

Determinações analíticas efetuadas por meio de métodos físico-químicos

Luiz Antenor Rizzon | Magda Beatris Gatto Salvador

Introdução

As análises clássicas correspondem a um conjunto de determinações efetuadas nos mostos e sucos de uva, conhecidas desde a primeira metade do século 19 (AMERINE; OUGH, 1974; ANGELUCCI et al., 1987; GIANNESI; MATTA, 1987; RIBÉREAU-GAYON et al., 1998), e são exigidas para a comercialização desses produtos. O mosto corresponde ao líquido extraído da uva, enquanto o suco de uva representa o mosto processado, isto é, submetido a determinadas práticas para auxiliar na extração da matéria corante e garantir a sua clarificação, estabilização e conservação até o momento do consumo. Mesmo que esse conjunto de determinações não seja suficiente para garantir a genuinidade, elas contribuem para a formação de uma primeira impressão geral dos mostos e sucos de uva. Além disso, elas informam sobre aspectos importantes, tais como: aspecto, estrutura, qualidade e possíveis alterações causadas por agentes microbiológicos ou pela utilização de práticas e de produtos enológicos inadequados por ocasião da elaboração do suco de uva.

Para a realização dessas determinações são utilizados métodos físicos, químicos e físico-químicos.

Essas determinações analíticas básicas, quando efetuadas nos sucos de uva, além de serem uma exigência legal, são fundamentais para

o controle de qualidade e para a detecção de eventuais falhas que podem ocorrer em toda a cadeia produtiva do suco de uva.

Densidade relativa a 20/20 °C

Definição

O peso específico ou massa volumétrica do mosto ou do suco de uva corresponde à relação entre a massa de um certo volume desse mosto ou do suco de uva a 20 °C e esse volume. A densidade relativa é a relação entre o peso específico do mosto ou do suco de uva e o peso específico da água a 20 °C.

Princípio do método

- Aerometria.

Material

- Densímetro Dujardin-Salleron.
- Termômetro de 0 °C a 50 °C.
- Proveta de 250 mL.
- Erlenmeyer de 500 mL.

Modo operatório

Homogeneizar a amostra de mosto ou de suco de uva, ajustar a temperatura a 20 °C, colocar o mosto na proveta e introduzir com cuidado o densímetro. Efetuar a leitura na parte superior do menisco, quando o densímetro estiver em repouso, e anotar o valor da densidade.

Cálculo do resultado

O valor da densidade relativa a 20 °C corresponde à medida efetuada diretamente no densímetro. A Tabela 1 indica a equivalência entre o valor da densidade, o teor de açúcar em g L⁻¹ e o álcool provável do vinho.

Tabela 1. Relação entre a densidade, o teor de açúcar do mosto e o grau alcoólico provável do vinho.

Densidade relativa 20/20 °C	Açúcar (g L ⁻¹)	Álcool provável (% v/v)	Densidade relativa 20/20 °C	Açúcar (g L ⁻¹)	Álcool provável (% v/v)
1.035	63	3,7	1.053	111	6,5
1.036	66	3,9	1.054	114	6,7
1.037	69	4,0	1.055	116	6,8
1.038	72	4,2	1.056	119	7,0
1.039	74	4,4	1.057	122	7,2
1.040	76	4,5	1.058	124	7,3
1.041	80	4,7	1.059	127	7,5
1.042	82	4,8	1.060	130	7,6
1.043	84	5,0	1.061	132	7,8
1.044	87	5,1	1.062	135	7,9
1.045	90	5,3	1.063	138	8,1
1.046	92	5,4	1.064	140	8,2
1.047	95	5,6	1.065	143	8,4
1.048	98	5,7	1.066	146	8,6
1.049	100	5,9	1.067	148	8,7
1.050	103	6,0	1.068	151	8,9
1.051	106	6,2	1.069	154	9,0
1.052	108	6,3	1.070	156	9,2

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Densidade relativa 20/20 °C	Açúcar (g L ⁻¹)	Álcool provável (% v/v)	Densidade relativa 20/20 °C	Açúcar (g L ⁻¹)	Álcool provável (% v/v)
1.071	159	9,4	1.091	212	12,5
1.072	162	9,5	1.092	215	12,6
1.073	164	9,7	1.093	218	12,8
1.074	167	9,8	1.094	220	12,9
1.075	170	10,0	1.095	223	13,1
1.076	172	10,1	1.096	226	13,3
1.077	175	10,3	1.097	228	13,4
1.078	178	10,5	1.098	231	13,6
1.079	180	10,6	1.099	234	13,8
1.080	183	10,8	1.100	236	13,9
1.081	186	10,9	1.101	239	14,1
1.082	188	11,0	1.102	242	14,3
1.083	191	11,2	1.103	244	14,4
1.084	194	11,4	1.104	247	14,6
1.085	196	11,5	1.105	250	14,7
1.086	199	11,7	1.106	252	14,9
1.087	202	11,9	1.107	255	15,0
1.088	204	12,0	1.108	258	15,2
1.089	207	12,2	1.109	260	15,3
1.090	210	12,3	1.110	263	15,5

Grau Babo

Definição

O grau Babo representa a porcentagem de açúcar, em peso, no mosto ou no suco de uva. A partir do teor de açúcar, é possível calcular o grau alcoólico provável do vinho.

Princípio do método

Aerometria.

Material

- Mostímetro de grau Babo (Provin) com escala de 8% a 32% com divisão de 0,1% a 20 °C.
- Termômetro de 0 °C a 50 °C.
- Proveta de 250 mL.
- Erlenmeyer de 500 mL.
- Prensa manual para extração do mosto.

Modo operatório

Depois de extrair uma quantidade de mosto de uma amostra de uva representativa do lote, ou após retirar um volume de mosto depois da uva esmagada, homogeneizar a amostra e ajustar a temperatura conforme indicação do fabricante do mostímetro, geralmente a 20 °C. Passar a amostra de mosto ou de suco de uva para a proveta, colocando-a em uma superfície plana e introduzir o mostímetro com cuidado. Fazer a leitura quando o mostímetro estiver em repouso e anotar o resultado. A leitura é feita na parte superior do menisco. Caso a temperatura não seja adequada, efetuar a correção com auxílio de tabela ou ajustá-la esfriando ou aquecendo, conforme o caso.

Cálculo do resultado

O grau Babo representa o valor lido diretamente no mostímetro.

Grau Brix

Definição

O grau Brix representa a porcentagem de sólidos solúveis totais, em peso, no mosto ou no suco de uva. O grau Brix sempre apresenta valor mais elevado em relação ao grau Babo, em virtude da participação dos ácidos orgânicos, da matéria corante, dos minerais e das substâncias nitrogenadas que também compõem os sólidos solúveis totais.

Por isso, nas medidas feitas no mosto da uva verde a diferença entre o grau Brix e o grau Babo é maior.

Princípio do método

Refratometria, que se baseia no princípio de desvio dos raios luminosos que atravessam meios transparentes de diferentes índices de refração. O método é aplicável somente aos mostos e aos sucos, pois o álcool do vinho interfere no índice de refração.

Material

- Refratômetro de bancada ou manual com escala de 0% a 100% ou refratômetro manual de escala de 0% a 32% aferido a 20 °C.
- Termômetro de 0 °C a 50 °C.
- Pipeta graduada.

Modo operatório

Colocar, com o auxílio de uma pipeta graduada, algumas gotas do mosto ou do suco de uva a se analisar no prisma fixo e fechar com a parte superior do prisma móvel. Efetuar a leitura e anotar o resultado. Limpar e secar o prisma com papel extrafino.

Caso o refratômetro não esteja acoplado a um banho termostatizado com circulação de água a 20 °C, ou a amostra esteja a uma temperatura diferente de 20 °C, verificar sua temperatura e efetuar a correção do grau Brix com auxílio da tabela abaixo.

Cálculo

O grau Brix é obtido por meio da leitura direta do refratômetro quando o aparelho dispõe de correção da temperatura; caso contrário, utilizar a Tabela 2.

Tabela 2. Correção do grau Brix, em função de temperaturas inferiores e superiores a 20 °C.

Temperatura (°C)	Porcentagem de sacarose (°Brix)														
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Subtrair do Brix lido															
10	0,50	0,54	0,58	0,61	0,64	0,66	0,68	0,70	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79
11	0,46	0,49	0,53	0,55	0,58	0,60	0,62	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,69	0,70	0,71
12	0,42	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,61	0,61	0,63	0,63
13	0,37	0,40	0,42	0,44	0,46	0,48	0,49	0,50	0,51	0,52	0,53	0,54	0,54	0,55	0,55
14	0,33	0,35	0,37	0,39	0,40	0,41	0,42	0,43	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46	0,47	0,48
15	0,27	0,29	0,31	0,33	0,34	0,34	0,35	0,36	0,37	0,37	0,38	0,39	0,38	0,40	0,40
16	0,22	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,29	0,30	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32
17	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24
18	0,12	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
19	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Adicionar ao Brix lido															
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
23	0,19	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
24	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32

Tabela 2. Continuação.

Temperatura (°C)	Porcentagem de sacarose (°Brix)														
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
25	0,33	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
26	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
27	0,48	0,50	0,52	0,53	0,54	0,55	0,55	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
28	0,56	0,57	0,60	0,61	0,62	0,63	0,63	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64
29	0,64	0,66	0,68	0,69	0,71	0,72	0,72	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
30	0,72	0,74	0,77	0,78	0,79	0,80	0,80	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81

Acidez total

Definição

A acidez total corresponde à soma dos ácidos tituláveis quando se neutraliza o mosto ou suco de uva a pH 7,0 com solução alcalina.

Princípio do método

Titulação química utilizando o azul de bromotimol como indicador.

Material

- Bureta graduada de 25 mL.
- Pipeta volumétrica de 5 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL.

Reagentes

- Solução de hidróxido de sódio 0,1 N.
- Solução de azul de bromotimol a 4 g L⁻¹ (diluído em solução alcoólica a 20%).

Modo operatório

Adicionar 5 mL de mosto ou de suco de uva e algumas gotas da solução de azul de bromotimol em um erlenmeyer de 250 mL. Titular com a solução de hidróxido de sódio 0,1 N até o aparecimento da coloração azul, tendo o cuidado de anotar o volume gasto.

Cálculo do resultado

A acidez total é calculada por meio da fórmula

$$\text{Acidez total (meq L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times N \times 1.000}{V}$$

onde

n = quantidade (mL) de solução de hidróxido de sódio gasta na titulação

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio

V = volume da amostra em mL.

Acidez volátil

Definição

A acidez volátil corresponde à soma dos ácidos graxos da série acética presentes no mosto ou no suco de uva no estado livre ou salificado.

Princípio do método

A separação dos ácidos voláteis é efetuada por meio do arraste pelo vapor d'água.

Material

- Aparelho segundo Cazenave-Ferré com coluna de refrigeração de 40 cm.

- Bureta de 25 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL.
- Pipeta de 10 mL.

Reagentes

- Solução de hidróxido de sódio 0,1 N.
- Solução alcoólica de fenolftaleína a 1%.
- Ácido tartárico em cristais.

Modo operatório

Colocar de 250 mL a 300 mL de água no balão do aparelho, segundo Cazenave-Ferré, e 10 mL de mosto ou de suco de uva e alguns cristais de ácido tartárico no tubo borbulhador. Posicionar um erlenmeyer de 250 mL na saída do condensador. Ligar o aquecedor com a torneira do vapor aberta para retirar o dióxido de carbono presente na água. Um pouco antes de a água começar a ferver, fechar a torneira para que o vapor borbulhe na amostra de mosto ou de suco de uva, arrastando os ácidos voláteis. Parar o aquecimento quando forem recolhidos 100 mL de destilado no erlenmeyer. Acrescentar algumas gotas da solução de fenolftaleína e titular com a solução de hidróxido de sódio 0,1 N até o aparecimento da cor rosada.

Cálculo do resultado

A acidez volátil bruta é calculada por meio da fórmula

$$\text{Acidez volátil (meq L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times N \times 1.000}{V}$$

onde

n = quantidade (mL) de solução de hidróxido de sódio gasta na titulação

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio

V = volume da amostra em mL.

pH

Definição

O pH do mosto ou do suco de uva corresponde à concentração de íons de hidrogênio ali dissolvido. O pH dos mostos e dos sucos de uva brasileiros é variável de 3,0 até 3,4, dependendo da cultivar, da safra e da origem geográfica.

Princípio do método

Efetua-se a medida da diferença de potencial entre dois eletrodos mergulhados na amostra estudada. Um dos eletrodos tem um potencial que é função do pH da amostra a se analisar, o outro tem um potencial fixo conhecido e corresponde ao eletrodo de referência.

Material

- Peagômetro com escala de, no mínimo, 0,1 unidade de pH.
- Eletrodos – Os eletrodos de vidro devem ser conservados na água destilada, enquanto os de calomel, em uma solução saturada de cloreto de potássio.

Reagentes

- Solução tampão de pH 3,0.
- Solução tampão de pH 4,0.

Uma solução saturada de tartarato ácido de potássio ($5,7 \text{ g L}^{-1}$) possui um pH de 3,57 a $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Essa solução pode se conservar bem até dois meses em presença de $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de timol e também pode ser utilizada para a calibração do peagômetro.

Modo operatório

O aparelho deve ser calibrado com a solução tampão de pH 3,0 a uma temperatura de 20 °C. A seguir, lavar bem o eletrodo com água destilada.

Na sequência, introduzir o eletrodo na solução tampão de pH 4,0 à temperatura de 20 °C; caso esteja regulado, o aparelho deverá indicar o mesmo valor da solução. Lavar novamente o eletrodo com água destilada.

Depois de calibrado, medir o pH do mosto ou do suco de uva em uma amostra, inicialmente colocada em um copo de béquer de 100 mL, tendo o cuidado de agitar levemente com o auxílio de um agitador magnético e introduzir o eletrodo no líquido; uma vez estabilizado, efetuar a leitura do pH do mosto ou do suco no aparelho.

Nitrogênio amoniacal

Definição

O nitrogênio amoniacal ou nitrogênio mineral é um componente natural do mosto e do suco de uva. Trata-se da forma de nitrogênio prontamente disponível para as leveduras na fermentação alcoólica. A sua determinação é importante para conhecer o grau de fermentescibilidade do mosto.

Princípio do método

A determinação do nitrogênio amoniacal baseia-se na alcalinização com óxido de magnésio, seguida pelo arraste de vapor e posterior titulação em solução ácida.

Material

- Destilador por arraste de vapor.

- Agitador magnético.
- Erlenmeyer de 50 mL.
- Pipetas volumétricas de 5 mL e de 10 mL.
- Tubos de destilação.
- Bureta de 10 mL com carregamento automático.
- Espátula.

Reagentes

Óxido de magnésio (MgO) calcinado. Aquecer o óxido de magnésio leve na mufla a 700 °C por duas horas. Deixar esfriar no dessecador e guardar em frasco fechado, para evitar a formação de carbonato, que interfere na análise. Caso o óxido de magnésio tenha sido calcinado há mais de seis meses, recomenda-se repetir a operação.

Solução de ácido bórico indicador. Dissolver 40 g de ácido bórico em 1.400 mL de água destilada quente. Após esfriar, transferir para um balão de 2 L contendo 400 mL de etanol a 95% v/v e 40 mL de uma solução obtida pela dissolução de 0,66 g de verde de bromocresol e 0,33 g de vermelho de metila em 1.000 mL de etanol a 95% v/v. Misturar a solução no balão volumétrico e adicionar cuidadosamente hidróxido de sódio 0,05 N até observar uma leve mudança de cor de roxo para verde-claro ao adicionar 1 mL de indicador; completar a seguir o volume a 2 L com água destilada e homogeneizar.

Solução de ácido sulfúrico a 0,01 N preparada a partir da diluição de uma solução de 1 N.

Modo operatório

Pipetar 10 mL de mosto ou de suco de uva para análise em um tubo de destilação, acrescentar uma quantidade de óxido de magnésio calcinado suficiente para elevar o pH a mais de 8,5. A quantidade de

óxido de magnésio gasta geralmente varia de 0,2 g a 0,3 g. Conectar o tubo ao destilador e iniciar o processo de destilação. A velocidade de destilação deve ser suficiente para recolher 10 mL por minuto. No início pode ser mais lenta para evitar a excessiva formação de espuma, devendo destilar durante 3 minutos e 30 segundos.

Recolher o destilado em erlenmeyer de 50 mL com 5 mL de indicador ácido bórico. Encerrar a destilação depois de recolher de 35 mL a 40 mL.

Titular com ácido sulfúrico 0,01 N e anotar o valor.

Antes de destilar a amostra de mosto ou de suco de uva a se analisar, destilar e titular uma prova em branco e anotar o valor obtido.

Cálculo do resultado

A quantidade de nitrogênio amoniacal da amostra de mosto ou de suco de uva é obtida pela fórmula:

$$\text{Nitrogênio amoniacal (mg L}^{-1}\text{)} = \\ (\text{mL gastos na titulação da amostra} - \text{mL gastos na prova em branco}) \times 1,75$$

Dióxido de enxofre livre

Definição

O dióxido de enxofre livre corresponde àquele encontrado na forma de SO_2 , H_2SO_3 , HSO_3^- e SO_3^{2-} .

Princípio do método

Após uma acidificação enérgica o SO_2 é oxidado diretamente pelo iodo até alcançar coloração azul, utilizando amido como indicador.

Material

- Bureta graduada de 25 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada.
- Pipetas volumétricas de 2 mL e 50 mL.
- Copo de béquer de 100 mL.

Reagentes

- Solu o de iodo 0,02 N.
- Solu o de ácido sulfúrico a 6%.
- Solu o de amido a 1%.

Modo operatório

Colocar um erlenmeyer de 250 mL, 50 mL de mosto ou suco de uva a se analisar, 2 mL da soluço de ácido sulfúrico a 60% e 2 mL da soluço de amido. Titular com a soluço de iodo 0,02 N até o aparecimento da cor azul persistente. Anotar o volume gasto.

C culo do resultado

O dióxido de enxofre livre do mosto ou suco   obtido por meio da fórmula

$$\text{Dióxido de enxofre livre (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times N \times 32 \times 1.000}{V}$$

onde:

n = quantidade (mL) da soluço de iodo gasta na titula o

N = normalidade da soluço de iodo

V = volume da amostra em mL

32 = um meq de iodo (127 mg) oxida 32 mg de SO₂.

Dióxido de enxofre total

Definição

O dióxido de enxofre total corresponde à soma do dióxido de enxofre livre e do combinado encontrado no mosto ou suco de uva.

Princípio do método

O dióxido de enxofre do mosto ou suco de uva é liberado num meio alcalino e depois em meio ácido; posteriormente é oxidado pelo iodo até alcançar coloração azul, utilizando o amido como indicador.

Material

- Bureta graduada de 25 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada.
- Pipetas volumétricas de 2 mL, 5 mL, 20 mL e 50 mL.
- Pera de borracha para pipetagem.
- Copo de béquer de 100 mL.

Reagentes

- Solução de iodo 0,02 N.
- Solução de ácido sulfúrico a 30%.
- Solução de hidróxido de sódio 1 N.
- Solução de amido a 1%.

Modo operatório

Em um erlenmeyer de 250 mL, transferir 25 mL de solução de hidróxido de sódio 1 N e 50 mL da amostra. Tapar o erlenmeyer e deixar em repouso por 15 minutos. Adicionar 2 mL de solução de amido e

5 mL de ácido sulfúrico a 30%. Titular com solução de iodo 0,02 N até o aparecimento de cor azul persistente. Anotar o volume da solução de iodo gasto na titulação.

Cálculo do resultado

O dióxido de enxofre total do mosto ou suco de uva é obtido por meio da fórmula

$$\text{Dióxido de enxofre total (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times N \times 32 \times 1.000}{V}$$

onde:

n = quantidade (mL) da solução de iodo gasta na titulação

N = normalidade da solução de iodo

V = volume da amostra em mL

32 = um meq de iodo (127 mg) oxida 32 mg de SO_2 .