	0,350	0,370	0,390	0,400	0,410	0,420
15	0,270	0,290	0,310	0,330	0,340	0,340	0,350
16	0,220	0,240	0,250	0,260	0,270	0,280	0,280
17	0,170	0,180	0,190	0,200	0,210	0,210	0,210
18	0,120	0,130	0,130	0,140	0,140	0,140	0,140
19	0,060	0,060	0,060	0,070	0,070	0,070	0,070
20	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	SUMAR AL VALOR LEÍDO						
21	0,060	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,080
22	0,130	0,130	0,140	0,140	0,150	0,150	0,150
23	0,190	0,200	0,210	0,220	0,220	0,230	0,230
24	0,260	0,270	0,280	0,290	0,300	0,300	0,310
25	0,330	0,350	0,360	0,370	0,380	0,380	0,390
26	0,400	0,420	0,430	0,440	0,450	0,460	0,470
27	0,480	0,500	0,520	0,530	0,540	0,550	0,550
28	0,560	0,570	0,600	0,610	0,620	0,630	0,630
29	0,640	0,660	0,680	0,690	0,710	0,720	0,720
30	0,720	0,740	0,770	0,780	0,790	0,800	0,800

A partir del valor de sólidos solubles, se puede determinar aproximadamente la cantidad de azúcares presentes en el mosto utilizando la corrección por no azúcares, expresada en la siguiente fórmula (Frigerio, 1986).

$$\text{Azúcar (g L}^{-1}\text{ mosto)} = (11,142 \times \text{Lectura \% sólidos solubles}) - 27,367$$

Una forma aproximada de conocer la concentración de azúcar en g L⁻¹, es multiplicar por 10 la lectura del aparato (e.g. 15% , corresponde aproximadamente a 150 g L⁻¹).

b) DENSIDAD Y GRADO BAUMÉ

Otras formas de medir sólidos solubles totales en el mosto es a través de la determinación de su densidad, en forma directa, o bien a través de una escala modificada, como el mostímetro Baumé. Estos dos métodos se basan en que el densímetro, cuando es sumergido en una probeta con líquido, desplaza un volumen de líquido equivalente a su propio peso (principio de Arquímedes). Es importante tener en cuenta que estas dos medidas dependen de la temperatura.

En enología, se emplea la densidad relativa al agua que es un valor adimensional y no la densidad absoluta (expresada en g mL⁻¹). La densidad de un mosto será más elevada cuanto mayor sea su concentración de azúcar. Dado que en mostos o vinos el principal componente es el agua, sus valores de densidad se encuentran muy cercanos a ella. El mosto tiene una densidad levemente superior al agua (e.g. 1,098) debido a la influencia de los azúcares, mientras que el vino es inferior al agua (e.g. 0,997) por la presencia de alcohol. Por esta razón, es útil tanto para evaluar la concentración de azúcar del mosto como para controlar la evolución de la fermentación alcohólica. La lectura de densidad se refiere a 15° C, en caso de trabajar a temperatura diferente la corrección se realiza por medio de tablas (Ver tabla 2). Si la temperatura es superior a 15° C, el factor de corrección se suma a la lectura de densidad y si es inferior se resta.

Tabla 2: Correcciones necesarias en densidad, cuando no se realiza la lectura a 15° C

Temperatura °C	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Corrección *	0,4	0,3	0,2	0,0	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9	1,1	1,3	1,6	1,8	2,0	2,3	2,6	2,8	3,1

*Si la temperatura es mayor a 15° C la corrección se suma a la lectura de densidad. Si la temperatura es inferior a 15° C, la corrección se resta.

La escala Baumé proviene de la industria alimentaria, donde se utilizaba para medir la concentración de la salmuera. Un valor de 0° Bé corresponde al agua destilada y 15° Bé a una solución al 15% de ClNa en agua, por lo tanto es una escala arbitraria. Se usa en enología porque se observó que cuando se vinificaba un mosto de 10° Bé, se obtenía un vino de aproximadamente 10% (v/v) de alcohol. Por ello, 1 grado Baumé en el mosto produce aproximadamente 1% (v/v) de alcohol en el vino generado a partir de él. Debido a esto, también se puede establecer la siguiente equivalencia: 1° Bé = 17,5 g

azúcar L⁻¹ (cantidad de azúcar necesaria para que las levaduras produzcan 1% v/v de alcohol). Es importante tener en cuenta que una lectura correspondiente a 0° Bé no significa que la fermentación haya terminado, sino que el mosto-vino a alcanzado la densidad correspondiente al agua (debido a la cantidad de azúcar remanente y el alcohol producido). Por esto, para continuar con el control de la evolución de la fermentación debe emplearse el método de Fehling Causse-Bonnans (FCB). La lectura de ° Bé se refiere a 15° C, y en caso de trabajar a temperatura diferente, debe realizarse una corrección. Cada 2° C por encima de 15° C se le suma 0,1° Bé a la lectura realizada. Cada 2° C por debajo de 15° C se le resta 0,1° Bé.

En la escala del aerómetro Baumé (ubicada por encima del 0° Bé) existe una porción de color rojo, que contiene una subescala que va entre 6 y 13. Esta correspondería a la graduación alcohólica del vino, pero solo sirve de orientación por su poca precisión.

Materiales:

- Densímetro o aerómetro Baumé
- Termómetro
- Probeta lisa sin graduación (con un diámetro mínimo que permita flotar libremente al densímetro sin tocar las paredes, aproximadamente 3 cm)

Método:

En probeta limpia y seca, agregar el mosto a medir hasta unas 3/4 partes de la misma. Tomar temperatura del mosto para luego realizar las correcciones necesarias si la misma fuera diferente a 15° C. Introducir el densímetro o aerómetro Baumé provocando un pequeño movimiento de rotación. Una vez estable, leer tangencialmente en la parte inferior del menisco (igual que medición con alcoholómetro). Si bien esta es la manera correcta de efectuar la lectura, no se puede realizar tangente al menisco en los mostos debido a que no son límpidos y se realiza en el borde superior del menisco.

Precaución: debe evitarse la presencia de restos vegetales en suspensión, porque podrían depositarse sobre los hombros del densímetro y dar una lectura por defecto. Para evitarlo, se puede llenar la probeta permitiendo rebalsar el mosto, de modo de eliminar, por volcado la espuma, hollejos y semillas que se encuentran en la parte superior. Otra forma es emplear los escobajos como filtro de hollejos y semilla; para evitar la formación de espuma, volcar lentamente el mosto sobre la pared interna de la probeta.

3. ALCOHOL ETÍLICO – MÉTODO DEL ALCOHÓMETRO

El alcohol etílico proviene de la fermentación alcohólica del azúcar del mosto, por lo tanto su contenido está en relación directa con el porcentaje de azúcar de la uva a la madurez. La medida del contenido de alcohol de un líquido, es el porcentaje de alcohol absoluto contenido en un volumen real del líquido alcohólico, a una temperatura de 20° C. El alcohol etílico o etanol, representa entre el 5 y 18% del volumen de un vino. El Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV) fija todos los años para los vinos el contenido mínimo de alcohol en las distintas zonas del país y la tolerancia en $\pm 0,30$ para dos análisis de la misma muestra.

Existen tres métodos oficiales argentinos para la determinación del grado alcohólico, estos son: picnómetro, balanza hidrostática y alcoholómetro. Se desarrolla a continuación el método del alcoholómetro, que es el que se usa más corrientemente.

Materiales:

- Matraz aforado de 200 mL
- Probeta lisa sin graduación
- Pipeta graduada de 10 mL
- Dispositivo de destilación con refrigerante (figura 4)
- Balón de destilación
- Alcoholómetro
- Reactivos:
 - a) Solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 30-40%
 - b) Antiespumante

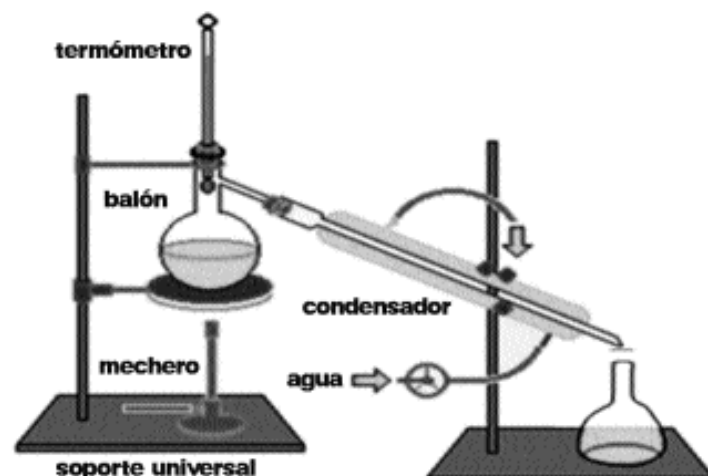


Figura 4: Esquema de aparato de destilación para determinación de alcohol en vinos

Método:

Enrasar con vino un matraz aforado de 200 mL. Colocarlo en un balón de destilación y enjuagar el matraz dos o tres veces con pequeñas cantidades de agua destilada, volcando el producto de dicho enjuague en el mismo balón. Neutralizar el SO₂ y los ácidos volátiles en el mismo balón, utilizando una solución concentrada de NaOH (30 - 40%). El punto final en vinos tintos es un color verde sucio y en vinos blancos es amarillo pardo.

Agregar de 2 a 3 mL de antiespumante, cuidando de no mojar el cuello del balón. Para evitar la producción de espuma podría usarse trocitos de piedra pómez. Tapar el balón con el tapón de goma unido al refrigerante, luego asegurarse que el agua circule por el refrigerante. En la salida del refrigerante, colocar el mismo matraz aforado de 200 mL que se usó para medir la muestra. Destilar hasta alcanzar las dos terceras partes del volumen inicial (donde comienza a angostarse el matraz). Enrasar el matraz con agua destilada hasta completar nuevamente los 200 mL. Homogeneizar la mezcla y enfriarla en un recipiente que contenga agua con hielo, hasta que el destilado alcance una temperatura de 20° C. Volcar el líquido en una probeta limpia y seca. Introducir el alcoholómetro provocando un pequeño movimiento de rotación. Leer tangencialmente en la parte inferior del menisco, como se observa en figura 5.

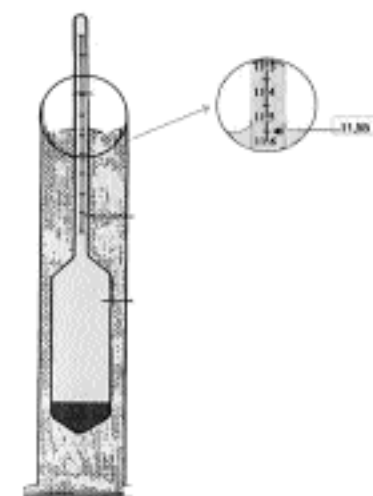


Figura 5: Esquema ilustrativo de lectura correcta con el alcoholómetro.

Resultados:

El valor se obtiene, por lectura directa en alcoholómetro. Si bien en el lenguaje cotidiano se emplea el término *grados* para expresar el contenido de alcohol etílico de una muestra, la correcta expresión es **% v/v a 20° C**. Dicho valor representa los mL de alcohol etílico puro presentes en 100 mL de vino evaluado a 20° C.

Preparación de soluciones utilizadas:

Solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 30-40%:

Pesar 400 g de hidróxido de sodio para análisis (NaOH p.a.). En un vaso de precipitación de 1000 mL, colocar unos 500 mL de agua destilada, agregar el NaOH pesado, agitar para disolver completamente (reacción exotérmica). Dejar enfriar la solución, trasvasar en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL y llevar a volumen.

Precauciones en la manipulación:

Hidróxido de sodio (NaOH): es corrosivo, produce quemaduras severas. Manejar con guantes y proteger los ojos.

4. ACIDEZ TOTAL

Todos los vinos tienen reacción ácida. Es importante tener en cuenta que la acidez del vino modifica el sabor (a mayor acidez, sabor más fresco); el color (a mayor acidez, color más intenso y vivaz) y la estabilidad microbiológica (a mayor acidez, mayor dificultad para el desarrollo de bacterias). La acidez total es la suma de la acidez volátil y fija, valorables por alcalimetría - acidimetría. Los ácidos fijos que más influyen son el tartárico, el málico y el cítrico. Mientras que el ácido acético, el láctico y el succínico son los ácidos volátiles más importantes. La mayoría de los vinos argentinos, provenientes de uvas sanas y maduras presentan valores de acidez total de entre 5 y 7 g L⁻¹ expresada en ácido tartárico.

De no mediar un agregado, el vino es un medio menos ácido que el mosto que le ha dado origen, ya que durante la fermentación una cierta cantidad de tartrato ácido de potasio (bitartrato de potasio) se insolubiliza. También durante el añejamiento, ciertas precipitaciones pueden reducir la acidez. La fermentación maloláctica también reduce la acidez total. La zona, la variedad, el manejo de la canopia, la fecha de cosecha, la ocurrencia o no de la fermentación maloláctica, la presencia o no de algunas enfermedades, provocan una variación en los valores normales de acidez.

El método de determinación es una volumetría líquida, es decir una titulación con una solución alcalina de normalidad conocida, usando como indicador fenoftaleína o azul de bromotimol. El INV no fija límites legales para acidez total, pero existe una tolerancia de 0,25 g L⁻¹ (en ácido tartárico) entre dos análisis de una misma muestra.

Materiales:

- Pipeta de doble aforo de 10 mL
- Bureta de 25 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Reactivos:
 - a) Solución de NaOH N/10
 - b) Indicador fenoftaleína (para vinos o mostos blancos) o azul de bromotimol (para vinos o mostos blancos y tintos)

Método:

Tomar 10 mL de la muestra con pipeta de doble aforo, y colocarlo en el erlenmeyer. Agregar 40 a 50 mL de agua destilada, y 2 ó 3 gotas del indicador elegido (fenoftaleína o azul de bromotimol). Llenar y enrasar la bureta con la solución de NaOH N/10. Titular hasta viraje del indicador, registrando el volumen utilizado de NaOH N/10. En el caso de usar fenoftaleína, se agrega esta solución hasta viraje del incoloro (medio ácido) al rosado (en medio alcalino). Si se utiliza como indicador azul de bromotimol, vira de un color amarillo anaranjado en medio ácido a un color verde azulado. Una vez alcanzado el color verde, se agrega el NaOH de a 2 gotas por vez (0,1 mL). Se lee el volumen gastado en la bureta y se hace un nuevo agregado de 0,1 mL de NaOH. Se procede de este modo hasta que el líquido pase de color verde azulado a color azul. La úl-

tima lectura de volumen gastado previo al viraje a color azul es el gasto a considerar.

Cálculo de resultados:

$$\text{Acidez total (g ácido tartárico L}^{-1}\text{ vino)} = 0,75 \times n$$

n: gasto en mL de la solución de NaOH N/10

Preparación de soluciones:

Solución de NaOH N/10:

Una solución N/10 ó 0,1 N, se debe preparar con 0,1 equivalente por litro de HONa. El equivalente del HONa pesa 40,01 g, por lo tanto la décima parte es 4,001 g. Para preparar esta solución se debe pesar 4,001 g de HONa para análisis (p.a.) en balanza analítica. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación de 1000 mL que contiene unos 500 mL de agua destilada, revolviendo para su disolución con una varilla de vidrio. Tener en cuenta que es una reacción exotérmica. Una vez que se enfríe trasvasar al matraz de 1000 mL y enrasar. Esta solución debe valorarse para calcular el factor de corrección mediante el uso de ClH 0,1N.

Advertencia: esta solución debe conservarse en frascos tapados ya que reacciona con el dióxido de carbono del aire y ser titulada con frecuencia para el control de su normalidad (determinando el factor de corrección).

Precauciones en la manipulación:

Hidróxido de sodio (NaOH): es corrosivo, produce quemaduras severas. Manejar con guantes y proteger los ojos.

5. ACIDEZ VOLÁTIL

La acidez volátil está formada por los ácidos grasos de la serie acética que se encuentran en el vino, básicamente son los ácidos acético, fórmico, propiónico y butírico. Se excluyen de la acidez volátil los ácidos láctico y succínico, como así también el anhídrido carbónico, el ácido carbónico y el anhídrido sulfuroso (ácido sulfuroso).

En todo vino sano se encuentra acidez volátil, ya que los ácidos volátiles que la forman son productos secundarios de la fermentación alcohólica. Durante el transcurso de la fermentación maloláctica también se genera acidez volátil. Pero como todas las enfermedades bacterianas producen ácidos volátiles, su valoración tiene valor de diagnóstico del estado del vino. Las bacterias acéticas son aerobias, de modo que cuando una vasija no se mantiene completamente llena de vino (vasija merma), se dan condiciones favorables a las bacterias para desarrollarse y producir incrementos de acidez volátil. En vinos sanos encontramos tenores de 0,20 a 0,40 g L⁻¹ expresado en ácido acético. Estos tenores normales contribuyen en su forma natural al perfume del vino. El límite legal en Argentina para que un vino pueda salir al consumo (análisis de libre circulación) es de 1 g L⁻¹. Los mostos no tienen acidez volátil, excepto aquellos provenientes de uvas enfermas con podredumbre ácida.

Para esta determinación existen dos métodos directos de dosaje de los ácidos volátiles, el Método Duclaux y el Método Jaulmes.

El método de Duclaux, recoge, mediante destilación, sólo una fracción del ácido acético. Este método se basa en el hecho comprobado por Duclaux que destilando una solución de ácido acético al 1% hasta recoger 10/11 partes del volumen de esa solución, la cantidad de acético que destila es igual al 80% de la contenida en el líquido original. Para el ácido propiónico es 95%, para el ácido butírico es el 97,5% y para el fórmico es el 59%. Debido a que los últimos ácidos están en menor proporción en los vinos, se toma en cuenta el coeficiente del ácido acético. Los coeficientes son los mismos, tanto en un vino, como en una solución acuosa. Los vinos afectados por Tourné, en los que la cantidad de ácido propiónico es muy elevada, dan resultados falsos.

En el método de Jaulmes, mediante el uso del arrastre con vapor de agua se recoge la totalidad de la acidez volátil.

4.a METODO DUCLAUX:

Materiales:

- Matraz aforado 100- 110 mL
- Dispositivo de destilación con refrigerante
- Balón de destilación de 300 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Reactivos:
 - a) NaOH N/10
 - b) Indicador fenolftaleína
 - c) Ácido sulfúrico SO₄H₂ 1:3

- d) Indicador almidón al 1%
- e) Solución de iodo N/50

Método:

Medir 110 mL del vino en un matraz de 100 - 110 mL, trasvasar cuantitativamente al balón de destilación de 300 mL. Lavar el matraz, escurrirlo y dejar secar para evitar diluciones. Desechar el agua usada para lavar, no volcarla en el balón. Colocar el matraz a la salida del refrigerante para recibir el destilado.

Destilar regulando el mechero de modo tal que la operación dure unos cuarenta minutos (al variar el tiempo, varían las proporciones de los ácido que pasan). La operación termina cuando se han destilado 100 mL. Trasvasar cuantitativamente el destilado a un erlenmeyer de 250 mL y calentar sobre tela de amianto hasta emisión de vapores blancos (aproximadamente 60° C), para la eliminación de CO₂. El calentamiento es sólo recomendable en vinos nuevos con grandes cantidades de CO₂. En vinos de más de un año de elaborado es recomendable evitar el calentamiento, ya que no mejora la precisión del método y se corre el riesgo de excederse y eliminar también ácidos volátiles. Dejar enfriar y titular con NaOH N/10 en presencia de fenolftaleína, como indicador, hasta leve color rosado persistente. Registrar el gasto de NaOH N/10 (primera titulación). Agregar una gota de SO₄H₂ para llevar nuevamente a pH ácido; agregar 3 mL de almidón y titular con iodo N/50, hasta color azul persistente. Registrar el gasto de iodo N/50 (segunda titulación).

Cálculo de resultados:

$$\text{Acidez volátil (g ácido acético L}^{-1}\text{ vino)} = 0,0685 \times \left[N - \frac{n}{5} \right]$$

N: mL utilizados de solución de NaOH N/10 (primera titulación)
n: mL utilizados de solución de iodo N/50 (segunda titulación)

4.b. MÉTODO JAULMES:

Materiales:

- Aparato de destilación de Jaulmes (generador de vapor, ampolla conectada a una columna rectificadora de ácido láctico y refrigerante; figura 6)
- Pipeta doble aforo de 10 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Pipeta de doble aforo de 25 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Bureta color caramelo de 25 mL
- Reactivos:
 - a) Ácido tartárico al 25%
 - b) NaOH N/10
 - b) Ácido sulfúrico concentrado

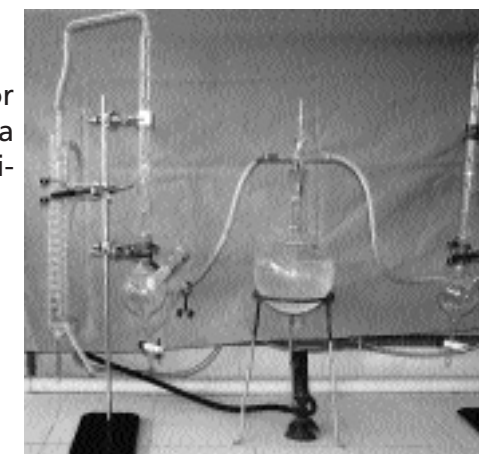


Figura 6: Aparato de destilación de Jaulmes

- d) Iodo N/50
- e) Indicador almidón
- f) Bórax solución saturada

Método:

Encender la caldereta generadora de vapor. Medir 10 mL de vino con pipeta de doble aforo y colocarlos en la ampolla del dispositivo de destilación. Agregar 1 mL de ácido tartárico al 25%, con el objeto de desplazar al ácido acético de sus sales, para que pueda ser destilado. Abrir la llave de paso de vapor hacia la ampolla. Recoger 100 mL del destilado en erlenmeyer de 250 mL.

Proceder a la titulación del destilado con NaOH N/10 previo agregado de fenoftaleína, hasta color rosado leve, pero persistente. Acidular con una sola gota de SO_4H_2 concentrado, agregar 3 mL de almidón y titular con iodo N/50 hasta color azul violáceo. Registrar los mL utilizados. Agregar 25 mL de bórax en solución saturada y volver a titular con iodo N/50 hasta color azul violáceo registrando los mL necesarios.

Cálculo de resultados:

$$\text{Acidez volátil (g ácido acético L}^{-1}\text{ vino)} = 0,6 \left[a - \left(\frac{b}{5} + \frac{c}{10} \right) \right]$$

a: mL gastados de NaOH, primera titulación

b: mL gastados de iodo N/50 luego del agregado de ácido sulfúrico, segunda titulación

c: mL gastados de iodo N/50 luego del agregado de bórax, tercer titulación

Preparación de soluciones:*Solución de hidróxido de sodio (NaOH) N/10:*

Pesar en balanza analítica 4,001 g de hidróxido de sodio p.a. En un vaso de precipitación disolver el hidróxido de sodio en agua destilada y dejar enfriar teniendo en cuenta que es una reacción exotérmica. Trasvasar en forma cuantitativa a matraz aforado de 1000 mL. Lavar repetidas veces con agua destilada volcando el producto del enjuague en el matraz. Agregar agua destilada para enrasar el matraz. Esta solución debe valorarse para calcular el factor de corrección mediante el uso de CIH 0,1N.

Advertencia: esta solución debe conservarse en frascos tapados ya que reacciona con el dióxido de carbono del aire y ser titulada con frecuencia para el control de su normalidad (determinando el factor de corrección).

Solución de ácido sulfúrico (SO_4H_2) 1:3 :

En un matraz de 1000 mL, colocar 400 mL de agua. Agregar con precaución y lentamente 300 mL de ácido sulfúrico p.a. al 98%, agitando bajo lluvia de agua debido a su reacción fuertemente exotérmica y para evitar proyecciones. Dejar enfriar y llevar a 1000 mL con agua destilada. Siempre agregar primero el agua y luego el ácido sin alterar este orden, para evitar proyecciones del líquido.

Solución de iodo (I) N/50:

Pesar 7 g de ioduro de potasio (IK). Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada con ayuda de una varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Pesar en balanza analítica 2,538 g de iodo (peso equivalente, 126,92 g), que equivalen a 1/50 equivalentes ó 0,02 N. Trasvasar en forma cuantitativa rápidamente a matraz aforado de 1000 mL, con los 100 mL de la solución de ioduro de potasio (IK) preparada anteriormente. Llevar a volumen el matraz de 1000 mL con agua destilada.

Advertencia: esta solución debe conservarse en envases de vidrio color caramelo con tapa de vidrio. La normalidad de esta solución debe controlarse frecuentemente, mediante la titulación con una solución de trióxido de arsénico (As_2O_3).

Solución de ácido tartárico ($\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) al 25%:

Pesar en balanza analítica 25 g de ácido tartárico. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Solución saturada de Bórax:

Pesar 16 g de borato de calcio cristal p.a. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Precauciones en la manipulación:

Hidróxido de sodio (NaOH): es corrosivo, produce quemaduras severas. Manejar con guantes y proteger los ojos con antiparras.

Ácido sulfúrico (SO_4H_2): es corrosivo, produce quemaduras severas. De producirse contacto lavar inmediatamente con agua. En caso de salpicaduras, quítese lo antes posible la ropa manchada. Ante un derrame no usar agua.

6. AZÚCARES REDUCTORES - METODO FEHLING CAUSSE-BONNANS

Para determinar la cantidad de azúcar en el vino se utiliza el método del Licor de Fehling Causse-Bonnans (FCB). El mismo utiliza las propiedades reductoras de los azúcares, capaces de reducir las soluciones cúpricas, mercúricas o bismúticas, en medio fuertemente alcalino y en caliente, debido a que poseen funciones aldehídicas o cetónicas libres. A temperatura de ebullición y en medio alcalino los azúcares reducen al cobre, que en el Licor FCB se encuentra en forma de complejo cupritartrato sódico-potásico. El Licor FCB está formado por sulfato de cobre, tartrato doble de sodio y potasio, hidróxido de sodio y ferrocianuro de potasio.

El método consiste en titular un volumen conocido de Licor FCB con la solución de azúcares de concentración desconocida, usando azul de metileno como indicador. Debido a que esta titulación se lleva a cabo sobre el fuego de un mechero, no es necesario agitar porque la ebullición produce la homogeneización. Esta determinación es exacta para concentraciones de azúcares hasta 10 g L⁻¹; si la muestra tiene un contenido mayor, debe ser diluida.

Previo a la titulación, la muestra debe ser tratada para evitar la acción de otras sustancias que puedan reaccionar en iguales condiciones que los azúcares (por ejemplo, los polifenoles). Para ello se hace un tratamiento de la muestra con carbón activado y acetato de plomo (proceso denominado defecación de la muestra).

Los mostos de uva madura poseen entre 210 y 250 g L⁻¹ de azúcar. En vinos, luego de la fermentación el contenido es muy inferior. Para el INV (Instituto Nacional de Vitivinicultura) según la cantidad de azúcar, los vinos se clasifican como indica la tabla 3.

Tabla 3: Clasificación de los vinos según su contenido de azúcar

Tipo de vino	Contenido de azúcar
Vino seco	Hasta 4 g azúcar L ⁻¹ vino
Vino abocado	De 4 a 30 g azúcar L ⁻¹ vino
Vino dulce	Más de 30 g azúcar L ⁻¹ vino

Materiales:

- Probeta de 50 mL
- Pipeta de doble aforo de 15 mL
- Pipeta graduada de 5 mL
- Embudo c/papel de filtro
- Erlenmeyer de 250 mL
- Bureta acodada de 25 mL (para evitar que el líquido en su interior se caliente en la titulación)
- Mechero +soporte+tela de amianto
- Matraz 100 mL y pipetas de doble aforo (en caso de necesitar dilución)
- Reactivos:
 - a) Licor de Fehling Causse-Bonnans (FCB)
 - b) Solución de acetato de plomo al 25%

- c) Carbón activado (0,5 g)
- d) Azul de metileno al 1%

Método:

Para realizar la defecación de la muestra, previo a la titulación, se deben colocar 45 mL de vino en una probeta, y agregar 5 mL de acetato de plomo medidos en pipeta y 5 g de carbón activado (una cucharadita). Homogeneizar y dejar en reposo 10 minutos. Filtrar con embudo y papel de filtro, y recoger en un erlenmeyer seco.

Verificar que la bureta acodada no pierda y llenar con el filtrado obtenido en el paso anterior. Colocar 15 mL de Licor FCB en el erlenmeyer medidos en pipeta de doble aforo. Llevar a 50 mL con agua destilada, homogeneizar y llevar a ebullición sobre mechero con tela de amianto. Cuando se inicia la ebullición del FCB en el erlenmeyer, se debe comenzar con la titulación. Cuando el líquido se aclara del azul al celeste claro, se detiene el goteo y se agregan 2 a 3 gotas de azul de metileno. Se continúa la titulación hasta que aparece una mancha amarilla que luego se generaliza en toda la masa del líquido.

Registrar los mL gastados de la bureta para obtener el punto final. Si el valor de azúcares reductores en el vino es mayor a 10 g L⁻¹ se deberá diluir el filtrado y realizar nuevamente la titulación.

Cálculo de resultados:

$$\text{Azúcares reductores (g azúcar L}^{-1}\text{ vino)} = \frac{45,1}{n}$$

$$\text{Azúcares reductores (g azúcar L}^{-1}\text{ vino)} = \frac{45,1}{n} \times D$$

n: mL gastados de FCB en titulación

D: dilución efectuada en el vino, si el mismo contiene más de 10 g azúcar L⁻¹

Preparación de soluciones:

Licor de Fehling Causse-Bonnans (FCB)

Pesar 130 g de tartrato de sodio y potasio para análisis (p.a.) y 110 g de hidróxido de sodio p.a., disolver ambos en pequeño volumen de agua destilada. Pesar 24 g de sulfato cúprico pentahidratado (CuSO₄ 5H₂O), disolver en un volumen pequeño de agua destilada. Pesar 16,8 g de ferrocianuro de potasio p.a., disolver en un volumen pequeño de agua destilada.

En un matraz de 1000 mL, agregar la disolución de tartrato de sodio y potasio+hidróxido de sodio, luego la de sulfato cúprico pentahidratado, agitar constantemente hasta

su correcta homogenización. Posteriormente agregar la disolución de ferrocianuro de potasio. Llevar a volumen el matraz con agua destilada. Dejar reposar esta solución durante 24 hs, para lograr estabilización del complejo.

Determinar el título de esta solución con una solución de azúcar invertido 5 g L⁻¹ mediante el siguiente método:

Colocar en erlenmeyer de 250 mL 15 mL de solución de FCB preparada, medidos en pipeta de doble aforo. Agregar 50 mL de agua destilada. En bureta acodada de 25 mL agregar y enrasar con una solución de azúcar invertido a 5 g L⁻¹. Calentar erlenmeyer con FCB, hasta ebullición. Cuando esto sucede dejar caer gota a gota (3 gotas s⁻¹) hasta que la solución comienza a decolorarse (mantener constante la ebullición). Agregar 3 gotas de azul de metileno. A partir de este momento continuar con la titulación, teniendo en cuenta de que el goteo debe ser más lento (1 gota cada 2 segundos). El punto final esta dado por la desaparición del color del azul de metileno y la aparición de un color amarillo. Esta titulación debe realizarse entre 2,5 a 3 minutos. Los 15 mL de FCB deben ser decolorados por 8,2 mL de azúcar invertido a 5 g L⁻¹. Si el gasto no fuera 8,2 mL debe calcularse el factor de corrección de esta solución.

Solución de acetato de plomo al 25%:

Pesar en balanza analítica 250 g de acetato de plomo p.a. y agregarlos a un erlenmeyer de 1000 mL. Llevar a fuego sobre tela de amianto, hasta que se inicie la fusión de la sal. Agregar una porción de agua destilada, homogeneizar y calentar nuevamente en mechero. Una vez que se homogeneizó esta solución, volver agregar agua destilada y calentar nuevamente; repetir esta operación hasta lograr la disolución completa. Se debe tener la precaución de que el volumen de esta solución no debe superar los 950 mL para permitir el agregado del ácido acético glacial. Dejar enfriar y pasar a matraz de 1000 mL, agregar 20 mL de ácido acético glacial concentrado, homogeneizar y llevar a volumen con agua destilada.

Precauciones en la manipulación:

El Licor de Fehling Causse-Bonnans (FCB): es corrosivo y caústico, produce quemaduras en la piel. Tener cuidado en el pipeteo de esta solución (preferentemente usar propipeta), en caso de introducción en boca neutralizar su alcalinidad con vino o con una solución de ácido débil.

7. CLORUROS

El cloro se encuentra en los mostos y en los vinos combinado, especialmente como cloruro de sodio (ClNa), en cantidades entre 50 y 200 mg L⁻¹. Estos valores aumentan en zonas salinas o cercanas al mar. El límite legal de cloruros (Cl⁻) en Argentina es 0,60 g L⁻¹, expresado como cloruro de potasio (ClK). El contenido de cloruros de un vino puede ser modificado por el agregado fraudulento de ácido clorhídrico (ClH) para bajar el pH, o bien de ClNa para aumentar el sabor, brillantez o las cenizas (con el fin de intentar ocultar un estiramiento). Algunas gelatinas de uso enológico pueden aportar ClNa.

La determinación de Cloruros, se realiza por el Método por Toque, el cual se basa en la reacción de precipitación de los cloruros con catión plata. A un volumen determinado de vino se le añade un volumen exactamente medido de una solución empírica de NO₃Ag, que precipita exactamente una cantidad de Cl⁻ equivalente al límite admitido por la ley. Se trata de averiguar si la cantidad de Cl⁻ es superior o inferior a ese límite, según sea el resultado del toque. Se trabaja con una solución empírica de NO₃Ag, que contiene 5,808 g L⁻¹, de modo que 1 mL de la solución empírica reacciona con 0,20 g Cl⁻ L⁻¹.

Materiales:

- Pipeta de doble aforo de 10 mL
- Pipeta graduada de 5 mL
- Mechero
- Un tubo de ensayo de 50 mL
- Dos tubos de ensayo de 25 mL
- Propipeta de goma
- Reactivos:
 - a) Solución empírica de Nitrato de plata (NO₃Ag, 5,808 g L⁻¹)
 - b) Ácido nítrico concentrado (NO₃H cc)
 - c) Cloruro de sodio al 10% (ClNa al 10%)
 - d) Nitrato de plata al 10% (NO₃Ag al 10%)

Método:

En un tubo de ensayo grande, colocar 10 mL de vino, agregarle 3 mL de la solución empírica de NO₃Ag y 3 mL de NO₃H puro (NO PIPETEAR), usar propipeta debido a que el ácido es sumamente cáustico. Calentar flameando el tubo sobre la llama del mechero hasta ebullición y luego dejar enfriar hasta que se deposite el cloruro de plata (ClAg) formado.

Extraer el sobrenadante y dividir en dos fracciones el líquido, colocando cada una de ellas en un tubo de ensayo chico. Agregar al tubo A, 1 mL de solución de ClNa al 10%. Agregar al tubo B, 1 mL de solución NO₃Ag al 10%. Observar en que tubo se forma un precipitado e interpretar los resultados.

Interpretación de los resultados:

Los resultados se obtienen interpretando la formación de precipitado en los tubos A y

B. Si se produce precipitado en el tubo A, significa que el contenido de Cl^- se encuentra por debajo del límite legal. En el tubo A se agregó ClNa (anión Cl^-); si se produce precipitado se debe a que existían cationes plata (Ag^+) libres. El Ag^+ reaccionó con el Cl^- presente en la muestra, pero debido a que el contenido de Cl^- era menor que el límite legal, quedó Ag^+ libre. Este catión plata reacciona con el ClNa al 10%, formando el precipitado.

Si se produce el precipitado en tubo B, significa que el contenido de Cl^- está por encima del límite legal. En el tubo B se agregó NO_3Ag (catión Ag^+) si se produce precipitado, se debe a que existía Cl^- libre. El Ag^+ reaccionó con el Cl^- presente en la muestra, pero debido a que el contenido de Cl^- era mayor que el límite legal, quedó Cl^- libre. Este anión Cl^- reacciona con el NO_3Ag al 10% formando el precipitado.

Preparación de soluciones:

Solución empírica de Nitrato de plata (NO_3Ag), de 5,808 g L^{-1} :

Pesar en balanza analítica 5,808 g de NO_3Ag . Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Solución de cloruro de sodio (ClNa) al 10%:

Pesar en balanza analítica 10 g de ClNa . Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Nitrato de plata (NO_3Ag) al 10%:

Pesar en balanza analítica 10 g de NO_3Ag . Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Precauciones en la manipulación:

Ácido nítrico (NO_3H): es corrosivo, produce quemaduras graves. No respirar los vapores. De producirse contacto con los ojos enjuagar con abundante agua y acudir al médico. Utilizar elementos de protección y siempre usar propipeta.

8. SULFATOS

Los vinos contienen normalmente 0,5 a 1,0 g L^{-1} de sulfatos (SO_4^{-2}), expresados como sulfato de potasio (SO_4K_2), dependiendo del terreno en que ha sido cultivada la vid, siendo mayores en los suelos salinos. Estas cantidades aumentan progresivamente durante el añejamiento debido a las sulfitaciones sucesivas y la oxidación. Problemas derivados de piletas de hormigón armado en mal estado, pueden provocar enriquecimiento en sulfatos. También prácticas fraudulentas, como el agregado de ácido sulfúrico (SO_4H_2), pueden elevar el contenido de sulfatos. El INV ha fijado como límite legal 1 g L^{-1} de sulfatos, expresado como SO_4K_2 para vinos secos; 1,2 g L^{-1} para vinos edulcorados y 1,5 g L^{-1} para vinos con más de 2 años de añejamiento o elaboraciones especiales con denuncia previa.

El Método aproximado utilizado es el del Licor Gipsométrico, el cual se basa en la precipitación del ión sulfato con el ion bario, de acuerdo a la siguiente reacción:



El método determina si la cantidad de SO_4^{-2} expresada como sulfato de potasio es superior o inferior a 1 g L^{-1} . El licor gipsométrico está constituido por una solución de 2,804 g L^{-1} de cloruro de bario (Cl_2Ba) acidulada con ácido clorhídrico. De modo que 1 mL del licor equivale a 0,2 g L^{-1} de sulfatos.

Materiales:

- Pipeta doble aforo de 10 mL
- Pipeta graduada de 5 mL
- Un tubo de ensayo grande de 50 mL
- Dos tubos de ensayos de 25 mL
- Mechero
- Reactivos:
 - a) Licor Gipsométrico, solución de 2,804 g L^{-1} de Cl_2Ba , acidulada con ácido clorhídrico (25 mL L^{-1}). De modo que 1 mL del licor equivale a 0,20 g L^{-1} de sulfatos.
 - b) Cloruro de bario al 10% (Cl_2Ba al 10%)
 - c) Ácido sulfúrico al 10% (SO_4H_2 al 10%)

Método:

En un tubo de ensayo grande colocar 10 mL de vino, agregarle 5 mL de licor gipsométrico. Calentar flameando el tubo sobre la llama del mechero hasta ebullición. Dejar enfriar hasta que se deposite el sulfato de bario formado (SO_4Ba). Extraer el sobrenadante y dividir en dos fracciones el líquido, colocando cada una de ellas en un tubo de ensayo chico. Agregar al tubo A 1 mL de solución de Cl_2Ba al 10%. Agregar al tubo B 1 mL de solución de SO_4H_2 al 10%. Observar en que tubo se forma un precipitado e interpretar los resultados.

Interpretación de los resultados:

Los resultados se obtienen interpretando la formación de precipitado en los tubos A y B. Si se produce precipitado en el tubo A, significa que el contenido de sulfatos se en-

cuentra por encima del límite legal. Si se produce precipitado en el tubo B, significa que el contenido de sulfatos está por debajo del límite legal.

En el tubo A se agregó Cl_2Ba , catión Ba^{+2} ; si se produce precipitado, se debe a que existía anión sulfato libre (SO_4^{-2}). El contenido de Ba^{+2} agregado por medio del licor gipsométrico era suficiente para reaccionar con una concentración de SO_4^{-2} equivalente al límite legal. El Ba^{+2} reaccionó con el SO_4^{-2} presente en la muestra, pero debido a que el contenido de SO_4^{-2} era mayor que el límite legal, quedó libre anión SO_4^{-2} . Este anión sulfato reacciona con el Cl_2Ba al 10% formando el precipitado de SO_4Ba .

En el tubo B se agregó SO_4H_2 , anión SO_4^{-2} ; si se produce precipitado, se debe a que existía catión Ba^{+2} libre. El contenido de Ba^{+2} agregado por medio de la solución empírica era suficiente para reaccionar con una concentración de anión SO_4^{-2} equivalente al límite legal. El Ba^{+2} reaccionó con el SO_4^{-2} presente en la muestra, pero debido a que el contenido de SO_4^{-2} era menor que el límite legal, quedó Ba^{+2} libre. Este Ba^{+2} reacciona con el SO_4H_2 al 10% formando el precipitado de SO_4Ba .

Preparación de soluciones:

Licor Gipsométrico:

Pesar en balanza analítica 2,804 g de Cl_2Ba . Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso). Acidular con 25 mL de ácido clorhídrico p.a. y llevar a volumen el matraz con agua destilada.

Como 5 mL de licor gipsométrico reaccionan con 1 g de SO_4K_2 , entonces 1 mL reaccionará con 0,2 g de SO_4K_2 .

Cloruro de bario (Cl_2Ba) al 10%:

Pesar en balanza analítica 100 g de Cl_2Ba . Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Ácido sulfúrico (SO_4H_2) al 10%:

En un matraz de 1000 mL, colocar 600 mL de agua destilada. Agregar lentamente y con precaución 100 mL de SO_4H_2 p.a. al 98%, agitando bajo lluvia de agua debido a su reacción fuertemente exotérmica y para evitar proyecciones. Dejar enfriar y llevar a volumen con agua destilada. Siempre agregar primero el agua y luego el ácido sin alterar este orden, para evitar proyecciones del líquido.

Precauciones en la manipulación:

Hidróxido de sodio (NaOH): es corrosivo, produce quemaduras severas. Manejar con guantes y proteger los ojos.

Ácido sulfúrico (SO_4H_2): es corrosivo, produce quemaduras severas. De producirse contacto lavar inmediatamente con agua. En caso de salpicaduras, quítese lo antes posible la ropa manchada y acuda a un médico. Ante un derrame no usar agua.

9. EXTRACTO SECO

El extracto seco del vino es el peso del residuo fijo obtenido después de la evaporación de las sustancias volátiles, a presión atmosférica y a temperatura de ebullición del agua. El vino está compuesto por agua, ácidos fijos y volátiles, polifenoles, sustancias nitrogenadas, sustancias aromáticas, azúcares, enzimas, minerales, sustancias pépticas, gomas, mucílagos y alcoholes. El extracto está constituido por las sustancias no volátiles: azúcares, glicerina, ácidos fijos, polifenoles, minerales, sustancias nitrogenadas. Algunas de estas sustancias sufren transformaciones durante la determinación del extracto seco por la acción del calor:

- Los azúcares se caramelizan dando compuestos menos pesados
- El ácido láctico, la glicerina y el 2-3- butanodiol se volatilizan parcialmente
- El ácido tartárico y el málico es esterifican internamente.

El método utilizado es el Método Oficial Argentino- El valor normal de extracto seco libre de azúcares reductores es diferente en los distintos tipos de vinos (Tabla 4)

Tabla 4: Valores normales de extracto seco libre de azúcares reductores

Tipo de vino	Extracto seco (g L ⁻¹)
Vino blanco	15 a 18
Vino rosado	18 a 22
Vino tinto	22 a 25

El valor del extracto seco puede alterarse por el agregado ilícito de alcohol o agua al vino, así también como por otras prácticas lícitas, tales como el proceso de añejamiento. Algunos procesos como la oxidación de la materia colorante o polifenoles, la fermentación de azúcares residuales y ciertas enfermedades, modifican también los valores de extracto seco.

Cuando se quiere comparar los extractos de diferentes vinos, se trabaja con el extracto seco libre de azúcares reductores: para ello se determina el extracto seco, y en la misma muestra se determina el contenido de azúcares reductores, también en g L⁻¹. Luego por diferencia se obtiene el valor de extracto seco libre de azúcares reductores.

Materiales:

- Pipeta doble aforo de 10 mL
- Cristalizador de vidrio modelo oficial: fondo perfectamente plano, 6,2 a 6,5 cm de diámetro, 1,8 a 2 cm de alto y 1 a 1,5 mm de espesor
- Balanza analítica
- Baño maría
- Estufa de agua hirviente o estufa Moslinger-Borgman (figura 7)
- Desecador

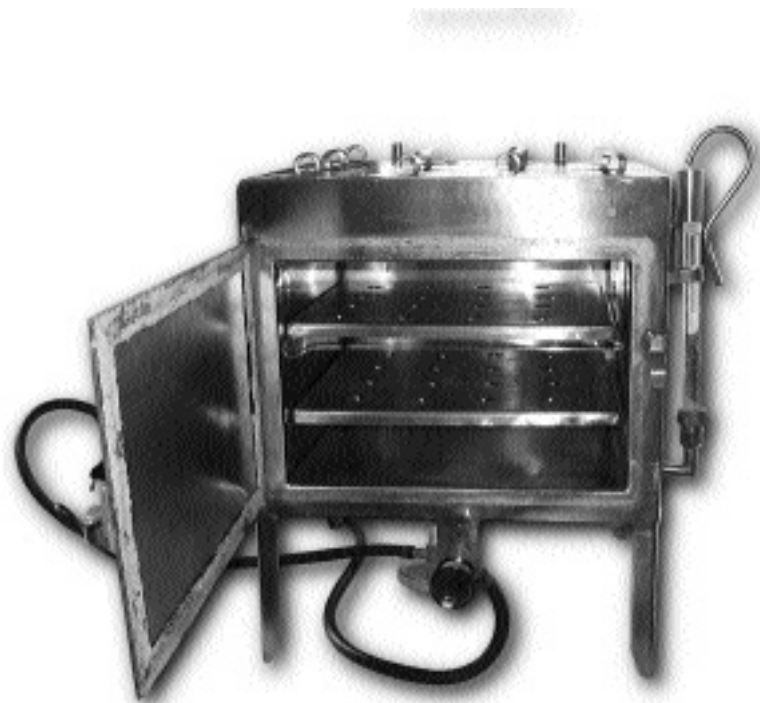


Figura 7: Estufa de agua hirviente o estufa Moslinger-Borgman

Método:

Colocar 10 mL de vino, medidos con pipeta de doble aforo en un cristizador de vidrio modelo oficial, previamente tarado (P1: tara del cristizador). Anotar el número del cristizador y llevarlo al Baño María (BM) en ebullición, durante 80 minutos. Debe cuidarse que el BM esté bien nivelado. Llevar luego a la estufa de agua hirviente o estufa Moslinger-Borgman, durante 30 minutos si el extracto es inferior a 60 g L⁻¹. Cuando el extracto es superior a 60 g L⁻¹, deberá estar en estufa durante 60 minutos, como es en el caso de un mosto o un vino dulce.

Llevar a desecador hasta que se enfríe y luego pesar colocando el cristizador invertido, para que los compuestos higroscópicos (tales como la glicerina y los azúcares) incorporen la menor cantidad de agua posible. Registrar el peso del cristizador con el extracto seco, identificado como P2.

Cálculo de los resultados:

$$\text{Extracto seco (g L}^{-1}\text{)} = (P2 - P1) \times 100$$

P1: tara del cristizador

P2: peso de cristizador con el extracto seco

$$\text{Extracto seco libre de azúcares reductores (g L}^{-1}\text{)} = \text{Extracto seco (g L}^{-1}\text{)} - \text{Azúcares reductores (g L}^{-1}\text{)}$$

10. CENIZAS

La uva contiene una gran cantidad de sustancias minerales provenientes del suelo, pudiendo citarse P, S, K, Na, Mg, Si, Fe, Mn. En menor proporción están F, Cl, Br, I, Al, B, Ti, Rb y Mo. Las sustancias minerales se localizan principalmente en las partes sólidas de la uva: película, pepitas y las paredes celulósico-pécticas de las células de la pulpa. El contenido mineral del mosto puede variar durante el proceso de vinificación. Algunas de las sustancias disminuyen por formación de sales insolubles, otras aumentan su contenido por disolución durante la maceración. Debido a tratamientos durante la elaboración y conservación pueden aumentar la concentración de elementos particulares y aun incorporarse elementos extraños.

Se llama cenizas del vino al residuo de calcinación a 500-550° C del extracto seco, libre de todo residuo carbonoso. Los constituyentes minerales primarios son: cloruros, sulfatos y fosfatos de potasio, sodio, magnesio y calcio. Durante la calcinación, las sales de los ácidos orgánicos son transformadas en carbonatos y los iones se agrupan de maneras diversas, dando sales que no existían antes en el vino. El peso de las cenizas varía generalmente entre 1,5 y 3,0 g L⁻¹. Existe una relación bastante constante de aproximadamente 1/10, entre el peso de las cenizas y el del extracto seco libre de azúcares reductores.

Para esta determinación se utiliza el Método Oficial Argentino, el cual se lleva a cabo por calcinación de la materia orgánica. La muestra se coloca en una cápsula de porcelana y se calienta en Baño María. De esta forma, se evita la descomposición brusca de la materia orgánica, que provocaría proyecciones y como consecuencia pérdidas. Esta precaución debe tenerse especialmente en cuenta cuando se trabaja con vinos dulces. Luego la muestra es llevada a mechero y posteriormente a una mufla a una temperatura entre 500 y 550° C. Se recuerda que la temperatura no debe superar los 550° C pues habría pérdidas de cloruros y carbonatos, que se convierten en óxidos. Además, un calentamiento mayor provoca la fusión de las cenizas y los carbonatos alcalinos fundidos atacarían las cápsulas, inutilizándolas. El calentamiento es preciso realizarlo en un ambiente oxidante para prevenir la volatilización de los cloruros, reducción de los sulfatos y fusión de los carbonatos alcalinos alrededor de las partículas de carbón. Normalmente las cenizas son blancas o grisáceas. Si son verdes y viran al rojo con los ácidos indica gran cantidad de magnesio. Si son amarillas, el contenido de hierro es elevado.

Materiales:

- Pipeta doble aforo de 20 mL
- Cápsula de porcelana
- Baño maría
- Mechero, con tela de amianto y triángulo de pipa
- Mufla (figura 8)
- Desecador
- Balanza de precisión



Figura 8: Mufla

Método:

Colocar 20 mL de vino, medidos con pipeta de doble aforo, en una cápsula de porcelana previamente tarada (P1).

Llevar al Baño María hasta obtener una consistencia siruposa (de jarabe). Llevar al mechero con tela de amianto y luego con triángulo de pipa, hasta lograr la carbonización. Pasar a mufla a una temperatura de 525° C (rojo sombra) para su calcinación. Una vez desaparecido completamente el carbón, retirar la cápsula de la mufla. La temperatura de la mufla, debe ser controlada para que la misma no supere los 550° C.

Llevar la cápsula a desecador, para su enfriamiento. Pesar en balanza de precisión y registrar peso de cápsula con cenizas (P2).

Cálculo de resultados:

$$\text{Cenizas del vino (g L}^{-1}\text{)} = (P2 - P1) \times 1000 / 20$$

P1: Tara de cápsula (g)

P2: Peso de la cápsula con ceniza (g)

11. ANHIDRO SULFUROSO, LIBRE, TOTAL Y MOLECULAR (SO₂)

El anhídrido sulfuroso (SO₂) se ha usado en enología desde hace mucho tiempo, por su poder antiséptico y antioxidante. Adicionado a los mostos y vinos, una fracción se combina parcialmente con el acetaldehído, los azúcares, los polifenoles y otras sustancias. Esta fracción se considera como combinada o fijada, la cual no tiene efecto inhibitorio sobre la mayoría de las levaduras y bacterias del ácido acético. La relación de equilibrio entre el anhídrido sulfuroso combinado y el libre, es de carácter dinámico, siendo afectada por la acidez y la temperatura. A menor pH (mayor acidez), hay mayor contenido de SO₂ libre, debido a que la adición con otros compuestos es menor. Lo mismo ocurre con la temperatura que afecta al equilibrio de manera similar. Dentro de la fracción que queda libre, la forma molecular no disociada (SO₃H₂) es el agente microbiano más importante

La legislación argentina fija límites máximos para el contenido de anhídrido sulfuroso total, para la libre circulación del vino (tabla 5).

Tabla 5: Límites legales para el contenido de anhídrido sulfuroso total

Tipos de vinos	SO ₂ total permitido*
Vinos tintos secos	130 mg L ⁻¹
Vinos tintos abocados y dulces	180 mg L ⁻¹
Vinos blancos secos	180 mg L ⁻¹
Vinos blancos abocados y dulces	210 mg L ⁻¹

*Existe una tolerancia para estos valores de 35 mg L⁻¹ en más o en menos, debido a la precisión de los métodos de análisis.

El anhídrido sulfuroso denominado molecular o libre activo, es la fracción del SO₂ libre que presenta acción antiséptica. El contenido de SO₂ molecular varía considerablemente con el pH del vino como se observa en la figura 9 (Zoecklein *et al.*, 2001). Si se desea realizar fermentación maloláctica, se mantendrá el mosto con una concentración de 0,5 ppm (mg L⁻¹) de SO₂ molecular. Este contenido permite el desarrollo de bacterias lácticas. En la conservación del vino, el contenido de SO₂ molecular deseado será de 0,8 ppm.

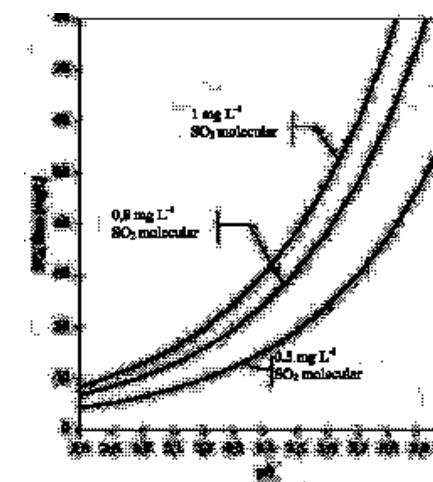


Figura 9: Cantidades de SO₂ libre necesarias para obtener 0,5 - 0,8 mg L⁻¹ de H₂SO₃, según el pH (Zoecklein *et al.*, 2001)

Con el valor de SO₂ libre determinado analíticamente, y el pH medido, se puede calcular el valor de SO₂ molecular utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{SO}_2 \text{ molecular (mg L}^{-1}\text{)} = \text{SO}_2 \text{ libre (mg L}^{-1}\text{)} \times [10^{(1,77 - \text{pH})}]$$

Esta fórmula también nos permite calcular los valores de SO₂ libre que necesita una muestra para obtener valores fijados de SO₂ molecular. No obstante para corregir el SO₂, debe tenerse en cuenta que en el vino, se combina aproximadamente un 50% en cada agregado. Es decir si se necesitan 20 mg L⁻¹ de SO₂ libre, será necesario agregar aproximadamente 40 mg L⁻¹ de SO₂.

Los distintos métodos de dosaje están basados en la oxidación del SO₂ libre, por acción del yodo (I₂) en medio ácido mineral, donde la reacción es cuantitativa.



Materiales:

- Pipeta doble aforo de 50 mL
- Pipeta doble aforo de 25 mL
- Pipeta graduada de 5 mL
- Erlenmeyer 250 mL
- Bureta 25 mL, color caramelo
- Luz filtrada por una solución de cromato de potasio (solución saturada)
- Peachímetro
- Reactivos:
 - a) Ácido sulfúrico 1:3
 - b) Solución de yodo N/50
 - c) Solución de hidróxido de potasio (HOK), 1 N
 - d) Engrudo de almidón 1 - 2%

Métodos:

Método Rippert para vinos blancos (Rippert, 1892):

Anhídrido sulfuroso libre:

Medir 50 mL de vino con pipeta de doble aforo y colocarlos en un erlenmeyer de 250 mL. El extremo de la pipeta debe encontrarse muy cerca del fondo, para evitar pérdidas del gas. Agregar 5 mL de SO₄ H₂ 1:3 y 3 mL de engrudo de almidón al 2%. Titular con yodo N/50. El punto final de la titulación se verifica cuando el líquido tiene color azul persistente. Registrar los mL utilizados de solución N/50 de yodo (V1).

Anhídrido Sulfuroso Total:

Colocar en un erlenmeyer, 25 mL de solución de KOH aproximadamente normal, y a continuación 50 mL de vino, cuidando que el extremo de la pipeta esté pescando en la solución alcalina. Dejar actuar el KOH sobre el vino durante 15 minutos, tiempo en el

cual el SO₂ combinado será liberado de sus combinaciones. Agregar 10 mL de SO₄H₂ 1:3 y 3 mL de engrudo de almidón al 2%. Titular con yodo N/50. El punto final de la titulación se verifica cuando el líquido tiene color azul persistente. Registrar los mL utilizados de solución N/50 de yodo (V2).

Método Benvegnin y Capt para vinos tintos:

La coloración propia de los vinos tintos dificulta la observación del viraje al azul del almidón. Por eso Benvegnin y Capt (Benvegnin y Capt, 1931), introdujeron una variante al método de Rippert, utilizando un haz de luz filtrada por una solución de cromato de potasio de color amarillo, para observar el punto final. En estas condiciones, el color rojo brillante inicial, cambia a un rojo opaco ceniciento, que impide el paso de la luz.

Otra posibilidad para ver mejor el punto final de la titulación en vinos tintos es trabajar con 25 mL ó 5 mL de vino y las mismas cantidades de ácido sulfúrico y almidón. Como también puede reducirse a la mitad la concentración de yodo con que se titula.

Cálculo de los resultados:

Teniendo en cuenta que 1 mL de solución de yodo N/50 reacciona con 0,64 mg de SO₂

a) *Anhídrido sulfuroso libre:*

$$\text{SO}_2 \text{ Libre (mg L}^{-1}\text{)} = V1 \text{ (mL)} \times 0,64 \times 1000/50$$

$$\text{SO}_2 \text{ Libre (mg L}^{-1}\text{)} = V1 \text{ (mL)} \times 12,8$$

V1: mL de yodo N/50, gastados en titulación

b) *Anhídrido sulfuroso total:*

$$\text{SO}_2 \text{ Total (mg L}^{-1}\text{)} = V2 \text{ (mL)} \times 12,8$$

V2: mL de yodo N/50, gastados en titulación previo agregado de HOK

Preparación de soluciones:

Solución de ácido sulfúrico (SO₄H₂) 1:3 :

En un matraz de 1000 mL, colocar 400 mL de agua. Agregar con precaución y lentamente 300 mL de ácido sulfúrico p.a. al 98%, agitando bajo lluvia de agua debido a su reacción fuertemente exotérmica y para evitar proyecciones. Dejar enfriar y llevar a 1000 mL con agua destilada. Siempre agregar primero el agua y luego el ácido sin alterar este orden, para evitar proyecciones del líquido.

Solución de iodo (I) N/50:

Pesar 7 g de yoduro de potasio (IK). Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada con ayuda de una varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Pesar en balanza analítica 2,538 g de iodo (peso equivalente, 126,92 g), que equivalen a 1/50 equivalentes ó 0,02 N. Trasvasar en forma cuantitativa rápidamente a matraz aforado de 1000 mL, con los 100 mL de la solución de yoduro de potasio (IK) preparada anteriormente. Llevar a volumen el matraz de 1000 mL con agua destilada.

Advertencia: esta solución debe conservarse en envases de vidrio color caramelo con tapa de vidrio. La normalidad de esta solución debe controlarse frecuentemente, mediante la titulación con una solución de trióxido de arsénico (As₂O₃).

Solución de hidróxido de potasio (HOK), 1 N

Pesar 56,10 g de HOK en balanza analítica (peso equivalente del HOK). Trasvasar esta droga en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 1000 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Esta solución debe valorarse de la siguiente manera: colocar en erlenmeyer 25 mL de ácido clorhídrico 1N (ClH 1N), medidos en pipeta de doble aforo. Agregar 50 mL de agua destilada libre de dióxido de carbono y dos gotas de fenoftaleína. Titular con la solución de HOK anteriormente preparada, hasta producción de color rosado permanente. Calcular la normalidad de esta solución y el factor de corrección de la misma.

Precauciones en la manipulación:

Ácido sulfúrico (SO₄H₂): es corrosivo, produce quemaduras severas. De producirse contacto lavar inmediatamente con agua. En caso de salpicaduras, quítese lo antes posible la ropa manchada y acuda a un médico. Ante un derrame no usar agua.

12. ÁCIDOS ORGÁNICOS POR CROMATOGRAFÍA DE PAPEL

Las propiedades ácidas de los vinos son el resultado de los ácidos orgánicos que contienen. Estos son elementos constitutivos esenciales de los vinos e influyen en su calidad, y eventualmente en sus defectos. De su naturaleza y concentración dependen los equilibrios ácido/base de los vinos, y por consiguiente su gusto ácido.

Los ácidos orgánicos que se han identificado en la uva son: tartárico, málico, cítrico, glucurónico, ascórbico, oxálico, glucólico, fumárico, shiquímico. En uvas alteradas por podredumbres pueden aparecer además los ácidos múlico, glucónico, ceto-2-glucónico y diceto-2-5-glucónico. No todos estos ácidos se encuentran presentes en el vino, algunos desaparecen durante la vinificación y otros aparecen procedentes de la fermentación, como succínico, láctico, citramálico y dimetil-glicérico.

El ácido tartárico (figura 10) es el más abundante en la uva y el vino; se encuentra siempre como isómero D. A excepción de la vid, es poco frecuente en la naturaleza. En el vino es el ácido más fuerte y más dissociado, es decir el que aumenta más la concentración de iones hidrógeno. El pH del vino depende entonces, en gran parte, de su contenido en ácido tartárico. De los tres ácidos principales (tartárico, málico y cítrico) es el más resistente a la descomposición bacteriana. Su concentración disminuye por la precipitación de bitartrato de potasio al aumentar el alcohol en la fermentación, y también por la acción del frío. También precipita como tartrato neutro de calcio, aunque este proceso es más lento. Su agregado a la vendimia y al mosto está permitido y resulta útil cuando la acidez de la uva es demasiado débil. En concentraciones demasiado elevadas le confiere al vino dureza, además de cierta astringencia.

El ácido málico (figura 10) natural es el isómero de la serie L, es un ácido orgánico que abunda en el reino vegetal y es el principal en muchas frutas. Durante la maduración de la uva su concentración disminuye por respiración celular. Por esto su determinación puede ser importante para establecer el grado de madurez. Su concentración es más alta en uvas de zonas frías. Su contenido influye en la calidad del vino y cuando está presente en alta concentración contribuye al sabor herbáceo. La fermentación maloláctica hace disminuir progresivamente el tenor de ácido málico, llevándolo hasta casi cero en los vinos tintos. La desacidificación resultante de la fermentación maloláctica, torna a los vinos jóvenes más suaves.

ÁCIDO TARTÁRICO	ÁCIDO MÁLICO	ÁCIDO LÁCTICO
COOH	COOH	COOH
CHOH	CH ₂	HO CH
CHOH	CHOH	CH ₃
COOH	COOH	
 Peso molecular: 150,09 g Peso meq: 75,04 mg	 Peso molecular: 134,09 g Peso meq: 67,04 mg	 Peso molecular: 90,06 g Peso meq: 90,06 mg

Figura 10: Fórmulas, peso moleculares y miliequivalentes químicos de los ácidos tartárico, málico y láctico

La cromatografía sobre papel, es un método de evaluación cualitativa de estos ácidos. Es de mucha utilidad cuando se trata de reconocer si la fermentación maloláctica de un vino está terminada o no. El procedimiento es simple y permite varias determinaciones en serie. Se fundamenta en la capacidad que tiene un solvente determinado en separar los ácidos, de una muestra de vino, sobre un papel especial. Se pueden separar tres grupos de ácidos: a) tartárico, b) málico y c) láctico mas succínico. Usando soluciones testigos es posible identificar a cada uno de estos ácidos en función de la posición de la mancha sobre el papel.

Materiales:

- Papel para cromatografía Whatman N1 (figura 12)
- Pipeta de 0,1 mL de punta curva (figura 11)
- Cubeta cromatográfica herméticamente cerrada (figura 12)
- Secador de cabellos
- Reactivos:
 - a) Solvente revelador para cromatografía en papel
 - c) Solución testigo de ácido tartárico
 - d) Solución testigo de ácido málico



Figura 11: pipetas de 0,1 mL de punta curva para la siembra

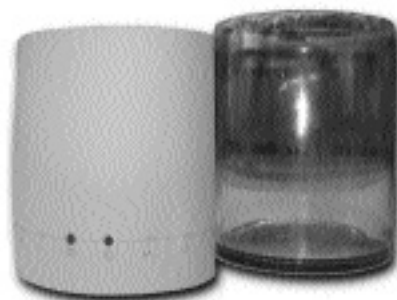


Figura 12: Papel de cromatografía y cubeta cromatográfica con solvente

Método:

Cortar el papel para cromatografía Whatman N° 1 en forma de rectángulo (18 x 20 cm). El ancho del papel cortado debe ser inferior a la altura de la cámara cromatográfica, y la longitud 10 cm inferior aproximadamente a la circunferencia de la misma. Marcar una línea con lápiz de grafito (no usar tinta) a 4 - 5 cm del borde inferior del papel. Esta línea servirá para depositar las gotas de vino y las de las soluciones testigo, separadas aproximadamente entre sí unos 3 cm. Depositar en cada punto el mismo volumen de líquido de vino, como también de cada solución testigo (0,01-0,03 mL), con pipeta de punta curva. Secar rápidamente esta mancha con aire frío, proveniente de un secador de cabello (figura 13).

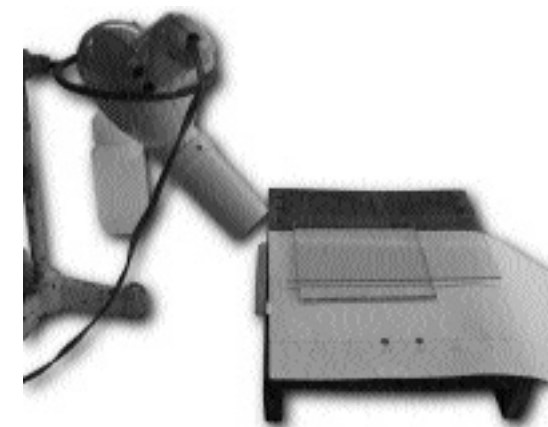


Figura 13: Papel de cromatografía con siembras de vino y testigos, secándose con aire frío

Colocar solvente revelador en el recipiente o cubeta cromatográfica, tal que permita humedecer el borde inferior del papel. Enrollar el papel en forma de cilindro, abrochar y colocar en la cubeta pescando sobre el solvente, con la precaución que los bordes del papel no estén en contacto entre sí. Cerrar la cubeta para que el líquido ascienda por capilaridad. Esperar 3 ó 4 horas, hasta que el solvente haya llegado a 2 - 3 cm del borde superior (figura 14).



Figura 14: Cubeta cromatográfica cerrada, con solvente y papel

Retirar el papel de la cubeta y secar el papel en ambiente aireado y seco, al abrigo de vapores ácidos (una campana de vidrio con extractor de aire puede ser de gran utilidad). Esperar tres o cuatro horas, hasta que el papel pase del amarillo al verde; después al azul, apareciendo manchas amarillas sobre el fondo azul. Estas manchas corresponden a los ácidos orgánicos. Una vez seco, se interpretan los resultados observando la posición de las manchas amarillas sobre el fondo azul (figura 15 y 16). La identificación de los ácidos se hace por comparación con las manchas de los testigos de los ácidos tartárico, málico, láctico. La sensibilidad del método para el ácido málico es aproximadamente 100 mg L⁻¹.

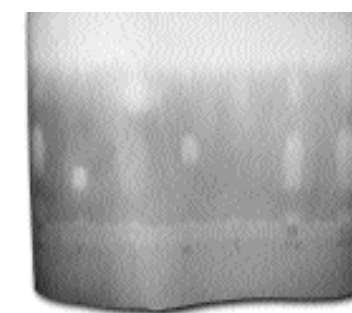


Figura 15: Foto de papel de cromatografía en vinos y soluciones testigo de ácido tartárico (T), láctico (L), málico (M), succínico (S).

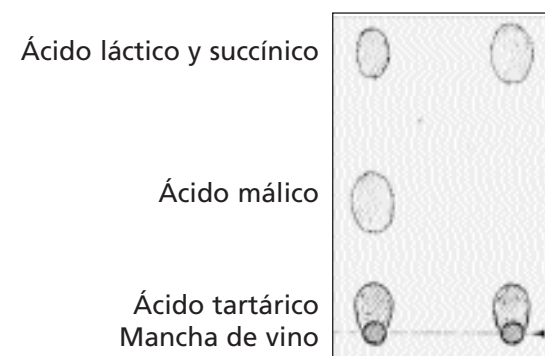


Figura 16: Esquema de separación de los ácidos del vino por cromatografía de papel. A la izquierda se observa un vino sin fermentación maloláctica y a la derecha con fermentación maloláctica.

Interpretación de los resultados:

En el papel para cromatografía los ácidos se separan netamente en el siguiente orden: en la parte inferior el ácido tartárico (cerca de la mancha inicial), luego aproximadamente en la parte media el ácido málico y en la parte superior el ácido láctico y succínico unidos (figura 15 y 16). Esta técnica es cualitativa y muy útil para hacer seguimiento de la fermentación maloláctica.

Preparación de soluciones:

Solvente revelador:

Preparar butanol al azul de bromofenol. Para esto disolver 0,5 g de azul de bromofenol p.a. en 500 mL de alcohol butílico normal.

Preparar ácido acético al 50%, para lo cual se mezcla 250 mL de ácido acético para análisis con 250 mL de agua destilada.

Mezclar en la cuba cromatográfica 40 mL de butanol al azul de bromofenol y 20 mL de ácido acético al 50%.

Solución testigo de ácido tartárico:

Pesar 300 mg de ácido tartárico. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 250 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Solución testigo de ácido málico:

Pesar 300 mg de ácido málico. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y agregar 38 mL de alcohol 95% v/v. Agitar con varilla de vidrio para permitir la disolución. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 250 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Solución testigo de ácido láctico:

Medir 2 mL de ácido láctico. Agregarlo a un matraz aforado de 100 mL. Llevar a volumen y enrasar el matraz con agua destilada.

Precauciones en la manipulación:

Ácido acético: es corrosivo e inflamable. No respirar el vapor, provoca quemaduras graves. En caso de producirse contacto con los ojos, enjuagar con abundante agua.

13. TANINOS CONDENSADOS O PROANTOCIANIDINAS

Para la determinación de proantocianidinas o taninos condensados, se somete el vino a una hidrólisis ácida en caliente, en presencia de butanol y de una sal de hierro (Fe) como catalizador. El método es el propuesto por Porter (1986) basado en la reacción de Bate-Smith (1954). La hidrólisis transforma las proantocianidinas en antocianidinas (cianidina y delfinidina). Estas antocianidinas desarrolladas se miden por espectrofotometría de luz visible, previa deducción de las que ya poseía la muestra antes de la hidrólisis ácida. La medición de absorbancia óptica se realiza a una longitud de onda de 550 nm. A partir de esta lectura, mediante cálculos, se determina cantidad de taninos o proantocianidinas en mg L^{-1} vino. La escala patrón se realiza con una solución de distintas concentraciones de cianidina (Ojeda, 1999).

Materiales:

- Baño maría a ebullición
- Micropipetas automáticas de 100 μL a 1000 μL y 1000 a 5000 μL
- Espectrofotómetro de luz visible (Longitud de onda 550 nm)
- Cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Microtubos plásticos con tapa de 2 mL (tipo eppendorf)
- Tubos de vidrio con tapa a rosca
- Reactivos:
 - a) Solución de sulfato de hierro y amonio, en butanol acidificado con ácido clorhídrico
 - b) Butanol p.a.

Método:

Blanco:

En un tubo se agrega 400 μL de butanol y 3,6 mL de solución de sulfato de hierro y amonio, se tapa y agita. Con este blanco asignamos el cero al espectrofotómetro para este método.

Muestra:

Hacer una dilución del vino 1:10, con butanol, en un microtubo plástico con tapa (2 mL). Para hacer esta dilución se debe medir en micropipetas 100 μL de vino y 900 μL de butanol, luego tapar y agitar el tubo.

En dos tubos de vidrio con tapa a rosca, se colocan 400 μL de esta dilución con butanol y 3,6 mL solución de sulfato de hierro y amonio acidificada, se tapan y agitan. Uno de los tubos se lleva a baño maría en ebullición ($95 \pm 0.2^\circ \text{C}$) por 30 o 40 minutos para transformar las proantocianidinas, enfriándolo antes de la lectura en espectrofotómetro. Se saca el tubo y se enfría un instante en agua con hielo. Se realiza la lectura en espectrofotómetro inmediatamente. Es importante que la lectura no se prolongue más allá de unos pocos minutos después de haber sacado el microtubo del baño hirviendo ya que las antocianidinas generadas son muy inestables y se oxidan rápidamente. Luego de enfriados y mientras se realizan las lecturas, los tubos que están a la espera, cuando se hacen una tanda de varias muestras, deben cubrirse con papel aluminio para evitar la foto-oxidación.

El otro tubo no se lleva a ebullición sino se lee directamente con espectrofotómetro.

Cada tubo (el que ha sido sometido a hidrólisis caliente y el que no) se vuelca en una cubeta del espectrofotómetro VIS (1 cm de paso óptico). Se hace la lectura y registro de la absorbancia a una longitud de onda de 550 nm llevando a cero con el blanco preparado anteriormente.

Nota: Cuando se analiza más de una muestra, se realiza primero una tanda de lecturas con los tubos que no van a ebullición. Cuando los tubos que van a ebullición han terminado se leen en una segunda tanda.

Cálculo de los resultados:

$$\text{Lectura DO}_{547} = L2 - L1$$

L1: lectura inicial DO 547 nm con vino sin baño maría

L2: lectura final DO 547 nm con vino con baño maría

La concentración de taninos se calcula en mg L⁻¹ de la solución evaluada en cubeta a partir de la última curva de calibración. La misma se realiza registrando las distintas DO a 547 nm obtenidas por diferentes concentraciones de cianidina (Ojeda, 1999). En la última curva de calibración realizada en el Laboratorio de Viticultura, se determinó la siguiente ecuación:

$$\text{Taninos (mg L}^{-1}\text{ vino)} = [\text{Lectura DO}_{547} \times 441] \times \text{Dilución (10)}$$

Preparación de soluciones:

Solución de sulfato de hierro y amonio acidificada con CIH:

Pesar 181 mg de Sulfato de hierro y amonio dodecahidratado (SO₄)₂NH₄Fe + 12 H₂O, conservado en heladera. Trasvasar en forma cuantitativa la droga pesada a un matraz de 200 mL. Agregar a matraz un pequeño volumen de butanol p.a., para disolución del sólido. Agregar 20 mL de ácido clorhídrico 37%. Llevar a volumen y enrasar el matraz con butanol p.a. En caso de preparar otro volumen de solución, utilizar tabla 6.

Tabla 6: Cantidades a agregar para preparación de solución de sulfato de hierro y amonio acidificada

Volumen matraz (mL)	(SO ₄) ₂ NH ₄ Fe + 12 H ₂ O (g)	CIH 37% (mL)
50	0,0453	5
100	0,0905	10
250	0,2262	25
500	0,4530	50

Precauciones en la manipulación:

Butanol: trabajar con cuidado bajo campana, es nocivo para la salud.

14. CATEQUINAS O FLAVAN-3-OLES

La determinación de catequinas se basa en la utilización del método colorimétrico rápido utilizando p-dimetilamino cinamaldehido (DMCA) en condiciones de fuerte acidez (Murrough and Dowell, 1978; Ojeda, 1999). Es importante tener en cuenta que este método no se ve interferido por el contenido de azúcar (Zironi *et al.*, 1992). Los resultados obtenidos con este método con respecto al de sulphuric vanillin son muy similares, siendo las diferencias no significativas, según el trabajo citado anteriormente. La reacción no es específica para las catequinas, pues otros fenoles como los 3-flavanoles oligómeros y los antocianos pueden interferir en la reacción. El método, sobre todo en vinos tintos, no puede ser considerado como específico de catequinas sino tan sólo como un índice de control de su contenido. La reacción obtenida con este reactivo es muy rápida desarrollando una coloración azulada, la cual es cuantificada mediante el uso de un espectrofotómetro de luz visible a una longitud de onda de 640 nm. Este aparato debe ser calibrado con una solución patrón de (+)-catequina a distintas concentraciones.

Materiales:

- Espectrofotómetro de luz visible (Longitud de onda 640 nm)
- Cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Tubos de ensayo de 5 mL
- Micropipeta de 10 a 100 µL
- Micropipeta de 100 a 1000 µL
- Micropipeta de 1000 a 5000 µL
- Reactivos:
 - a) DMCA, Dimetilamino cinamaldehido
 - b) Metanol absoluto p.a.
 - d) CIH concentrado (37% ó 12N).

Método:

Blanco:

En un tubo se agrega 600 µL de metanol y 3 mL de la solución de DMCA. Con este blanco asignamos el cero al espectrofotómetro para este método.

Muestra:

Se diluye el vino a una dilución 1:50 con metanol en un tubo plástico con tapa a rosca para poder homogeneizar. Dicha dilución se realiza con el uso de micropipetas automáticas para medir los 50 µL de vino y 2450 µL de metanol.

Posteriormente en otro tubo, se debe agregar 600 µL de vino diluido con metanol, luego 3 mL de DMCA, tapar y homogeneizar. A partir del momento del agregado de la solución de DMCA, se deja reposar 10 minutos para desarrollo del color de la reacción.

Leer en espectrofotómetro de luz visible a 640 nm, llevando el aparato a cero con el blanco.

Cálculo de resultados:

La concentración de catequinas, se calcula en mg L⁻¹ de la solución evaluada en cubeta (vino+metanol), a partir de una curva de calibración. La misma se obtiene registrando las distintas DO a 640 nm producidas por concentraciones crecientes de (+)-catequina en una solución de 10% metanol.

Obtención de curva calibración:

Se preparan soluciones estándares de (+)-catequinas, de 1 mg L⁻¹; 5 mg L⁻¹; 10 mg L⁻¹; 15 mg L⁻¹; 20 mg L⁻¹; 25 mg L⁻¹; 30 mg L⁻¹; en 10% v/v de etanol.

En un tubo de ensayo se agrega 600 µL de cada estándar preparado, luego 3 mL de DM-CA, tapar y homogeneizar. A partir del momento del agregado de la solución de DM-CA, se deja reposar 5 minutos para desarrollo del color de la reacción.

Leer en espectrofotómetro de luz visible a 640 nm, llevando el aparato a cero con el blanco de reactivo preparado a partir de 600 µL de metanol y 3 mL de la solución DM-CA. La lectura en cada concentración de (+)-catequinas debe ser registrada como figura en tabla 7 y graficada (figura 17) para la obtención de la curva de calibración en el rango de las concentraciones a cuantificar.

Tabla 7: Ejemplo de lecturas de DO₆₄₀ a distintas concentraciones de catequinas para la obtención de una curva de calibración

Concentración (+)-catequina mg L ⁻¹	Lectura de DO ₆₄₀
1	0,11
5	0,27
10	0,46
15	0,66
20	0,85
25	1,04
30	1,24

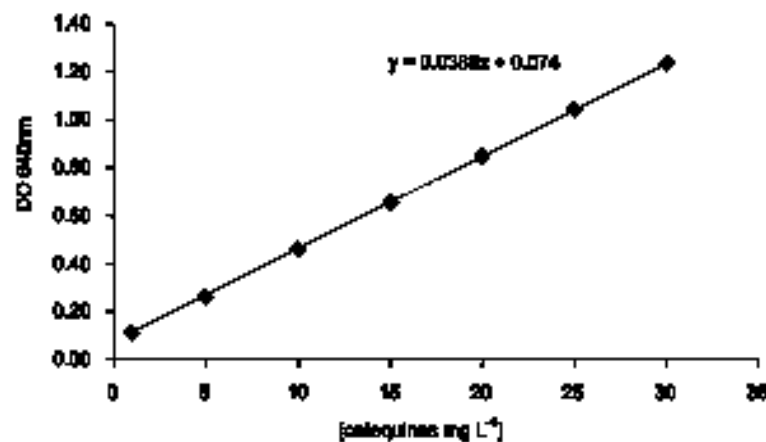


Figura 17: Gráfico de curva calibración con soluciones de (+)- catequinas

Si la ecuación es $DO_{640} = a + [b \times (\text{catequina mg L}^{-1})]$

$$DO_{640} = 0,074 + [0,0388 \times (\text{catequina mg L}^{-1})]$$

a: 0,074
b: 0,0388

Entonces $\text{Catequinas mg L}^{-1} = \frac{(DO_{640} - a)}{b}$

$$\text{Catequinas mg L}^{-1} (\text{sol. vino + metanol}) = \frac{(DO_{640} - a)}{b}$$

Teniendo en cuenta las diluciones, podemos determinar las catequinas en mg L⁻¹ vino, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Catequinas (mg L}^{-1} \text{ vino)} = \frac{[DO_{640} - a]}{b} \times \text{Dilución (50)}$$

Preparación de soluciones:

Solución de DMCA (dimetilamino cinamaldehido)

Pesar 0,1 g de DMCA en balanza de precisión. Transvasar esta droga pesada a un matraz de 100 mL en forma cuantitativa. Agregar 10 mL de CIH concentrado (12N o al 37%). Llevar a volumen y enrasar con metanol absoluto p.a. Para preparar otros volúmenes, usar valores de tabla 8.

Tabla 8: Cantidades a agregar para preparación de solución de DMCA

Volumen a preparar (mL)	DMCA (g)	Volumen CIH 37% (mL)
25	0,025	2,5
50	0,050	5,0
250	0,250	25,0

Precauciones en la manipulación:

Ácido clorhídrico (CIH): debe trabajarse bajo campana debido a su alta tensión de vapor y evitar contacto con la piel ya que es sumamente corrosivo.

Dimetilamino cinamaldehido (DMCA): es irritante para piel y ojos, por lo tanto debe trabajarse con cuidado.

Metanol: es tóxico tanto su inhalación como su ingestión y muy inflamable. Debe trabajarse bajo campana, con guantes y barbijo.

15. ANTOCIANOS TOTALES

Para la determinación de antocianinas totales se utiliza el método de blanqueo con bisulfito de sodio (SO₃HNa) por acción del dióxido de azufre (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965).

Los cambios de pH producen grandes cambios en el color de los pigmentos antociánicos. De modo similar, las adiciones de dióxido de azufre (SO₂) producen decoloración de los pigmentos monoméricos, mientras que los pigmentos poliméricos son resistentes a la decoloración por acción del SO₂. Al pH del vino, la diferencia entre los valores de absorbancia correspondientes al vino no tratado con SO₂ y al vino decolorado por SO₂, provee una medida del contenido de antocianos coloreados (forma flavilium). Cuanto mayor es la diferencia de color, mayor es la concentración de antocianos. En esta determinación, el vino se lleva a un medio fuertemente ácido para que los antocianos se manifiesten en su forma coloreada. Con el agregado del bisulfito de sodio se blanquean los antocianos no polimerizados, los que luego son estimados, deduciéndolos de la medición de color rojo de una la muestra no sometida a blanqueo.

Materiales:

- Portafiltro plástico con membrana de porosidad 0,45 µm (diámetro 2,5 cm)
- Micropipetas automáticas (200 µL, 1000 µL y 5000 µL de volumen máximo)
- Tubos de ensayo con tapa de 5 mL
- Cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico, para espectrofotómetro
- Espectrofotómetro de luz visible (Longitud de onda para lectura: 520 nm)
- Reactivos:
 - a) Solución de CIH 0,1% en etanol
 - b) Solución de CIH 2% en agua
 - c) Sulfito ácido de sodio o bisulfito de sodio 15% (SO₃HNa)

Método:

Blanco:

Asignamos el cero del espectrofotómetro con agua destilada para este método.

Muestra:

Filtrar 1 ó 2 mL de vino, con filtro plástico con membrana de porosidad 0,45 µm. Tomar 200 µL de vino filtrado y colocarlo en un tubo de ensayo. Agregar 200 µL de CIH 0,1% en etanol y 4 mL de CIH 2% en agua. Tapar y homogeneizar el contenido. A partir de esta dilución se realizan dos reacciones distintas: una con blanqueo con bisulfito de sodio (SO₃HNa) y otra sin la presencia de este reactivo, con el número de repeticiones definido por cada laboratorio de análisis.

Tomar dos tubos de ensayo de 5 mL. En uno de ellos (tubo A) agregar 2 mL de la dilución anterior del vino, agregar 800 µL de solución de bisulfito de sodio al 15%, homo-

geneizar y dejar reposar 20 minutos. Leer en espectrofotómetro a 520 nm de longitud de onda. En el otro tubo (tubo B), agregar 2 mL de la dilución y 800 µL de agua destilada (reemplazando el bisulfito de sodio), homogeneizar y leer en espectrofotómetro a la misma longitud de onda. El aparato se lleva a cero con el blanco de este método.

Cálculo de resultado:

$$\text{Antocianos (mg L}^{-1}\text{ vino)} = [\text{Lectura TuboA} - \text{Lectura TuboB}] \times 875$$

Preparación de soluciones:

Solución de CIH 0,1% en etanol:

Medir 0,057 mL de CLH comercial 37% con micropipeta automática, agregarlo en un matraz aforado de 25 mL. Enrasar el matraz con etanol absoluto p.a., tapar y homogeneizar.

Nota: Para preparar esta solución, se debe tener en cuenta la densidad del ácido CIH (1,18 g mL⁻¹) y la pureza del mismo (37%). Es decir para preparar 25 mL de esta solución al 0,1% (en un matraz), se debe agregar 0,025 g de ácido clorhídrico puro, teniendo en cuenta su pureza y densidad esto corresponde a 0,057 mL de CIH comercial 37% (ó 0,0675 g).

Para preparar otros volúmenes de esta solución utilizar tabla 9.

Tabla 9: Cantidades a agregar para preparar otros volúmenes de CIH 0,1%

Volumen a preparar (matraz) (mL)	Volumen a agregar de CIH 37% (mL)
25	0,057
50	0,115
200	0,458

Solución de CIH 2% en agua:

Medir 1,145 mL de CLH comercial 37% con micropipeta automática, agregarlo en un matraz aforado de 25 mL. Enrasar el matraz con agua destilada, tapar y homogeneizar. Para preparar otros volúmenes de esta solución utilizar tabla 10.

Tabla 10: Cantidades a agregar para preparar otros volúmenes de CIH 2%

Volumen a preparar (matraz) (mL)	Volumen a agregar de CIH 37% (mL)
25	1,145
50	2,290
200	9,162

Solución de Bisulfito de sodio 15% (SO₃HNa)

Pesar 15 g de bisulfito de sodio. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada. Para preparar otros volúmenes de esta solución utilizar tabla 11.

Tabla 11: Cantidades a agregar para preparar otros volúmenes de SO₃HNa al 15%

Volúmen a preparar (matraz) (mL)	Bisulfito de sodio a agregar (g)
25	3,75
50	7,50
200	30,00

Precauciones en la manipulación:

Ácido clorhídrico (ClH): debe trabajarse bajo campana debido a su alta tensión de vapor y evitar contacto con la piel ya que es sumamente corrosivo.

Bisulfito de sodio (SO₃HNa): es irritante para piel y ojos. Debe conservarse en lugares fríos. Desprende gases tóxicos, sobre todo en contacto con ácidos.

16. ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES O INDICE FENÓLICO

La técnica se basa en la actividad óptica específica del anillo fenólico, en el sector ultravioleta del espectro, en extracto de los hollejos. Los polifenoles totales se estiman como índice de polifenoles totales (IPT) a través de la medición espectrofotométrica a una longitud de onda de 280 nm (Zoecklein *et al.*, 1995; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

Se considera que los vinos jóvenes con valores de este índice o IPT, menores a 30 unidades de absorbancia (u.a.) tienen poca capacidad de envejecimiento (Zoecklein *et al.*, 1995). Los vinos tintos con suficiente concentración fenólica para permitir su envejecimiento, suelen tener valores mayores de 40 u.a. y los vinos tintos Premium jóvenes entre 45 y 65 u.a. (Zoecklein *et al.*, 1995). Durante el primer año, la disminución normal de la absorbancia a 280 nm es del 10 al 20%.

Materiales:

- Micropipetas automáticas (de 10 - 100 µL)
- Matraz 5 mL (puede ser remplazado con el uso de micropipeta)
- Cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Portafiltro plástico con membrana de porosidad 0,45 µm (diámetro 2,5 cm)
- Espectrofotómetro que opere en luz UV, las lecturas se realizarán a 280 nm de longitud de onda

Método:

Encender el espectrofotómetro UV-VIS, a 280 nm, 30 minutos antes de la lectura para estabilizar la lámpara de deuterio (D2).

Blanco:

Asignamos el cero del espectrofotómetro con agua destilada para este método.

Muestra:

Filtrar 1 ó 2 mL de vino, con filtro plástico con membrana de celulosa de porosidad 0,45 µm. Diluir 1:100, para lo cual se deben medir 50 µL de vino filtrado en micropipeta automática y colocarlo en un matraz de 5 mL, enrasar el mismo con agua destilada. Colocar el vino diluido en cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico y leer en espectrofotómetro a una longitud de onda de 280 nm. Utilizar para el blanco lectura de otra cubeta con agua destilada.

El aparato se lleva a cero con el blanco de este método.

Cálculo de resultado:

$$IPT = [(DO_{280} - 4) \cdot Dilución] \cdot 100$$

17. POLIFENOLES TOTALES POR FOLIN-CIOCALTEU

Los compuestos fenólicos del vino son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfo-túngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y el ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) que se reduce por oxidación de los fenoles del vino, originando óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}) de color azul (Ough y Amerine, 1988; OIV, 1990). La coloración azul producida es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes en el vino, y posee una absorción máxima a 765 nm. Es importante tener en cuenta que este método tiene interferencia por el contenido de azúcar en mostos o vinos.

Los valores más habituales del índice Folin-Ciocalteu para vino blanco son 3 a 5, para rosados 5 a 10 y para tintos de 20 a 50. Para expresar los fenoles totales en $mg L^{-1}$ de ácido gálico debe construirse una curva de calibración empleando concentraciones crecientes de ácido gálico. A partir de la ecuación de regresión obtenida se calcula la concentración a partir de la densidad óptica a 765 nm.

Materiales:

- Matraz 100 mL
- Cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Pipetas aforadas de 1 mL, 5 mL, 20 mL y 50 mL
- Espectrofotómetro de luz visible (Longitud de onda para lectura: 765 nm)
- Reactivos:
 - a) Reactivo Folin Ciocalteu
 - b) Solución de carbonato de sodio al 20%

Método:

Blanco:

Asignamos el cero del espectrofotómetro con agua destilada para este método.

Muestra:

Vino blanco:

En un matraz aforado de 100 mL, se introducen respetando el siguiente orden: 1 mL de vino, 50 mL de agua destilada, 5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 20 mL de la solución de carbonato de sodio (20%), todos medidos con pipetas aforadas. Luego se enrasa el matraz a 100 mL con agua destilada. Se agita para homogeneizar y se espera 30 minutos para estabilizar la reacción. Transcurrido el tiempo indicado, colocar esta solución en una cubeta de vidrio de 1 cm de paso óptico. Realizar lectura a 765 nm de longitud de onda, frente al blanco con agua destilada.

Vino tinto:

El vino tinto se diluye 1:5 en forma previa a la marcha. Con la dilución se procede de igual modo que en vino blanco.

Cálculo de resultado:

Índice de Folin-Ciocalteu = $[DO_{765} \times 20]$
para vino blanco

Índice de Folin-Ciocalteu = $[DO_{765} \times 100]$
para vino tinto

Preparación de soluciones:

Reactivo de Folin-Ciocalteu:

Pesar 100 g de tungstato de sodio y 25 g de molibdato de sodio. Disolverlos en 700 mL de agua destilada, agregar 50 mL de ácido fosfórico (85%, densidad = $1,71 g mL^{-1}$), 100 mL de ácido ClH concentrado (densidad = $1,19 g mL^{-1}$). Poner a ebullición sobre reflujo durante 10 horas, agregar 150 g de sulfato de litio, algunas gotas de bromo y poner nuevamente en ebullición durante 15 minutos. Dejar enfriar y completar a 1 litro con agua destilada.

Esta solución, debida a la complejidad de su preparación, puede ser adquirida en los comercios del ramo.

Advertencia: esta solución sufre degradaciones por oxidación, por lo que es importante preparar o comprar cantidades que sean usadas durante periodos de tiempo relativamente cortos.

Solución de Carbonato de sodio (Na_2CO_3) 20%:

Pesar 20 g de Na_2CO_3 anhidro. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada agitando con varilla de vidrio. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

18. COMPONENTES DEL COLOR ROJO (POLIMÉRICO, COPIGMENTADO Y TOTAL)

En este método propuesto por Boulton (1996), se lleva el vino a pH 3,6 y se trata con acetaldehído para liberar antocianos unidos a anhídrido sulfuroso, con metabisulfito de sodio para decolorar los antocianos monoméricos y se diluye 1:20 con agua destilada para romper la copigmentación. Luego se determina las fracciones de color.

Materiales:

- Portafiltro plástico con membrana de porosidad 0,45 μm
- Micropipetas automáticas (de 20 μL a 200 μL; de 100 μL a 1000 μL; de 1000 μL a 5000 μL)
- Tubos plásticos (5 mL)
- Cubetas de vidrio de 1 cm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Cubetas de vidrio de 1 mm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Espectrofotómetro de luz visible (Longitud de onda 520 nm)
- Reactivos:
 - c) Acetaldehído al 10%
 - b) Solución de SO₂ al 5%, preparada con metabisulfito de sodio
 - e) Etanol absoluto
 - f) ClH, y NaOH, según necesidad para regular pH
 - g) Solución buffer 3,6

Método:

Blanco:

Asignamos el cero del espectrofotómetro utilizando agua destilada en remplazo de vino.

Muestra:

Filtrar 15 mL de vino, con filtro plástico con membrana de 0,45 μm de poro. Posteriormente ajustar el pH del vino a 3,6; mediante el uso de ClH o NaOH, según corresponda. A partir del vino regulado a pH 3,6, se realizan tres reacciones distintas en tres tubos diferentes, para determinar las distintas fracciones de color, las cuales se exponen a continuación:

a) Colocar 2000 μL de vino pH 3,6. Agregar 20 μL de solución de acetaldehído al 10%. Agitar y dejar reposar 45 minutos. Luego de este tiempo leer a 520 nm en espectrofotómetro con cubeta de 1 mm de paso óptico. Esta lectura la identificamos como A_{acet}, esta reacción se realiza el número de repeticiones establecidas por el laboratorio.

b) Colocar 100 μL de vino pH 3,6. Agregar 1900 μL de solución buffer 3,6. Agitar y después de unos minutos leer a 520 nm en espectrofotómetro, con cubeta de 1 cm de pa-

so óptico. Esta lectura la identificamos como A²⁰, esta reacción se realiza el número de repeticiones establecidas por el laboratorio.

c) Colocar 2000 μL de vino pH 3,6. Agregar 160 μL de solución de anhídrido sulfuroso al 5% (SO₂ 5%). Agitar y leer a 520 nm en espectrofotómetro con cubeta de 1 mm de paso óptico. Esta lectura la identificamos como A^{SO2}, esta reacción se realiza el número de repeticiones establecidas por el laboratorio.

Cálculo de resultados:

Las lecturas de las tres reacciones citadas en el punto anterior, deben ser corregidas por la dilución efectuada y el factor de la cubeta utilizada, identificado en tabla 12.

Tabla 12: Correcciones realizadas a cada lectura en espectrofotómetro

Lectura corregida	
A _{acet}	Absorbancia a 520 nm de A _{acet} x 1,01 (dilución) X 10 (factor cubeta)
A ²⁰	Absorbancia a 520 nm de A ²⁰ x 20 (dilución)
A ^{SO2}	Absorbancia a 520 nm de A ^{SO2} x 1,08 (dilución) X 10 (factor cubeta)

El color total y las distintas fracciones de color, se determinan usando las lecturas corregidas de las tres reacciones realizadas y las fórmulas expuestas a continuación:

Color rojo total: A_{acet} (lectura corregida)

% Color copigmentado (debido a antocianos copigmentados) = (A_{acet} - A²⁰) / A_{acet}

% Color libre (debido a antocianos libres) = (A²⁰ - A^{SO2}) / A_{acet}

% Color polimérico = A^{SO2} / A_{acet}

Preparación de soluciones:

Acetaldehído al 10%:

Medir con micropipeta 500 μL de acetaldehído y agregar a un matraz de 5 mL. Llevar a volumen con agua destilada, tapar y mezclar suavemente. Para preparar otros volúmenes de esta solución utilizar tabla 13.

Tabla 13: Cantidades a agregar para preparar otros volúmenes de acetaldehído al 10%

Volumen a preparar (matraz) (mL)	Volumen a agregar de Acetaldehído (mL)
10	1,0
25	2,5
50	5,0

Solución de SO₂ al 5%, preparada con metabisulfito de sodio (S₂O₅Na₂):

Pesar 10 g de metabisulfito de sodio, el cual se transfiere cuantitativamente a un matraz de 100 mL. Llevar a volumen con agua destilada, tapar y homogeneizar esta solución. Para preparar otros volúmenes de esta solución utilizar tabla 14.

Tabla 14: Cantidades a agregar para preparar otros volúmenes de SO₂ al 5%

Volumen a preparar (matraz) (mL)	metabisulfito de sodio (g)
25	2,5
50	5,0
200	20,0
250	25,0

Solución Buffer 3,6:

Pesar 0,25 g de bitartrato de potasio. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada tibia, agitando con varilla de vidrio o agitador magnético. Una vez disuelto agregar 12 mL de etanol p.a. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada. Medir el pH y corregirlo a 3,6 con agregado de ClH o NaOH.

Tabla 15: Cantidades a agregar para preparar otros volúmenes de buffer 3,6

Volumen a preparar (matraz) (mL)	Volumen de etanol p.a. (mL)	Bitartrato de potasio (g)
50	6	0,125
200	24	0,500
250	36	0,750

Precauciones en la manipulación:

Acetaldehído: Trabajar bajo campana y máscara debido a vapores nocivos para la salud. Debe ser guardado a temperaturas inferiores de 15° C.

Ácido clorhídrico (ClH): debe trabajarse bajo campana debido a su alta tensión de vapor y evitar contacto con la piel ya que es sumamente corrosivo.

Metabisulfito de sodio (S₂O₅Na₂): es irritante para piel y ojos. Debe conservarse en lugares fríos. Desprende gases tóxicos, sobre todo en contacto con ácidos.

19. INTENSIDAD COLORANTE Y MATIZ

Desde el punto de vista físico, el color de los vinos resulta de la absorción selectiva de ciertas radiaciones elementales que constituyen el espectro solar. La tabla 16, proporciona una correspondencia aproximada entre la longitud de onda de las radiaciones absorbidas y el color aparente.

Tabla 16: Correspondencia entre longitud de onda absorbida, color absorbido y color aparente

Longitud de onda	Color absorbido	Color aparente
400-435	Violeta	Amarillo verdoso
435-480	Azul	Amarillo
480-490	Verde azulado	Naranja
490-500	Azul verdoso	Rojo
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Amarillo verdoso	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-605	Naranja	Verde azulado
605-750	Rojo	Azul verdoso

Los vinos tintos jóvenes presentan un máximo de absorción a 520 nm responsables del color rojo definido, debido a los antocianos de la uva. Cuando el vino envejece, el máximo de 520 nm tiende a desaparecer. Esto se corresponde con un aumento de color amarillo (absorbancia a 420 nm) en relación con el rojo (absorbancia a 520 nm) que explica la evolución del color rojo definido, hacia un tinte rojo anaranjado. En los vinos blancos, la medida del color puede dar indicios sobre el estado de oxidación, un vino mas oxidado presenta una lectura mayor a 420 nm.

No se puede diluir el vino si se quiere medir su color, porque no hay proporcionalidad entre el coeficiente de dilución y la medición de la densidad óptica. En consecuencia las mediciones deben practicarse bajo un espesor suficientemente reducido; en el caso de los vinos tintos se ocupan cubetas de 1 mm de espesor o de paso óptico. En blancos pueden utilizarse cubetas de 1 cm de paso óptico. El vino a medir debe estar límpido, de ser necesario se centrifugará o mejor aún se filtrará con membrana de porosidad 0,45 µm.

El color del vino se debe a los pigmentos que contiene, pero no hay una proporcionalidad directa entre la cantidad de pigmentos y el color, intervienen otros factores físicos químicos como el pH, el potencial oxido reducción, el SO₂ libre y la presencia de copigmentos entre otros.

Las medidas más difundidas en el comercio de vinos son las originadas por Sudraud (Sudraud, 1958) quien definió los conceptos de intensidad y tinte (matiz o tonalidad) del color del vino.

$$\text{Intensidad (I)} = \text{Absorbancia a 420 nm} + \text{Absorbancia a 520 nm}$$

$$\text{Matiz o Tinte (T)} = \text{Absorbancia a 420 nm} / \text{Absorbancia a 520 nm}$$

$$\text{Vulgarmente, cuando se dice: Color} = \text{Intensidad} \times 1000$$

Glories considera en sus índices la lectura a 620 nm, para evaluar los tonos azules. En este caso la intensidad colorante se expresa como:

Intensidad colorante = Abs 420 nm + Abs 520 nm + Abs 620 nm (Glories, I, 1984)

Según el INV, de acuerdo a la resolución C29/09, sólo serán considerados vinos tintos en el mercado interno aquellos que tengan un índice de color igual o superior a 360 con una tolerancia de hasta el 10% en menos. El índice de color es el cociente entre la intensidad y el tinte multiplicado por 1000.

$$\text{Índice de color (IC)} = (I/T) \times 1000$$

Algunos ejemplos de IC de diferentes tipos de vinos del mercado local se presentan en tabla 17.

Tabla 17: Ejemplos de valores de IC, medidos en vinos del mercado local

Tipo de vino	Color = I x 1000
Rosado	< 200
Clarete	200-300
Tinto de precio inferior (caja o damajuana)	300-320
Tinto "Selección"	400-450
Malbec joven origen Maipú p/corte	900-1000
Malbec joven origen Vistalba p/corte	1200-1300

Materiales:

- Micropipetas automáticas
- Cubetas de vidrio de 1 mm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Espectrofotómetro de luz visible, realizando lecturas a 420 nm, 520 nm y 620 nm de longitud de onda

Método:

Blanco:

Asignamos el cero del espectrofotómetro utilizando agua destilada.

Muestra:

Colocar el vino en una cubeta de vidrio de 1 mm de paso óptico. Realizar lectura a 420 nm, 520 nm y 620 nm de longitud de onda.

Cálculo de resultados:

$$\text{Intensidad (I)} = \text{Absorbancia a 420 nm} + \text{Absorbancia a 520 nm}$$

$$\text{Tinte (T) o Matiz} = \text{Absorbancia a 420 nm} / \text{Absorbancia a 520 nm}$$

$$\text{Índice de color (IC)} = (I/T) \times 1000$$

$$\text{Intensidad colorante (IC)} = \text{Abs 420 nm} + \text{Abs 520 nm} + \text{Abs 620 nm}$$

20. ÍNDICE DE GELATINA

Este índice mide el porcentaje de taninos astringentes en el vino; cuanto más elevado es el índice, más astringente es el vino. El fundamento de este análisis expresa la astringencia de los taninos de acuerdo a su afinidad por las proteínas del tipo globulinas. Se realiza la precipitación de los taninos astringentes por tratamiento de la muestra con solución de gelatina (Glories, 1999) y luego se dosa en el sobrenadante la concentración de proantocianidinas (taninos no astringentes) utilizando el protocolo correspondiente a proantocianidinas en vino.

Materiales:

- Micropipetas automáticas (de 20 µL a 200 µL; de 100 µL a 1000 µL ; de 1000 µL a 5000 µL)
- Tubos de ensayo con tapa de 15 mL
- Tubos de ensayo de vidrio con tapa a rosca, de 10 mL
- Microtubos plásticos con tapa de 2 mL (tipo eppendorf)
- Cubetas de vidrio de 1cm de paso óptico, para lectura en espectrofotómetro
- Espectrofotómetro de luz visible (Longitud de onda 547 nm)
- Balanza analítica
- Centrífuga
- Reactivos:
 - a) Solución de Gelatina 90 g L⁻¹
 - b) Sulfato de hierro y amonio, en butanol acidificado con ácido clorhídrico
 - c) Butanol p.a.

Método:

Blanco:

En un tubo se agrega 400 µL de butanol y 3,6 mL de solución de sulfato de hierro y amonio, se tapa y agita. Con este blanco asignamos el cero al espectrofotómetro para este método.

Muestra:

Colocar 10 mL de vino en tubo de ensayo, agregar 2 mL de gelatina, para obtener 18 g de gelatina por litro de vino. Mezclar y dejar reposar 72 hs en lugar oscuro y fresco. Luego de transcurrido el tiempo de reposo, separar el sobrenadante en microtubos plásticos y centrifugar a 10.000 rpm (equivalente a 7,2 g de aceleración) durante 10 minutos. Realizar una dilución 1:6 con butanol, mediante el agregado de 200 µL del sobrenadante con 1000 µL de butanol, para la determinación de proantocianidinas.

En dos tubos de vidrio con tapa a rosca, se colocan 400 µL de esta dilución con butanol y 3,6 mL solución de sulfato de hierro y amonio (en butanol acidificado con ácido clorhídrico), se tapan y agitan. Uno de los tubos se lleva a baño maría en ebullición por 20 minutos y el otro no se somete a altas temperaturas, para no cuantificar los antocianos

presentes en el vino. El tubo que se llevó a baño maría, debe ser enfriado durante 10 minutos en agua.

Posteriormente a esto, cada tubo de vidrio se vuelca en cubeta del espectrofotómetro de luz visible y se hace la lectura y registro de densidad óptica a una longitud de onda de 547 nm, llevando a cero con el blanco citado anteriormente.

Cálculos de resultados:

$$\text{Lectura } DO_{547} = L2 - L1$$

L1: Lectura inicial a DO_{547} , con vino sin baño maría.

L2: Lectura final a DO_{547} , con vino con baño maría.

La concentración de taninos en mg L^{-1} vino, se calcula a través de la siguiente fórmula, teniendo en cuenta que la dilución.

$$\text{Proantocianidinas (mg L}^{-1} \text{ vino)} = [\text{Lectura } DO_{547} \times 441] \times \text{Dilución}$$

Dilución: 6

Para calcular el índice de gelatina o proporción de taninos astringentes en un vino, se debe conocer la concentración de taninos totales (proantocianidinas) en el vino y la concentración de taninos no astringentes dosados luego del tratamiento del vino con gelatina.

$$\text{Índice de gelatina} = \frac{[\text{Taninos totales} - \text{Taninos no astringentes}]}{\text{Taninos totales}} \times 100$$

Preparación de soluciones:

Solución de Gelatina 90 g L⁻¹:

Pesar 9 g gelatina. Trasvasar en forma cuantitativa a un vaso de precipitación y disolverlo con una pequeña cantidad de agua destilada tibia, agitando con varilla de vidrio. Si es necesario calentar para completa disolución de la gelatina. Luego trasvasar este líquido en forma cuantitativa a un matraz de 100 mL (volcando al matraz los dos o tres enjuagues del vaso) y enrasarlo con agua destilada.

Sulfato de hierro y amonio, en butanol acidificado con ácido clorhídrico:

Pesar 181 mg de Sulfato de hierro y amonio dodecahidratado $(\text{SO}_4)_2\text{NH}_4\text{Fe} + 12 \text{H}_2\text{O}$, conservado en heladera. Trasvasar en forma cuantitativa la droga pesada a un matraz de 200 mL. Agregar a matraz un pequeño volumen de butanol p.a., para disolución del sólido. Agregar 20 mL de ácido clorhídrico 37%. Llevar a volumen y enrasar el matraz

con butanol p.a. En caso de preparar otro volumen de solución, utilizar tabla 18.

Tabla 18: Cantidades a agregar para preparación de solución de sulfato de hierro y amonio acidificada

Volumen matraz (mL)	$(\text{SO}_4)_2\text{NH}_4\text{Fe} + 12 \text{H}_2\text{O}$ (g)	CIH 37% (mL)
50	0,0453	5
100	0,0905	10
250	0,2262	25
500	0,4530	50

Precauciones en la manipulación:

Butanol: trabajar con cuidado, es nocivo para la salud.

Ácido clorhídrico (CIH): debe trabajarse bajo campana debido a su alta tensión de vapor y evitar contacto con la piel ya que es sumamente corrosivo.

21. LÍMITES Y TOLERANCIAS

Reglamentación vigente al 30-09-2008, emanada por el INV

PARÁMETRO	LÍMITE	TOLERANCIA	OFICIALIZACIÓN TÉCNICA ANALÍTICA
Alcohol % v/v	Se fija anualmente por el I.N.V. para cada zona	0,3 en más o en menos. Resolución N° C-41/91	Resolución I.N.V. N°123/85
Extracto Seco g L ⁻¹	-	Azúcares reductores (AR) de hasta 20 g L ⁻¹ : 1,5 g L ⁻¹ en más o en menos AR más de 20 g L ⁻¹ : 7,5% en más o en menos Resolución N° C-41/91. Mosto: 7% en más o en menos Resolución N° 1165/83	Decreto N°1287/32
Azúcares reductores g L ⁻¹	-	Menos de 20 g L ⁻¹ : 2 g L ⁻¹ en más o en menos. Más de 20 g L ⁻¹ : 10% en más o en menos. Resolución N° C-41/91. Mostos: 7% en más o en menos. Resolución N° 1165/83	Resolución mayo de 1938 – Dirección Nacional de Química.
Acidez total en ácido tartárico g L ⁻¹	-	0,20 g L ⁻¹ en más o en menos. Decreto N°1469/71.	Resolución N°12 9/8/65 – Dirección Nacional de Química.
Acidez volátil en ácido acético g L ⁻¹	1,0 g L ⁻¹ Todos los vinos para libre circulación. Resolución N° C-08/06.	0,20 g L ⁻¹ en más o en menos. Resolución N° C-14/03	Resolución I.N.V. N°633/81
Cenizas g L ⁻¹	-	0,25 g L ⁻¹ en más o en menos. Decreto N°1469/71.	Resolución 22/12/39 – Dirección Nacional de Química
Alcalinidad de cenizas mg L ⁻¹	-	-	Resolución 22/12/39 – Dirección Nacional de Química. Resolución 22/04/65 – Dirección Nacional de Química.
Cloruros, en cloruro de sodio g L ⁻¹	0,60 g L ⁻¹ . Res. C.35/2000.	-	Resolución I.N.V. N° 582/81.
Calcio en óxido de calcio g L ⁻¹	0,25 g L ⁻¹ para libre circulación. Resolución I.N.V. N° C-143/94	5% en más o en menos Resolución I.N.V. C-143/94	Resolución I.N.V. C-103/82
Metanol mL L ⁻¹	0,35 mL L ⁻¹ para libre circulación Resolución I.N.V. N°74/85.	0,10 mL L ⁻¹ en más o en menos Resolución I.N.V N° 74/85	Resolución 20/07/34 – Dirección Nacional de Química.
Anhidrido Sulfuroso total mg L ⁻¹	130 mg L ⁻¹ en vino tinto seco. 180 mg L ⁻¹ en vino blanco y rosado seco. 180 mg L ⁻¹ en vino tinto abocado dulce. 210 mg L ⁻¹ en vino blanco y rosado abocado dulce. Todos estos valores para libre circulación. Resolución I.N.V. N° C-143/94.	35 mg L ⁻¹ en más o en menos. Resolución I.N.V. N° C-143/94.	Resolución I.N.V. N° C-227/91.

PARÁMETRO	LÍMITE	TOLERANCIA	OFICIALIZACIÓN TÉCNICA ANALÍTICA
Anhidrido Sufuroso libre mg L ⁻¹	-	5 mg L ⁻¹ en más o en menos. Decreto N° 1469/71.	Resolución I.N.V. N° C-227/91.
Materia colorante artificial	Ausencia. Ley N° 14878.	-	Resolución N° 7/61 – Dirección Nacional de Química.
Reacción de ferrocianuro	Negativa. Resolución I.N.V. N° C-106/92.	-	Resolución I.N.V. N° C-106/92.
Ferrocianuro férrico	Ausencia. Resolución I.N.V. N° C-106/92.	-	Resolución I.N.V. N° C-106/92.
Sodio excedentario mg L ⁻¹	230 mg L ⁻¹ o 10 meq L ⁻¹ . Resolución I.N.V. N° 582/81.	-	Resolución I.N.V. N° 582/81.
Sorbitol mg L ⁻¹	120 mg L ⁻¹ . Decreto N° 5607/67.	-	-
Acido sórbico mg L ⁻¹	250 mg L ⁻¹ . Decreto N° 2462/64.	-	-
Sacarosa	Ausencia. Resolución I.N.V. N° 1445/72.	-	Resolución I.N.V. N° 1445/72.
Edulcorantes sintéticos	Ausencia.	-	Resolución I.N.V. N° 70/68.
Derivados monohalogenados	Ausencia.	-	Resolución N° 5 y 6 /62 – Dirección Nacional de Química.
Sulfatos en sulfato de potasio g L ⁻¹	1,00 g L ⁻¹ Vinos secos - 1,20 g L ⁻¹ Vinos Edulcorados - 1,50 g L ⁻¹ Vinos con más de 2 años de añejamiento y elaboraciones especiales con denuncia previa ante el INV - Res. C.14/03 - 1,50 g L ⁻¹ vino licoroso y/o generoso por Res. C.35/2000.	Tolerancia 10% - Res. C.14/03	Resolución enero N°17/39 – Dirección Nacional de Química.
Cobre mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹ .	-	Resolución I.N.V. N° C-143/94.
Plomo mg L ⁻¹	0,20 mg L ⁻¹ .	-	Resolución I.N.V. N° C-18/97.
Cadmio mg L ⁻¹	0,01 mg L ⁻¹ .	-	Resolución I.N.V. N° C-143/94.

22. ABREVIATURAS O SÍMBOLOS UTILIZADOS

Unidades:

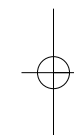
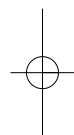
- **cm:** centímetros
- **g:** gramos
- **g L⁻¹:** gramos por litro.
- **gotas s⁻¹:** gotas por segundo.
- **kg:** kilogramos
- **L:** litros
- **M:** solución 1 molar o un mol por litro.
- **mg:** miligramos
- **mg L⁻¹:** miligramos por litro
- **mg kg⁻¹:** miligramos por kilogramo
- **m² kg⁻¹:** metros cuadrados por kilogramo
- **mL:** mililitros
- **mm:** milímetros
- **m:** metros
- **N:** solución 1 normal o 1 equivalente por litro
- **nm:** nanómetros (medida de longitud de onda)
- **N/50:** solución 1/50 normal o 1/50 equivalentes por litro
- **p.a. =** droga para análisis
- **ppm:** parte por millón equivalente a miligramos por litro o miligramos por kilogramo
- **qq:** quintales métricos (100 kg)
- **µm:** micrómetros
- **µL:** microlitros

Elementos minerales que aparecen en las fórmulas de sustancias químicas:

- **Al:** aluminio
- **Ag:** plata
- **As:** arsénico
- **B:** boro
- **Ba:** bario
- **Br:** bromo
- **Cl:** cloro
- **Cu:** cobre
- **F:** flúor
- **Fe:** hierro
- **H:** hidrógeno
- **I:** iodo
- **K:** potasio
- **Mg:** magnesio
- **Mn:** manganeso
- **Mo:** molibdeno
- **N:** nitrógeno
- **Na:** sodio
- **O:** oxígeno
- **P:** fósforo
- **Rb:** rubidio
- **S:** azufre
- **Si:** silicio
- **Ti:** titanio
- **W:** volframio

23. BIBLIOGRAFÍA

- Bate Smith, E.C.; (1954). Astringency in foods. Food 23:124.
- Benvegnin, L. y Capt, E.; (1931). Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg 1931, 22, 257 y 365.
- Boulton, R.; (1996). A method for the assessment of copigmentation in red wines. Am. J. Enol. Vitic. 47:346.
- Frigerio, H.; (1986). Relación entre la lectura refractométrica y los azúcares reductores. Boletín del INV N°37: 10-18. ISSN 325-6766.
- Glories, Y; (1984). La couleur des vins rouges. 2e partie: mesure, origine et interpretation. Conn. Vigne Vin, 18, 4: 253-274.
- Glories, I; (1999). La maturità fenólica delle uve: primo parámetro da controllare per una correctta vinificazione in rosso. Vigne vini 3:46-53.
- Mc Murrough, I. y Mc Dowell, J.; (1978). Chromatographic separation and automated Analysis of flavanols. Analytical Biochemistry 91: 92-100.
- OIV, OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN; (1990). Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts.
- Ojeda, H.; (1999). Influence de la contrainte hydrique sur la croissance du péricarpe et sur l'évolution des phénols des baies de raisin (Vitis vinifera L.) cv. Syrah. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
- Ojeda, H.; Andary, C.; Kraeva, E.; Carbonneau, A. and Deloire, A.; (2002). Influence of pre and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of Vitis vinifera cv. Shiraz. Am.J.Enol.Vitic.53 (4) : 261-267.
- Ough, C. y Amerine, M.; (1988). Methods for analysis of musts and wines. Editorial John Wiley & Sons, New York.
- Porter, L; Hrstich, L.; Chan, B.; (1986). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. Phytochemistry 25: 223-230
- Ribéreau-Gayon, Stonestreet ; (1965). Le dosage des anthocyanes dans les vins rouges P - Bulletin de la Societé Chimique de France, Paris.
- Ribéreau-Gayon, Glories Y. ; Mavjean, A. ; Dubourdieu, D.; (2002). Tratado de Enología Tomo II. Química del vino, estabilización y tratamiento de los vinos. Editorial Hemisferio Sur.
- Rippert, M; (1892). J Prakt. Chem. 45:428; 46:428
- Sudraud, P.; (1958). Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges. Ann Technol Agric. 7: 203-208. method for determination of chromatic characteristics of wine. Am J Enol Vitic. 54: 59-62.
- Zironi, R., Buiatti, S. y Celotti, E.; (1992). Evaluation of a new colorimetric method for the determination of catechins in musts and wines. Die Wein-Wissenschaft 1: 1-7.
- Zoecklein, B.; Fugelsang, K.; Gump, B., and Nury F.; (1995). Wine analysis and production. Chapman and Hall, New York.
- Zoecklein, B.; Fugelsang, K.; Gump, B., and Nury F.; (2001). Análisis y producción de vino. Editorial Acribia. Zaragoza.



Se terminó de imprimir
el 19 de febrero de 2010,
en los Talleres Gráficos de
Inca Editorial Cooperativa de Trabajo Ltda.
José Federico Moreno 2164/2188
(5500AXF) Mendoza - República Argentina.
Telefax 0261 4259161- 4290409
e-mail: incasterio@incaeditorial.com
www.incaeditorial.com