

# Metodologia para análise de vinho



Luiz Antenor Rizzon  
Editor Técnico

**Embrapa**

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Uva e Vinho  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

# **Metodologia para análise de vinho**

Luiz Antenor Rizzon  
Editor Técnico

***Embrapa Informação Tecnológica  
Brasília, DF  
2010***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Informação Tecnológica**

Parque Estação Biológica (PqEB)  
Av. W3 Norte (final)  
70770-901 Brasília, DF  
Fone: (61) 3448-4236  
Fax: (61) 3448-2494  
vendas@sct.embrapa.br  
www.embrapa.br/liv

**Embrapa Uva e Vinho**

Rua Livramento, 515  
Caixa Postal 130  
95700-000 Bento Gonçalves, RS  
Fone: (54) 3455-8000  
Fax: (54) 3451-2792  
sac@cnpuv.embrapa.br  
www.cnpuv.embrapa.br

Colaboradores da Embrapa Uva e Vinho: *Nilda Maria Gatto Zucco e Vânia Maria Ambrosi Sganzerla*

Coordenação editorial: *Fernando do Amaral Pereira, Mayara Rosa Carneiro e Lucilene Maria de Andrade*

Supervisão editorial: *Juliana Meireles Fortaleza*

Revisão de texto: *Rafael de Sá Cavalcanti*

Normalização bibliográfica: *Márcia Maria Pereira de Souza*

Projeto gráfico e capa: *Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

**1ª edição**

1ª impressão (2010): 500 exemplares

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Informação Tecnológica

---

Metodologia para análise de vinho / editor técnico, Luiz Antenor Rizzon. – Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2010.  
120 p.

ISBN 978-85-7383-505-2

1. Análise química. 2. Colorimetria. 3. Cromatografia. 4. Viticultura. 5. Tecnologia de alimento. I. Rizzon, Luiz Antenor. II. Salvador, Magda Beatris Gatto. III. Embrapa Uva e Vinho.

---

CDD 663.2

© Embrapa 2010

# Autores

## **Luiz Antenor Rizzon**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Enologia/Ampelologia pela Université de Bordeaux II, pesquisador aposentado da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS

## **Magda Beatris Gatto Salvador**

Licenciada em Ciências, analista da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS  
magda@cnpuv.embrapa.br



# Apresentação

Para a produção de vinhos de qualidade, é necessária a utilização adequada de metodologias laboratoriais, além dos cuidados realizados no vinhedo e na vinícola. É extremamente importante que os profissionais (enólogos, estudantes e produtores) conheçam as técnicas analíticas básicas empregadas na avaliação da composição físico-química do vinho e os parâmetros utilizados – para comprovar o seu enquadramento – nos padrões de identidade e qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa).

A presente publicação é também resultante da dedicação de mais de 30 anos do editor como pesquisador da área de enologia e como responsável pelo Laboratório de Enoquímica da Embrapa Uva e Vinho. Parte dessa experiência está apresentada nesta obra de maneira clara, simples e objetiva, mostrando as metodologias necessárias para contribuir na valorização do vinho elaborado e, conseqüentemente, assegurar ao consumidor um produto legítimo e seguro.

*Lucas da Ressurreição Garrido*

Chefe-Geral da Embrapa Uva e Vinho



# Sumário

## Capítulo 1

<b>Análise sensorial dos vinhos</b> .....	9
Análise sensorial .....	10

## Capítulo 2

<b>Análises clássicas dos vinhos</b> .....	13
Densidade relativa .....	14
Teor alcoólico .....	15
Acidez total .....	19
Acidez volátil .....	20
pH.....	22
Extrato seco (método direto) .....	24
Extrato seco (método indireto) .....	25
Extrato seco reduzido .....	30
Relação álcool em peso/extrato seco reduzido .....	30
Açúcares redutores.....	31
Cinzas .....	35
Alcalinidade das cinzas.....	36
Nitrogênio total .....	38
Cloretos.....	41
Sulfatos.....	44
Cromatografia de papel do ácido málico do vinho .....	46
Presença de híbridos em vinhos tintos de <i>Vitis vinifera</i> .....	49
Dióxido de enxofre livre.....	50
Dióxido de enxofre total (Ripper) .....	52
Dióxido de enxofre total.....	53



### **Capítulo 3**

<b>Colorimetria</b> .....	57
Antocianinas .....	58
Tanino total .....	60
Polifenóis totais (l 280) .....	63
Cor dos vinhos .....	64
Prolina.....	66
Ácido sórbico.....	68
Fósforo .....	71

### **Capítulo 4**

<b>Espectrofotometria de absorção atômica e emissão de chama</b> .....	75
Potássio.....	77
Sódio.....	79
Cálcio.....	81
Magnésio .....	83
Manganês.....	85
Ferro.....	87
Cobre .....	89
Zinco.....	90
Lítio.....	92
Rubídio .....	94

### **Capítulo 5**

<b>Cromatografia de fase gasosa</b> .....	97
Aldeído acético, acetato de etila, metanol e álcoois superiores .....	98
Lactato de etila .....	102
Glicerol.....	105

### **Capítulo 6**

<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae)</b> .....	109
Ácido tartárico e málico .....	111
Ácido sórbico.....	114

<b>Referências</b> .....	117
--------------------------	-----

<b>Literatura recomendada</b> .....	119
-------------------------------------	-----

# Análise sensorial dos vinhos

Luiz Antenor Rizzon

A avaliação sensorial é uma ferramenta de que o técnico dispõe para avaliar a qualidade dos vinhos. Ela consiste em observar com atenção o vinho para procurar os seus defeitos e descrever os atributos qualitativos. Corresponde, portanto, à apreciação por meio da visão, do olfato e do paladar das características de um vinho. Normalmente, o trabalho é dividido em quatro partes: a avaliação por meio dos sentidos, a descrição dos estímulos, a comparação com padrões estabelecidos e o julgamento. O ser humano possui diferentes sensores:

- **Visual**, que informa sobre a cor, a limpidez, a textura, a efervescência e a viscosidade do vinho.
- **Olfativo**, que permite avaliar o aroma e eventuais defeitos de aroma.
- **Gustativo**, que permite detectar os gostos doce, salgado, amargo e ácido.
- **Tátil**, que possibilita a detecção da estrutura, por meio do contato entre o vinho e as mucosas da boca.

Visto que o vinho foi feito para ser consumido e apreciado, a avaliação sensorial é a maneira mais adequada para definir a sua qualidade. A análise físico-química poderá contribuir para determinar os aspectos qualitativos, mas normalmente esses parâmetros analíticos não são sufi-

cientes para distinguir um grande vinho de outro comum. Nesse caso a avaliação sensorial apresenta um objetivo técnico de observar se aquela amostra está de acordo com aquele tipo de vinho; se ele se apresenta adequadamente em relação ao aspecto, se não estiver oxidado, turvo e com depósito, e estiver sem desprendimento de dióxido de carbono (característica de vinhos tranquilos). Além disso, é avaliada também a qualidade do aroma, se é coerente com a cultivar, com a safra e se eventualmente apresenta algum aroma estranho de algum desvio metabólico da fermentação alcoólica, de algum eventual produto enológico adicionado ou mesmo proveniente de contato com o material utilizado na conservação e no engarrafamento. Por meio do gosto é possível avaliar a coerência do vinho – cultivar, safra, origem geográfica com a estrutura, o corpo e a harmonia de boca – e ainda detectar eventuais defeitos em virtude da utilização de práticas enológicas e utilização de produtos e recipientes não adequados.

Nesse sentido, a avaliação sensorial do vinho – antes da realização da análise físico-química – é necessária para definir a sua qualidade, detectar eventuais problemas de apresentação e outros defeitos olfativos e gustativos, além de complementar os parâmetros analíticos.

## **Análise sensorial**

### **Definição**

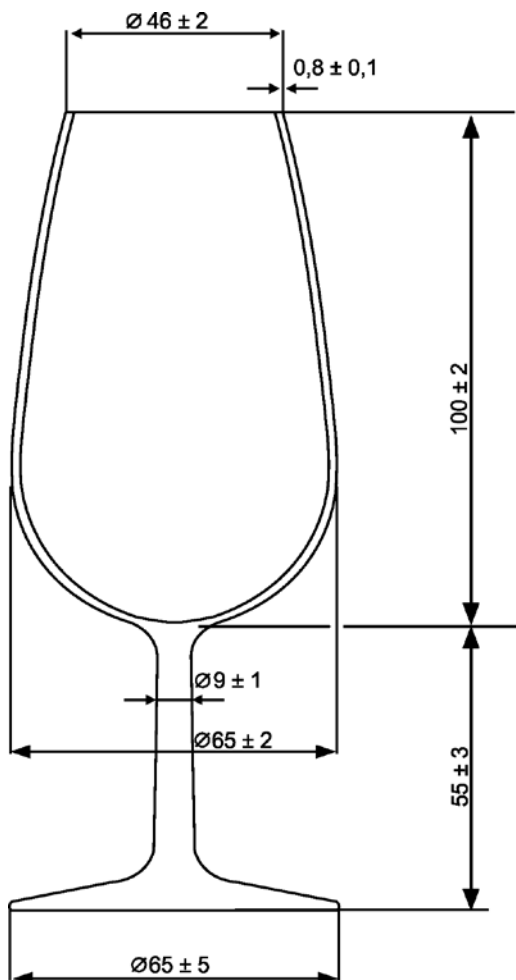
A análise sensorial do vinho corresponde ao ato de submeter a amostra de vinho à apreciação dos sentidos, mas de modo especial à visão, ao olfato e ao gosto.

### **Princípio do método**

Submeter o vinho à apreciação dos nossos sentidos, descrever as sensações percebidas e fazer um julgamento.

## Material e equipamento

- Cálice de degustação segundo normas da Associação Francesa de Normas Técnicas (Afnor), conforme modelo da Figura 1.
- Equipamento para retirar a cápsula.
- Equipamento para retirar a rolha (saca-rolha).



**Figura 1.** Cálice de degustação de vinho (medidas em mm).  
Fonte: Peynaud (1980).

## Procedimento

Quanto ao aspecto, o vinho deve apresentar-se límpido, brilhante e sem depósito proveniente da vinificação e do acondicionamento. No caso de vinhos envelhecidos, certos depósitos podem ser tolerados, quando decorrentes de precipitações da matéria corante natural (antocianina) ou de cristais de bitartarato de potássio.

Depósitos ou turvações decorrentes da insolubilização de minerais como o ferro (casse férrica) e o cobre (casse cúprica) não serão tolerados. Assim como alterações causadas por microrganismos que se desenvolvem na presença de ar (flor e avinagramento) ou na ausência (volta, manite e amargor).

Em relação à cor, os vinhos são classificados em brancos, rosados e tintos. A cor dos vinhos brancos está relacionada com a cultivar, o tipo e os tratamentos efetuados. A passagem do vinho branco pela madeira de carvalho lhe atribui uma tonalidade mais acentuada.

Os vinhos tintos abrangem uma gama de tonalidades. Assim, os vinhos tintos jovens geralmente apresentam a cor vermelha com tonalidade violácea acentuada e com o passar do tempo vão se alterando a cores púrpuras, rubi e alaranjadas. A tonalidade é verificada inclinándose o cálice contra um fundo branco.

Em relação ao gosto, o vinho deve apresentar bom ataque inicial, apresentar-se equilibrado e com boa estrutura de boca e deixar uma ótima impressão final.

A conclusão da avaliação sensorial de um vinho pode se resumir como normal/anormal ou como atende/não atende. No entanto, é mais indicado efetuar uma descrição das principais características sensoriais do vinho.

## Capítulo 2

# Análises clássicas dos vinhos

Luiz Antenor Rizzon

As análises clássicas correspondem a um conjunto de determinações efetuadas nos vinhos, conhecidas desde a primeira metade do século 19, e são exigidas para a comercialização dos vinhos. Mesmo que esse conjunto de determinações não seja suficiente para garantir a genuinidade, elas contribuem para a formação de uma primeira impressão geral dos vinhos. Além disso, elas informam sobre aspectos importantes, tais como cor, estrutura, qualidade e possíveis alterações causadas por agentes microbiológicos ou pela utilização de práticas e de produtos enológicos inadequados nos vinhos.

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

Essas determinações analíticas básicas, quando efetuadas nos vinhos, 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 vinho.

## Densidade relativa

### Definição

Densidade relativa é a relação expressa em quatro casas decimais da massa volumétrica ( $\text{g mL}^{-1}$ ) do vinho a 20 °C, com a massa volumétrica da água à mesma temperatura.

### Princípio do método

Aerometria.

### Material e equipamento

- Densímetro (extratoenômetro).
- Termômetro.
- Proveta graduada de 250 mL.

### Procedimento

Homogeneizar a amostra do vinho a analisar. Ajustar a temperatura da amostra do vinho com a temperatura de aferição do densímetro.

Colocar o vinho numa proveta limpa e seca, mantendo-a um pouco inclinada para reduzir a formação de espuma. Introduzir o densímetro na proveta, o qual deve estar perfeitamente seco. Verificar novamente a temperatura.

Quando o densímetro estiver em repouso, fazer a leitura e anotar o resultado

### Cálculo e resultado

O valor da leitura efetuada diretamente no densímetro, na parte superior do menisco, corresponde à densidade relativa do vinho.

## Teor alcoólico

### Definição

O grau alcoólico corresponde ao número de litros de álcool etílico em 100 litros de vinho. A medida deve ser efetuada a 20 °C.

### Princípio do método

Destilação do vinho previamente alcalinizado e posterior medida do grau alcoólico por densimetria (densímetro Anton Paar).

### Material e equipamento

- Aparelho de destilação.
- Termômetro.
- Balão volumétrico de 50 mL.
- Densímetro Anton Paar DMA 45.

### Reagente

Óxido de cálcio ( $120 \text{ g L}^{-1}$ ).

### Procedimento

Medir 50 mL de vinho num balão volumétrico limpo e seco e aferir a temperatura de 20 °C. Transferir a amostra de vinho para um balão destilatório. Lavar o balão volumétrico de 50 mL que continha o vinho com água destilada e juntar ao conteúdo do balão de destilação. Adicionar ao balão de destilação 10 mL da solução de óxido de cálcio, para



neutralizar a acidez do vinho e evitar a passagem dos ácidos voláteis ao destilado, o que provocaria um aumento da densidade e consequente diminuição do grau alcoólico. Conectar o balão de destilação ao condensador e colocar o balão de 50 mL com 2 mL de água destilada na extremidade do condensador para receber o destilado, mantendo-o em um recipiente com gelo para evitar a perda do álcool. Recolher três quartos do volume inicial. Completar o volume com água destilada ajustando-a à mesma temperatura inicial e agitar. Em vinhos com teor de açúcar elevado, recomenda-se utilizar algumas gotas de solução antiespumante, evitando o transbordamento durante a ebulição. Determinar a densidade do destilado a 20 °C no densímetro Anton Paar DMA 45 e fazer a leitura do grau alcoólico do vinho na Tabela 1.

**Tabela 1.** Percentagem de álcool em relação à densidade da solução hidroalcoólica a 20 °C.

Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)
1,0000	0,00	0,9986	0,93	0,9972	1,88
0,9999	0,07	0,9985	1,00	0,9971	1,95
0,9998	0,13	0,9984	1,07	0,9970	2,02
0,9997	0,20	0,9983	1,14	0,9969	2,09
0,9996	0,27	0,9982	1,20	0,9968	2,15
0,9995	0,33	0,9981	1,27	0,9967	2,22
0,9994	0,40	0,9980	1,34	0,9966	2,29
0,9993	0,46	0,9979	1,41	0,9965	2,36
0,9992	0,53	0,9978	1,48	0,9964	2,43
0,9991	0,60	0,9977	1,54	0,9963	2,50
0,9990	0,66	0,9976	1,61	0,9962	2,57
0,9989	0,73	0,9975	1,68	0,9961	2,64
0,9988	0,80	0,9974	1,75	0,9960	2,70
0,9987	0,87	0,9973	1,81	0,9959	2,77

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)
0,9958	2,84	0,9931	4,77	0,9904	6,80
0,9957	2,91	0,9930	4,84	0,9903	6,88
0,9956	2,98	0,9929	4,91	0,9902	6,96
0,9955	3,05	0,9928	4,98	0,9901	7,04
0,9954	3,12	0,9927	5,06	0,9900	7,12
0,9953	3,19	0,9926	5,13	0,9899	7,19
0,9952	3,26	0,9925	5,21	0,9898	7,27
0,9951	3,33	0,9924	5,28	0,9897	7,35
0,9950	3,40	0,9923	5,36	0,9896	7,43
0,9949	3,47	0,9922	5,43	0,9895	7,51
0,9948	3,54	0,9921	5,51	0,9894	7,59
0,9947	3,61	0,9920	5,58	0,9893	7,67
0,9946	3,68	0,9919	5,66	0,9892	7,75
0,9945	3,76	0,9918	5,73	0,9891	7,82
0,9944	3,83	0,9917	5,81	0,9890	7,90
0,9943	3,90	0,9916	5,88	0,9889	7,98
0,9942	3,97	0,9915	5,96	0,9888	8,06
0,9941	4,04	0,9914	6,03	0,9887	8,15
0,9940	4,11	0,9913	6,11	0,9886	8,23
0,9939	4,18	0,9912	6,18	0,9885	8,31
0,9938	4,26	0,9911	6,26	0,9884	8,39
0,9937	4,33	0,9910	6,34	0,9883	8,47
0,9936	4,40	0,9909	6,41	0,9882	8,55
0,9935	4,48	0,9908	6,49	0,9881	8,63
0,9934	4,55	0,9907	6,57	0,9880	8,71
0,9933	4,62	0,9906	6,65	0,9879	8,79
0,9932	4,69	0,9905	6,73	0,9878	8,88

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> a 20 °C)	Álcool (%)
0,9877	8,96	0,9848	11,36	0,9819	13,86
0,9876	9,04	0,9847	11,45	0,9818	13,95
0,9875	9,13	0,9846	11,53	0,9817	14,04
0,9874	9,21	0,9845	11,61	0,9816	14,13
0,9873	9,29	0,9844	11,70	0,9815	14,22
0,9872	9,38	0,9843	11,78	0,9814	14,30
0,9871	9,46	0,9842	11,87	0,9813	14,39
0,9870	9,54	0,9841	11,95	0,9812	14,48
0,9869	9,62	0,9840	12,04	0,9811	14,57
0,9868	9,70	0,9839	12,12	0,9810	14,66
0,9867	9,79	0,9838	12,21	0,9809	14,75
0,9866	9,87	0,9837	12,29	0,9808	14,84
0,9865	9,95	0,9836	12,38	0,9807	14,93
0,9864	10,03	0,9835	12,47	0,9806	15,02
0,9863	10,11	0,9834	12,55	0,9805	15,11
0,9862	10,20	0,9833	12,64	0,9804	15,20
0,9861	10,28	0,9832	12,73	0,9803	15,28
0,9860	10,36	0,9831	12,81	0,9802	15,37
0,9859	10,44	0,9830	12,90	0,9801	15,46
0,9858	10,53	0,9829	12,99	0,9800	15,55
0,9857	10,61	0,9828	13,07	0,9799	15,64
0,9856	10,69	0,9827	13,16	0,9798	15,73
0,9855	10,78	0,9826	13,25	0,9797	15,82
0,9854	10,76	0,9825	13,34	0,9796	15,91
0,9853	10,94	0,9824	13,43	0,9795	16,00
0,9852	11,03	0,9823	13,51	0,9794	16,10
0,9851	11,11	0,9822	13,60	0,9793	16,19
0,9850	11,19	0,9821	13,68	0,9792	16,28
0,9849	11,28	0,9820	13,77	0,9791	16,37

## Acidez total

### Definição

A acidez total corresponde à soma dos ácidos tituláveis quando se neutraliza o vinho até pH 7,0 com solução alcalina.

### Princípio do método

Titulação com hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando o azul de bromotimol como indicador do final da reação, até o aparecimento de cor azul.

### Material

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

### Reagentes

- Hidróxido de sódio 0,1 N.
- Azul de bromotimol: 4 g L<sup>-1</sup> diluído no álcool a 20%.

### Procedimento

Num erlenmeyer de 250 mL, adicionar 5 mL de vinho e 100 mL de água destilada e algumas gotas de azul de bromotimol. Titular com hidróxido de sódio 0,1 N até o aparecimento da coloração azul, tendo o cuidado de anotar o volume gasto (mL).

## Cálculo do resultado

A acidez total em meq L<sup>-1</sup> é obtida por meio da seguinte fórmula:

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

onde:

*n* = mililitros de hidróxido de sódio gastos na titulação

*N* = normalidade do hidróxido de sódio

*V* = volume de vinho utilizado em mL.

## Acidez volátil

### Definição

A acidez volátil corresponde à soma dos ácidos graxos da série acética presentes no vinho no estado livre ou salificado.

### Princípio do método

A separação dos ácidos voláteis acontece por meio do arraste do vapor da água. O vinho é acidificado por uma pequena quantidade de ácido tartárico – aproximadamente 0,25 g para 10 mL – antes do arraste pelo vapor, para evitar a passagem de ácido láctico. Recomenda-se reduzir a presença de gás carbônico no vinho. A acidez do dióxido de enxofre livre e combinado destilado não faz parte da acidez volátil e por isso é descontado da acidez do destilado, assim como a acidez do ácido sórbico, eventualmente presente.

### Material e equipamento

- Aparelho Cazenave-Ferré equipado com uma coluna de refrigeração de 40 cm.

- Pipeta volumétrica de 10 mL.
- Pipeta graduada de 1 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL.
- Bureta de 25 mL.

### Reagentes

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

### Procedimento

Colocar 250 mL a 300 mL de água no balão do aparelho. Adicionar 10 mL de vinho sem dióxido de carbono e alguns cristais de ácido tartárico no tubo borbulhador. Colocar um erlenmeyer de 250 mL na saída do condensador. Aquecer com a torneira de vapor aberta, para retirar o gás carbônico que se encontra no aparelho. Quando a água começar a ferver, fechar a torneira. Assim, o vapor d'água borbulha na amostra, arrastando os ácidos voláteis. Parar o aquecimento quando forem recolhidos 100 mL do destilado no erlenmeyer. Acrescentar algumas gotas de fenolftaleína e titular com hidróxido de sódio 0,1 N, até o aparecimento da cor rosada.

### Cálculo do resultado

A acidez volátil em meq L<sup>-1</sup> é obtida por meio da fórmula:

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

onde:

$n$  = mililitros de hidróxido de sódio gastos na titulação

$N$  = normalidade do hidróxido de sódio

$V$  = volume de vinho utilizado em mL.

## pH

### Definição

O pH representa a concentração de íons de hidrogênio livres dissolvidos no vinho. O valor é expresso pelo logaritmo da concentração de íons hidrogênio, que, no caso dos vinhos brasileiros, é variável de 3,0 até 3,8, dependendo do tipo de vinho (branco ou tinto), da cultivar e da safra.

### Princípio do método

Baseia-se na diferença de potencial entre dois eletrodos mergulhados na amostra de vinho em análise. Um eletrodo de referência com um potencial constante e outro de medida, com um potencial determinado pelo pH do meio.

### Material e equipamento

- Medidor de pH de leitura digital com precisão de 0,01 unidades.
- Eletrodos de vidro – em geral são utilizados combinados, por conterem em uma só peça o eletrodo de medida e o de referência. Deverão ser conservados submersos em solução de cloreto de potássio 3M.
- Termômetro de 0 °C a 50 °C.

## Reagentes

- Solução tampão de pH 3,0.
- Solução tampão de pH 4,0, ou uma solução saturada de tartarato ácido de potássio ( $5,7 \text{ g L}^{-1}$ ) com pH de 3,57 a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  e pH 3,56 a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## Procedimento

O aparelho deve ser calibrado com soluções tampão à temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Mergulhar o eletrodo na solução tampão de pH 4,0 e, com o comando correspondente de calibração, situar o valor de pH do padrão no visor do aparelho.

Mergulhar o eletrodo na solução tampão de pH 3,0 e comprovar se o medidor indica corretamente esse valor; caso contrário, com o comando correspondente de calibração, situar o valor de pH do padrão no visor do aparelho.

Efetuar as operações de calibração até quando as leituras no visor corresponderem aos valores dos padrões.

Lavar novamente o eletrodo com água destilada. Introduzir o eletrodo na amostra até a altura aproximada de 1 cm acima do diafragma.

Aguardar a estabilização do aparelho e anotar a leitura que indicará o pH da amostra de vinho.

Lavar o eletrodo com água destilada e mergulhar na solução de descanso.

## Cálculo do resultado

O resultado da leitura do pH é feita diretamente, com duas casas decimais.



## Extrato seco (método direto)

### Definição

O extrato seco do vinho corresponde à massa do resíduo fixo obtido depois da evaporação dos compostos voláteis.

### Princípio do método

Consiste em obter o extrato seco por meio da pesagem do resíduo após a evaporação do vinho em banho-maria.

### Material e equipamento

- Estufa.
- Banho-maria.
- Dessecador com sílica gel.
- Cápsulas de níquel cilíndricas de fundo chato com 55 mm de diâmetro e 25 mm de altura.
- Balança analítica.
- Pipeta volumétrica de 25 mL.

### Procedimento

Levar a cápsula de níquel de tamanho oficial e limpa à estufa a 105 °C por uma hora. Deixar esfriar no dessecador, pesar a cápsula na balança analítica e anotar o peso. Pipetar 25 mL de vinho e transferir para a cápsula de níquel, evaporar por três horas em banho-maria, tendo o cuidado que o nível da água fique 4 cm abaixo do fundo da cápsula e que a mesma tape perfeitamente a perfuração do banho-maria. Deixar esfriar no dessecador, pesar e anotar o resultado.

## Cálculo e resultado

$$\text{Extrato seco (g L}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Peso final da cápsula (g)} - \text{Peso inicial (g)}}{\text{Volume da amostra (mL)}} \times 1.000$$

## Extrato seco (método indireto)

### Definição

O extrato seco do vinho corresponde ao conjunto de todas as substâncias que não se volatilizam em determinadas condições físicas. Os componentes desse extrato devem sofrer o mínimo de alterações possível.

### Princípio do método

O extrato seco é calculado indiretamente a partir do valor da densidade do resíduo sem álcool, vinho cujo álcool foi eliminado e cujo volume foi reconduzido ao valor inicial, com água. O extrato seco assim obtido corresponde à quantidade de sacarose, que, dissolvida numa quantidade de água suficiente para um litro, corresponde a uma solução de mesma densidade que o resíduo sem álcool. Essa quantidade é fornecida pela Tabela 2.

### Procedimento

Determinar o conteúdo de álcool do vinho por destilação usando a Tabela 1 (álcool/densidade). Anotar o valor encontrado, na mesma tabela da densidade relativa de uma solução hidroalcoólica de etanol com a mesma concentração de etanol no vinho.

**Tabela 2.** Tabela de Ackermann para o cálculo do extrato seco ( $\text{g L}^{-1}$ ) em vinhos secos.

Densidade <sup>(1)</sup>	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco
1,0040	9,6	1,0068	16,3	1,0096	23,0	1,0124	30,0	1,0152	36,5
1,0041	9,8	1,0069	16,6	1,0097	23,3	1,0125	30,0	1,0153	36,7
1,0042	10,1	1,0070	16,8	1,0098	23,5	1,0126	30,2	1,0154	37,0
1,0043	10,3	1,0071	17,0	1,0099	23,8	1,0127	30,5	1,0155	37,2
1,0044	10,6	1,0072	17,3	1,0100	24,0	1,0128	30,7	1,0156	37,4
1,0045	10,8	1,0073	17,5	1,0101	24,2	1,0129	31,0	1,0157	37,7
1,0046	11,0	1,0074	17,8	1,0102	24,5	1,0130	31,2	1,0158	37,9
1,0047	11,3	1,0075	18,0	1,0103	24,7	1,0131	31,4	1,0159	38,2
1,0048	11,5	1,0076	18,2	1,0104	25,0	1,0132	31,7	1,0160	38,5
1,0049	11,8	1,0077	18,5	1,0105	25,2	1,0133	31,9	1,0161	38,8
1,0050	12,0	1,0078	18,7	1,0106	25,4	1,0134	32,2	1,0162	39,1
1,0051	12,2	1,0079	19,0	1,0107	25,7	1,0135	32,4	1,0163	39,4
1,0052	12,5	1,0080	19,2	1,0108	25,9	1,0136	32,6	1,0164	39,7
1,0053	12,7	1,0081	19,4	1,0109	26,2	1,0137	32,9	1,0165	40,0
1,0054	13,0	1,0082	19,7	1,0110	26,4	1,0138	33,1	1,0166	40,2
1,0055	13,2	1,0083	19,9	1,0111	26,6	1,0139	33,4	1,0167	40,5
1,0056	13,4	1,0084	20,2	1,0112	26,9	1,0140	33,6	1,0168	40,8
1,0057	13,7	1,0085	20,4	1,0113	27,1	1,0141	33,8	1,0169	41,1
1,0058	13,9	1,0086	20,6	1,0114	27,4	1,0142	34,1	1,0170	41,4
1,0059	14,2	1,0087	20,9	1,0115	27,6	1,0143	34,3	1,0171	41,7
1,0060	14,4	1,0088	21,1	1,0116	27,8	1,0144	34,6	1,0172	42,0
1,0061	14,6	1,0089	21,4	1,0117	28,1	1,0145	34,8	1,0173	42,3
1,0062	14,9	1,0090	21,6	1,0118	28,3	1,0146	35,0	1,0174	42,5
1,0063	15,1	1,0091	21,8	1,0119	28,6	1,0147	35,3	1,0175	42,9
1,0064	15,4	1,0092	22,1	1,0120	28,8	1,0148	35,5	1,0176	43,1
1,0065	15,6	1,0093	22,3	1,0121	29,0	1,0149	35,8	1,0177	43,4
1,0066	15,8	1,0094	22,6	1,0122	29,3	1,0150	36,0	1,0178	43,7
1,0067	16,1	1,0095	22,8	1,0123	29,5	1,0151	36,2	1,0179	44,0

Continua...

**Tabela 2.** Continuação.

Densidade <sup>(1)</sup>	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco
1,0180	44,3	1,0194	48,4	1,0208	52,4	1,0222	56,5	1,0236	60,6
1,0181	44,6	1,0195	48,7	1,0209	52,7	1,0223	56,8	1,0237	60,8
1,0182	44,9	1,0196	48,9	1,0210	53,0	1,0224	57,1	1,0238	61,1
1,0183	45,2	1,0197	49,2	1,0211	53,3	1,0225	57,4	1,0239	61,4
1,0184	45,5	1,0198	49,5	1,0212	53,6	1,0226	57,6	1,0240	61,7
1,0185	45,8	1,0199	49,8	1,0213	53,9	1,0227	57,9	1,0241	62,0
1,0186	46,0	1,0200	50,1	1,0214	54,2	1,0228	58,2	1,0242	62,3
1,0187	46,3	1,0201	50,4	1,0215	54,4	1,0229	58,5	1,0243	62,6
1,0188	46,6	1,0202	50,7	1,0216	54,7	1,0230	58,8	1,0244	62,9
1,0189	46,9	1,0203	51,0	1,0217	55,0	1,0231	59,1	1,0245	63,2
1,0190	47,2	1,0204	51,3	1,0218	55,3	1,0232	59,4	1,0246	63,4
1,0191	47,5	1,0205	51,6	1,0219	55,6	1,0233	59,7	1,0247	63,7
1,0192	47,8	1,0206	51,8	1,0220	55,9	1,0234	60,0	1,0248	64,0
1,0193	48,1	1,0207	52,1	1,0221	56,2	1,0235	60,3	1,0249	64,3

<sup>(1)</sup> Densidade do vinho em g mL<sup>-1</sup> a 20 °C.  
 Fonte: Garoglio (1953).

Determinar a densidade relativa do vinho a 20 °C utilizando um densímetro ou o densímetro Anton Paar DMA 45.

Calcular a densidade do resíduo pela fórmula de Tabarié.

Converter os valores da densidade do resíduo sem álcool da destilação (dr) para a quantidade de extrato seco (g L<sup>-1</sup>) com auxílio das Tabelas 2 e 3 (extrato/densidade).

**Tabela 3.** Tabela de Windisch para o cálculo do extrato seco ( $\text{g L}^{-1}$ ) em vinhos suaves.

Densidade <sup>(1)</sup>	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco
1,0040	10,3	1,0068	17,6	1,0096	24,8	1,0124	32,0	1,0152	39,3
1,0041	10,5	1,0069	17,8	1,0097	25,0	1,0125	32,3	1,0153	39,5
1,0042	10,8	1,0070	18,1	1,0098	25,3	1,0126	32,6	1,0154	39,8
1,0043	11,1	1,0071	18,3	1,0099	25,6	1,0127	32,8	1,0155	40,0
1,0044	11,3	1,0072	18,6	1,0100	25,8	1,0128	33,1	1,0156	40,3
1,0045	11,6	1,0073	18,8	1,0101	26,1	1,0129	33,3	1,0157	40,6
1,0046	11,8	1,0074	19,1	1,0102	26,3	1,0130	33,6	1,0158	40,8
1,0047	12,1	1,0075	19,4	1,0103	26,6	1,0131	33,8	1,0159	41,1
1,0048	12,4	1,0076	19,6	1,0104	26,9	1,0132	34,1	1,0160	41,3
1,0049	12,6	1,0077	19,9	1,0105	27,1	1,0133	34,3	1,0161	41,6
1,0050	12,9	1,0078	20,1	1,0106	27,4	1,0134	34,6	1,0162	41,9
1,0051	13,2	1,0079	20,4	1,0107	27,6	1,0135	34,9	1,0163	42,1
1,0052	13,4	1,0080	20,7	1,0108	27,9	1,0136	35,1	1,0164	42,4
1,0053	13,7	1,0081	20,9	1,0109	28,2	1,0137	35,4	1,0165	42,6
1,0054	13,9	1,0082	21,2	1,0110	28,4	1,0138	35,6	1,0166	42,9
1,0055	14,2	1,0083	21,4	1,0111	28,7	1,0139	35,9	1,0167	43,1
1,0056	14,5	1,0084	21,7	1,0112	28,9	1,0140	36,2	1,0168	43,4
1,0057	14,7	1,0085	21,9	1,0113	29,2	1,0141	36,4	1,0169	43,7
1,0058	15,0	1,0086	22,2	1,0114	29,4	1,0142	36,7	1,0170	43,9
1,0059	15,2	1,0087	22,5	1,0115	29,7	1,0143	36,9	1,0171	44,2
1,0060	15,5	1,0088	22,7	1,0116	30,0	1,0144	37,2	1,0172	44,4
1,0061	15,7	1,0089	23,0	1,0117	30,2	1,0145	37,5	1,0173	44,7
1,0062	16,0	1,0090	23,2	1,0118	30,5	1,0146	37,7	1,0174	45,0
1,0063	16,3	1,0091	23,5	1,0119	30,7	1,0147	38,0	1,0175	45,2
1,0064	16,5	1,0092	23,8	1,0120	31,0	1,0148	38,2	1,0176	45,5
1,0065	16,8	1,0093	24,0	1,0121	31,2	1,0149	38,5	1,0177	45,7
1,0066	17,0	1,0094	24,3	1,0122	31,5	1,0150	38,7	1,0178	46,0
1,0067	17,3	1,0095	24,5	1,0123	31,3	1,0151	39,0	1,0179	46,3

Continua...

**Tabela 3.** Continuação.

Densidade <sup>(1)</sup>	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco	Densidade	Extrato seco
1,0180	46,5	1,0194	50,1	1,0208	53,8	1,0222	57,4	1,0236	61,0
1,0181	46,8	1,0195	50,4	1,0209	54,0	1,0223	57,7	1,0237	61,2
1,0182	47,0	1,0196	50,6	1,0210	54,3	1,0224	57,9	1,0238	61,5
1,0183	47,3	1,0197	50,9	1,0211	54,5	1,0225	58,2	1,0239	61,8
1,0184	47,5	1,0198	51,1	1,0212	54,8	1,0226	58,4	1,0240	62,0
1,0185	47,8	1,0199	51,4	1,0213	55,1	1,0227	58,7	1,0241	62,3
1,0186	48,1	1,0200	51,7	1,0214	55,3	1,0228	58,9	1,0242	62,5
1,0187	48,3	1,0201	51,9	1,0215	55,6	1,0229	59,2	1,0243	62,8
1,0188	48,6	1,0202	52,2	1,0216	55,8	1,0230	59,4	1,0244	63,1
1,0189	48,8	1,0203	52,5	1,0217	56,1	1,0231	59,7	1,0245	63,3
1,0190	49,1	1,0204	52,7	1,0218	56,4	1,0232	60,0	1,0246	63,6
1,0191	49,4	1,0205	53,0	1,0219	56,6	1,0233	60,2	1,0247	63,8
1,0192	49,6	1,0206	53,2	1,0220	56,9	1,0234	60,5	1,0248	64,1
1,0193	49,9	1,0207	53,5	1,0221	57,1	1,0235	60,7	1,0249	64,4

<sup>(1)</sup> Densidade do vinho em g mL<sup>-1</sup> a 20 °C.

Fonte: Garoglio (1953).

## Cálculo e resultado

A densidade do resíduo sem álcool a 20/20 (dr) é calculada pela fórmula de Tabarié:

$$dr = dv - da + 1.000$$

onde:

*dv* = densidade relativa do vinho a 20 °C obtida por meio do densímetro Anton Paar DMA 45

*da* = densidade a 20 °C da mistura hidroalcoólica, (com o mesmo grau do vinho) – esse valor é obtido na Tabela 1, indicada no procedimento do teor alcoólico do vinho.

## Extrato seco reduzido

### Definição

O extrato seco reduzido corresponde ao extrato seco menos os açúcares totais excedentes de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , o sulfato de potássio quando excedente de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , cloreto de sódio quando excedente de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$ , o manitol quando presente e todas as substâncias químicas eventualmente adicionadas ao vinho.

### Cálculo do resultado

O extrato seco reduzido é determinado pela fórmula:

$$\text{Extrato seco reduzido (g L}^{-1}\text{)} = \text{Extrato seco (g L}^{-1}\text{)} - [\text{Açúcares totais (g L}^{-1}\text{)} - 1,0]$$

## Relação álcool em peso/extrato seco reduzido

### Definição

A relação álcool em peso/extrato seco reduzido representa a relação entre os compostos voláteis representado pelo álcool e pelos compostos fixos – representados pelo extrato seco reduzido – do vinho. Essa relação contribui para indicar o excesso de chaptalização efetuado no vinho. A legislação brasileira estabelece valores máximos dessa relação para os diferentes tipos de vinho:

#### Vinho de mesa

Tinto	-4,8
Rosado	-6,0
Branco	-6,5

#### Vinho fino

Tinto	-5,2
Rosado	-6,5
Branco	-6,7

A relação álcool em peso/extrato seco reduzido é determinada pela fórmula:

$$\frac{\text{Álcool (\% v/v)} \times 8}{\text{Extrato seco reduzido}}$$

## Açúcares redutores

### Definição

Açúcares redutores são aqueles que, quando aquecidos em meio alcalino e na presença de minerais – geralmente o cobre –, têm a propriedade de reduzir esses metais.

### Princípio do método

Reação do açúcar contido no vinho com o cobre presente em uma solução cuproalcalina. Os íons cúpricos em excesso são determinados por iodometria.

### Material e equipamento

- Erlenmeyer de 250 mL.
- Bureta graduada de 25 mL.
- Copo de béquer.
- Funil de vidro.
- Bico de Bunsen.
- Balão volumétrico de 100 mL.
- Pipetas volumétricas de 2 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL e 50 mL.



## Reagentes

- Fehling A – diluir 69,3 g de sulfato de cobre penta-hidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) num balão volumétrico de 1 L, com água destilada.
- Fehling B – diluir 346 g de sal de Seignette (tartarato duplo de sódio e potássio) e 103 g de hidróxido de sódio num balão volumétrico de 1 L, com água destilada.
- Solução de iodeto de potássio a 30%.
- Solução de ácido sulfúrico ( $D=1,84$ ) a 17%.
- Solução de tiosulfato de sódio 0,1 N.
- Solução de amido a 1%.

## Procedimento

Num erlenmeyer de 250 mL, adicionar 10 mL de Fehling A, 10 mL de Fehling B e 20 mL do vinho previamente diluído conforme a Tabela 4.

Colocar sobre o erlenmeyer um funil de vidro para refrigeração em refluxo, aquecer até a fervura sobre tela de amianto e prolongar por mais dois minutos. Esfriar a solução até no mínimo 15 °C.

Adicionar 3 mL de iodeto de potássio a 30%, 10 mL de ácido sulfúrico a 17% e lavar as paredes do erlenmeyer com água destilada. Titular com tiosulfato de sódio 0,1 N, utilizando como indicador 2 mL de amido a 1%, que forma um complexo de cor lilás e que passa para uma coloração esbranquiçada no momento da viragem, anotando os mililitros gastos ( $n'$ ).

O amido deve ser adicionado quando o meio é suficientemente pobre em iodo (no final da reação), uma vez que com o excesso de iodo forma um complexo irreversível que consome iodo e torna a viragem menos nítida.

**Tabela 4.** Fator de diluição do vinho ou mosto para determinação do açúcar.

Açúcar (g L <sup>-1</sup> )	Amostra (mL)	Volume final (mL)	Fator para multiplicação
9,0	50	100	1
18,0	25	100	2
45,0	10	100	5
90,0	5	100	10
180,0	2,5	100	20
450,0	2,5	250	50

Fonte: Meyer e Leygue-Alba (1991).

Para determinar a quantidade de íons de Cu<sup>++</sup> existentes na solução cuproalcalina, procede-se da mesma forma, substituindo a amostra do vinho diluída por água destilada, anotando os mililitros de tiosulfato de sódio gastos (n).

### Cálculo do resultado

O teor de açúcares redutores totais é expresso em g L<sup>-1</sup> e corresponde à diferença entre o número de mililitros gasto com a titulação da amostra (n') e aquele gasto com a titulação do branco (n), fornecido pela Tabela 5.

**Tabela 5.** Correspondência entre o volume de solução de tiosulfato de sódio 0,1 N (n - n') e a quantidade de açúcares redutores em g L<sup>-1</sup>.

Volume gasto (mL) (n - n')	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	0,00	0,04	0,08	0,12	0,16	0,20	0,24	0,27	0,31	0,34
1	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,54	0,58	0,61	0,65	0,68

Continua...

**Tabela 5.** Continuação.

<b>Volume gasto (mL) (n - n')</b>	<b>0,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>	<b>0,8</b>	<b>0,9</b>
2	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,92	0,95	0,98	1,02
3	1,05	1,09	1,12	1,15	1,19	1,22	1,26	1,29	1,32	1,36
4	1,39	1,43	1,46	1,49	1,53	1,56	1,60	1,63	1,66	1,70
5	1,73	1,76	1,79	1,83	1,87	1,90	1,93	1,96	2,00	2,03
6	2,06	2,10	2,14	2,17	2,21	2,24	2,27	2,31	2,34	2,37
7	2,40	2,44	2,48	2,51	2,54	2,57	2,61	2,65	2,68	2,71
8	2,74	2,78	2,81	2,84	2,88	2,91	2,95	2,99	3,02	3,05
9	3,08	3,12	3,16	3,19	3,23	3,26	3,30	3,34	3,37	3,41
10	3,44	3,47	3,51	3,54	3,58	3,62	3,65	3,69	3,72	3,76
11	3,80	3,83	3,87	3,90	3,93	3,97	4,00	4,04	4,07	4,11
12	4,15	4,18	4,22	4,25	4,29	4,32	4,35	4,39	4,42	4,46
13	4,50	4,53	4,57	4,60	4,64	4,68	4,71	4,75	4,78	4,81
14	4,85	4,88	4,92	4,96	4,99	5,03	5,06	5,10	5,14	5,17
15	5,21	5,25	5,29	5,33	5,36	5,40	5,43	5,47	5,51	5,54
16	5,58	5,61	5,65	5,69	5,72	5,76	5,79	5,83	5,87	5,91
17	5,95	5,98	6,02	6,06	6,09	6,13	6,16	6,20	6,24	6,27
18	6,31	6,34	6,38	6,42	6,45	6,49	6,53	6,57	6,61	6,64
19	6,68	6,72	6,75	6,79	6,82	6,86	6,90	6,93	6,97	7,00
20	7,04	7,08	7,11	7,15	7,19	7,23	7,27	7,30	7,34	7,37
21	7,41	7,45	7,48	7,52	7,56	7,60	7,64	7,68	7,72	7,76
22	7,80	7,84	7,88	7,92	7,95	7,99	8,03	8,07	8,11	8,15
23	8,19	8,23	8,27	8,31	8,35	8,39	8,43	8,47	8,51	8,55
24	8,59	8,63	8,66	8,70	8,74	8,78	8,82	8,86	8,90	8,94
25	8,98	9,01	9,05	9,09	9,12	9,16	9,19	9,23	9,27	9,31

## Cinzas

### Definição

As cinzas correspondem ao resíduo da incineração do extrato seco do vinho.

### Princípio do método

Incineração do extrato do vinho numa temperatura de 500 °C a 550 °C, até a combustão completa do carbono.

### Material e equipamento

- Cápsula de platina de 70 mm de diâmetro e 25 mm de altura de fundo chato.
- Pipeta volumétrica de 20 mL.
- Bastão de vidro.
- Chapa aquecedora ou banho-maria.
- Dessecador com sílica gel.
- Balança analítica.
- Bico de Bunsen.
- Mufla.

### Procedimento

Aquecer a cápsula de platina a aproximadamente 600 °C durante alguns minutos, resfriar no dessecador e pesar. Pipetar 20 mL da amostra na cápsula e evaporar até secar no banho-maria ou na chapa aquecedora. Queimar em bico de Bunsen e passar a cápsula para a mufla a  $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$  até que o resíduo fique branco. Caso depois de três horas as cinzas ainda não estejam brancas, umedecer com algumas gotas de

água destilada as partes ainda escuras e quebrar a crosta com um bastão de vidro, tomando o cuidado de lavar o bastão com algumas gotas de água destilada, levar a cápsula ao banho-maria ou à placa aquecedora até secar e colocar novamente na mufla até o resíduo ficar completamente branco. Esfriar a cápsula no dessecador e pesar rapidamente numa balança de precisão.

Normalmente as cinzas dos vinhos são brancas ou acinzentadas. O aparecimento de uma coloração verde que passa à vermelha com a adição de um ácido indica presença de manganês em teor elevado. A cor amarelada das cinzas é um indicativo de teor elevado de ferro.

### Cálculo do resultado

As cinzas são expressas em g L<sup>-1</sup> de amostra pela fórmula:

$$\text{Cinzas (g L}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Peso final da cápsula (g)} - \text{Peso inicial da cápsula (g)}}{\text{Volume da amostra (mL)}} \times 1.000$$

## Alcalinidade das cinzas

### Definição

A alcalinidade das cinzas representa o grau de salificação dos ácidos orgânicos do vinho.

### Princípio do método

O método baseia-se na titulação do excesso de ácido sulfúrico adicionado às cinzas do vinho pelo hidróxido de sódio, empregando o alaranjado de metila como indicador.

## Material e equipamento

- Cápsula de platina.
- Bureta de 25 mL.
- Pipeta volumétrica de 10 mL.
- Bastão de vidro.
- Banho-maria.

## Reagentes

- Solução padrão de ácido sulfúrico 0,1 N.
- Solução padrão de hidróxido de sódio 0,1 N.
- Alaranjado de metila a 0,2% em água destilada.

## Procedimento

Adicionar 10 mL de ácido sulfúrico 0,1 N na cápsula onde foram depositadas as cinzas de 20 mL do vinho, aquecer ligeiramente no banho-maria para favorecer o ataque do ácido e desprender o gás carbônico. Homogeneizar com o auxílio de um bastão de vidro e passar o líquido para um erlenmeyer, evitando perdas.

Adicionar algumas gotas da solução de alaranjado de metila como indicador e titular o excesso de ácido com o hidróxido de sódio 0,1 N. A cor vai do vermelho ao amarelo, atingindo pH 4,0.

## Cálculo do resultado

O valor da alcalinidade das cinzas em meq L<sup>-1</sup> é obtido por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Alcalinidade das cinzas (meq L}^{-1}\text{)} = \frac{V_1N_1 - V_2N_2}{V} \times 1.000$$

onde:

$V_1$  = volume do ácido sulfúrico adicionado, em mL

$N_1$  = normalidade do ácido sulfúrico

$V_2$  = volume da solução de hidróxido de sódio utilizado na titulação em mL

$N_2$  = normalidade da solução de hidróxido de sódio

$V$  = volume da amostra utilizada para a determinação das cinzas, em mL.

A alcalinidade das cinzas do vinho pode ser expressa também em g L<sup>-1</sup> de carbonato de potássio (CO<sub>3</sub>K<sub>2</sub>=138).

A transformação é feita facilmente considerando que 1 meq corresponde a 69 mg de carbonato de potássio.

## Nitrogênio total

### Definição

No vinho se encontra normalmente de 1 g L<sup>-1</sup> a 4 g L<sup>-1</sup> de substâncias nitrogenadas, que participam da estabilidade, da limpidez e, também, do valor nutricional do mesmo. O nitrogênio se encontra principalmente nas formas de proteína, polipeptídeo, aminoácido e amônia. As substâncias nitrogenadas podem representar até 20% do teor de extrato seco do vinho.

## Princípio do método

O nitrogênio é mineralizado por meio do ácido sulfúrico, destilado na forma de amônia e titulado por intermédio da alcalimetria.

## Material e equipamento

- Tubos de ensaio grandes.
- Pipetas de 2, 5 mL e 10 mL.
- Funis pequenos.
- Bloco digestor.
- Aparelho de destilação Kjeldahl.
- Erlenmeyer de 250 mL.
- Proveta de 100 mL.
- Bureta de 6 mL.

## Reagentes

- Ácido sulfúrico PA.
- Dióxido de selênio.
- Hidróxido de sódio 30%.
- Solução de ácido bórico.
- Ácido sulfúrico 0,01 N ou 0,05 N.

## Solução de ácido bórico

Dissolver 40 g de ácido bórico em 1.400 mL de água quente, esfriar, transferir para um balão volumétrico de 2.000 mL, contendo 400 mL de



etanol 95% e 40 mL de uma solução obtida pela dissolução de 0,660 g de verde de bromocresol e 0,330 g de vermelho de metila em 1 L de etanol 95%. Misturar as soluções no balão volumétrico e adicionar cuidadosamente NaOH 0,05 N até que se observe uma leve mudança da cor de roxa para verde-claro ao adicionar 1 mL de água destilada a 1 mL do indicador e completar o volume até 2 L com água destilada.

### Procedimento

Pipetar 2 mL da amostra nos tubos de ensaio e 4 mL de ácido sulfúrico e adicionar uma pequena quantidade de selênio (mais ou menos uma ponta de espátula). Adaptar os tubos de ensaio ao bloco digestor, colocando em cada tubo um pequeno funil, que evitará possíveis perdas. Ajustar inicialmente o bloco digestor a uma temperatura de 150 °C, que será elevada gradativamente até 380 °C, acompanhando o comportamento da amostra. Caso as paredes dos tubos fiquem com resíduos da amostra, pode-se lavá-las com algumas gotas de ácido sulfúrico. Esse processo de digestão leva aproximadamente três horas. A amostra digerida apresentará uma coloração levemente amarelada que se tornará incolor ao esfriar. Com a amostra previamente digerida procede-se a uma destilação, à qual são adicionados 5 mL de água destilada, 5 a 6 gotas de fenoltaleína e NaOH 30% até neutralizar a amostra (aproximadamente 20 mL). Recolher 50 mL do destilado em erlenmeyer contendo 10 mL da solução de ácido bórico. Proceder a uma titulação do destilado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 N ou 0,05 N.

### Cálculo do resultado

$$N \text{ total (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times N \times 14 \times 1.000}{V}$$

onde:

$n$  = volume do  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gasto

$N$  = normalidade do  $\text{H}_2\text{SO}_4$

$V$  = volume da amostra analisada.

## Cloretos

### Definição

O teor de cloretos nos vinhos é muito variável, normalmente inferior a  $50 \text{ mg L}^{-1}$ . Os vinhos obtidos de vinhedos situados mais próximos do mar apresentam teores mais elevados. O teor de cloretos nos vinhos pode aumentar em função de colagens realizadas, ou também em virtude da adição de ácido clorídrico – que não é permitida.

### Princípio do método

Todos os métodos utilizam o nitrato de prata como reagente, somente o modo operatório e a depuração da amostra que difere. A matéria orgânica da amostra é eliminada pelo permanganato de potássio e pelo ácido nítrico. Os cloretos são, inicialmente, precipitados pelo excesso de uma solução titulada de nitrato de prata. Esse excesso de nitrato de prata é, em seguida, determinado pelo tiocianato de potássio em presença de íons férricos, que apresentam a propriedade de formar um complexo vermelho que indica o ponto de viragem.

### Material

- Balão volumétrico de 200 mL.
- Pipeta volumétrica de 100 mL.

- Pipetas de 2 mL, 5 mL, 10 mL e 20 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL.
- Papel de filtro e funil.
- Bureta de 10 mL.

### Reagentes

- Solução saturada de permanganato de potássio a 6,5%.
- Solução de nitrato de prata 0,1 N.
- Solução de ácido nítrico a 20%.
- Solução de tiocianato de potássio 0,1 N.
- Solução de nitrato férrico a 10%.
- Solução de hidróxido de bário a 5%.
- Fenolftaleína a 1% como indicador.
- Éter etílico.
- Solução de peridrol a 3% (água oxigenada a 30 volumes).

### Procedimento

Colocar 100 mL da amostra de vinho num balão volumétrico de 200 mL. Neutralizar com a solução saturada de hidróxido de bário em presença de fenolftaleína. Completar o volume com água destilada, agitar e filtrar em papel de filtro. Transferir 100 mL do líquido filtrado (correspondente a 50 mL da amostra) para um erlenmeyer e adicionar 20 mL de ácido nítrico e 2 mL de solução saturada de permanganato de potássio. Agitar e deixar em repouso alguns minutos até o desaparecimento

da cor violeta. Caso o líquido não se torne claro, juntar algumas gotas de água oxigenada até o desaparecimento completo da cor. No caso de amostras de coloração intensa, repetir o tratamento, adicionando-se ainda alguns mililitros de permanganato de potássio e algumas gotas da solução de água oxigenada, até completa clarificação. No líquido assim preparado, acrescentar 5 mL de solução de nitrato férrico – indicador – e 10 mL de éter etílico e 5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N. Essa quantidade é suficiente, desde que o vinho contenha menos de 500 mg L<sup>-1</sup> de cloreto de sódio. Medir o excesso de nitrato de prata por meio da solução de tiocianato de potássio 0,1 N até o aparecimento da cor tijolo-claro, que deve durar, no mínimo, cinco segundos. O número (n) de mililitros de tiocianato de potássio gasto deve ser anotado.

### Cálculo do resultado

A quantidade de cloreto de sódio em g L<sup>-1</sup> é obtida por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Cloreto de sódio (g L}^{-1}\text{)} = \frac{(V_1N_1 - V_2N_2) \times (P)}{V} \times 1.000$$

onde:

$V_1$  = volume adicionado de nitrato de prata, em mL

$N_1$  = normalidade da solução de nitrato de prata

$V_2$  = volume de tiocianato de potássio utilizado na titulação, em mL

$N_2$  = normalidade da solução de tiocianato de potássio

$P$  = peso molecular do cloreto de sódio (58,5)

$V$  = volume da amostra.

## Sulfatos

### Definição

Os sulfatos são ânions minerais, sempre presentes nos vinhos e provenientes da própria uva como constituinte normal e da oxidação do ácido sulfuroso, assumindo maior importância nos vinhos fortemente sulfitados e submetidos depois a arejamentos. Nesse sentido, o teor de sulfatos aumenta progressivamente durante a conservação do vinho.

Outra eventual causa de incorporação de sulfato no vinho consiste na aplicação do gesso ( $\text{CaSO}_4$ ) para a correção da acidez. A adição de ácido sulfúrico é rigorosamente proibida.

### Princípio do método

Trata-se de método gravimétrico baseado na precipitação do sulfato de bário da amostra, por meio de uma solução de bário de concentração conhecida, com eliminação prévia do dióxido de enxofre por ebulição ao abrigo do ar.

### Material e equipamento

- Banho-maria.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas volumétricas e graduadas de 1 mL, 5 mL e 10 mL.
- Funil de vidro.
- Papel de filtro.

### Reagentes

- Licor de Marthy – pesar 2,804 g de cloreto de bário ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), diluir em um balão volumétrico de 1 L com 10 mL de ácido

clorídrico; completar o volume com água destilada. Cada mL do licor de Marthy assim preparado precipita 0,2 g de sulfato de potássio.

- Solução de cloreto de bário a 10%.
- Solução de ácido sulfúrico 1 N.

## Procedimento

Em três tubos de ensaio colocar 10 mL de vinho para análise; aquecer em banho-maria para eliminar o ácido acético e o dióxido de enxofre e resfriar; no primeiro tubo adicionar 3,5 mL, no segundo tubo, 5,0 mL, e no terceiro tubo, 7,5 mL da solução de Licor de Marthy. Agitar os tubos e novamente aquecer em banho-maria durante 30 minutos e deixar repousar por uma hora. O líquido de cada tubo, depois de decantado, é filtrado e dividido em duas partes. Em um dos tubos adicionar 1 mL de ácido sulfúrico 1 N e no outro, 1 mL da solução de cloreto de bário a 10%. Observar os tubos e avaliar os resultados, concluindo-se da seguinte forma quanto ao teor de sulfatos da amostra em relação à limpidez ou à turvação de cada tubo, considerando a Tabela 6.

**Tabela 6.** Teor de sulfatos do vinho.

Ensaio	Vinho (mL)	Adição de		Conclusão
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	BaCl <sub>2</sub>	
3,5 mL de Licor de Marthy	10	Turvo	Límpido	<0,7 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		Límpido	Turvo	>0,7 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
5,0 mL de Licor de Marthy	10	Turvo	Límpido	<1,0 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		Límpido	Turvo	>1,0 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
7,5 mL de Licor de Marthy	10	Turvo	Límpido	<1,5 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		Límpido	Turvo	>1,5 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

## Cromatografia de papel do ácido málico do vinho

### Definição

Trata-se de uma avaliação semiquantitativa para acompanhar a realização da fermentação malolática nos vinhos. Por meio da cromatografia de papel é possível separar os ácidos tartárico, málico e láctico do vinho.

### Princípio do método

Os principais ácidos orgânicos do vinho (tartárico, málico, láctico e succínico) migram originando distâncias diferentes, o que permite a sua identificação qualitativa.

### Material e equipamento

- Papel Watman nº 1.
- Cuba para cromatografia.
- Micropipeta.
- Proveta.
- Balão volumétrico.
- Pipetas.
- Copos de béquer de 50 mL.

### Reagentes

- Butanol.
- Azul de bromofenol: 1 g L<sup>-1</sup> diluído com butanol.

- Ácido acético a 50%.
- Ácido málico: 2 g L<sup>-1</sup> numa solução hidroalcoólica a 10%.

### **Solução reveladora**

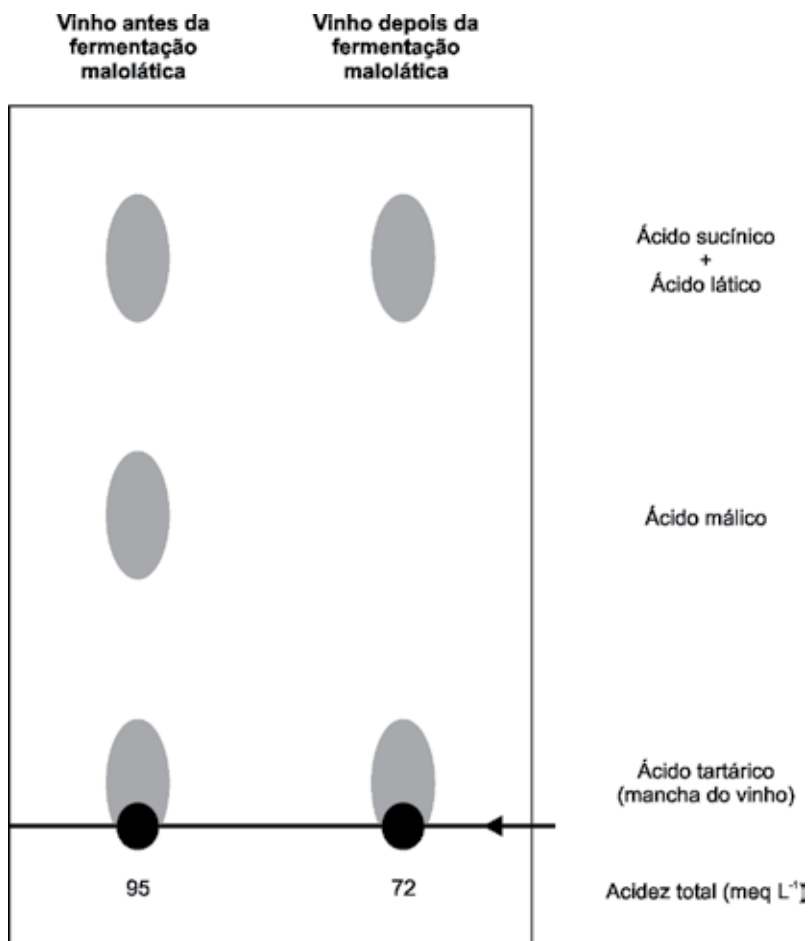
A solução utilizada para revelação é preparada misturando 50 mL de butanol com azul de bromofenol e 20 mL de ácido acético a 50% numa proveta graduada.

### **Procedimento**

Pegar uma folha de papel Watman número 1, de aproximadamente 20 cm de largura e cuja altura deve ser um pouco menor que a altura da cuba utilizada para cromatografia. Traça-se uma linha com lápis a 4 cm da borda inferior, na qual serão marcados os pontos a cada 3 cm de distância, onde deverá ser aplicada a solução padrão e as amostras de vinho a serem analisadas. Com uma micropipeta, coloca-se 0,2 mL da amostra. No caso dos vinhos que apresentem pouco ácido málico, para melhorar a sensibilidade, recomenda-se dobrar o volume. Deixar secar e colocar no recipiente a ser utilizado para cromatografia, que já recebeu previamente o volume da solução reveladora. O papel normalmente é disposto de forma cilíndrica, preso nas duas extremidades com dois grampos de alumínio, tendo o cuidado de não encostar as duas bordas do papel. Durante o tempo da cromatografia, o recipiente (cuba) deve permanecer hermeticamente fechado. Logo que a linha do solvente chegar a aproximadamente 1 cm da borda superior da folha de papel, o que demora geralmente 3 horas, a folha é retirada do frasco e suspensa num local arejado seco e sem fumaça de vapores ácidos. Pode-se utilizar um ventilador para acelerar a evaporação. À medida que o papel seca, a cor passa do amarelo ao verde e, depois, ao azul, com manchas amarelas que correspondem aos ácidos orgânicos. Os ácidos



se separam na seguinte ordem: o ácido tartárico corresponde à primeira mancha mais baixa, o ácido málico, à mancha intermediária, e, depois, na parte superior, aparecem os ácidos lático e succínico (Figura 1).



**Figura 1.** Separação dos ácidos orgânicos do vinho por meio da cromatografia de papel.

Fonte: Ribéreau-Gayon et al. (1998).

## Presença de híbridos em vinhos tintos de *Vitis vinifera*

### Definição

O método permite detectar a presença de diglicosídeos de malvidina em vinhos tintos. Esses componentes estariam presentes somente nos vinhos elaborados com uvas de espécies americanas (*Vitis labrusca*, *V. riparia*, *V. rupestris*).

O caráter “presença de diglicosídeos” se transmite de forma dominante por ocasião dos cruzamentos, enquanto a sua ausência é um fator recessivo; por isso, é possível, depois de duas hibridações sucessivas, obter indivíduos sem essa característica.

### Princípio do método

A presença de diglicosídeos é constatada por intermédio da formação de fluorescência verde em meio amoniacal, observando-se com ajuda de uma lâmpada ultravioleta (luz de Wood). Esse composto seria possivelmente uma malvona, proveniente da abertura do heterociclo das antocianinas.

### Material e equipamento

- Tubos de ensaio.
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 2 mL, 5 mL e 10 mL.
- Funis com 5 cm de diâmetro.
- Papel de filtro.
- Lâmpada ultravioleta (luz de Wood) de 365,8 nm.

## Reagentes

- Nitrito de sódio a 1%.
- Ácido clorídrico 1 N.
- Álcool amoniacal-etanol a 96% contendo 5% de hidróxido de amônio.

## Procedimento

Num tubo de ensaio, colocar 1 mL de vinho tinto ou 5 mL de vinho rosado, 1 gota de ácido clorídrico 1 N e 1 mL da solução de nitrito de sódio a 1%. Agitar e esperar dois minutos, para que a oxidação se efetue. A seguir, adicionar 10 mL de álcool amoniacal, agitar e deixar em repouso por 10 minutos.

Filtrar e repassar o líquido para outro tubo de ensaio e observar os resultados numa lâmpada ultravioleta (luz de Wood) de 365,8 nm.

## Resultado

A fluorescência verde indica sempre a presença de diglicosídeo de malvidina, característica dos vinhos de híbridos.

## Dióxido de enxofre livre

### Definição

O dióxido de enxofre livre corresponde àquele encontrado na forma de  $\text{SO}_2$  e de combinações minerais do tipo  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{HSO}_3^-$  e  $\text{SO}_3^{2-}$ .

### Princípio do método

Depois de uma acidificação enérgica, o dióxido de enxofre é oxidado diretamente pelo iodo até alcançar coloração azulada, utilizando

o amido como indicador. Para reduzir a oxidação do  $\text{SO}_2$  livre, a análise deve ser efetuada imediatamente após a abertura da garrafa.

### Material

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

### Reagentes

- Solução de iodo 0,02 N.
- Ácido sulfúrico a 60%.
- Solução de amido a 1%. Fazer uma suspensão com 10 g de amido num pouco de água fria, diluir em 800 mL de água quente, ferver por mais cinco minutos e completar o volume até 1 L, e depois filtrar.

### Procedimento

Num erlenmeyer de 250 mL de capacidade, colocar 50 mL de vinho, 2 mL de ácido sulfúrico a 60% e 2 mL da solução de amido. A seguir, titular com a solução de iodo 0,02 N até o aparecimento da cor azulada persistente. Anotar os mililitros gastos (v).

### Cálculo do resultado

A quantidade de dióxido de enxofre livre é obtida por meio da seguinte fórmula:

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

onde:

$v$  = volume de solução de iodo gasto na titulação em mL

$N$  = normalidade de solução de iodo

$V$  = volume da amostra de vinho em mL.

## Dióxido de enxofre total (Ripper)

### Definição

O dióxido de enxofre total corresponde à soma do dióxido de enxofre livre mais o combinado existente no vinho.

### Princípio do método

O dióxido de enxofre é liberado de suas combinações num meio alcalino e titulado diretamente pelo iodo, como no caso do dióxido de enxofre livre.

### Material

- Erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada.
- Bureta graduada de 25 mL.
- Pipetas volumétricas de 2 mL, 5 mL, 10 mL, 25 mL e 50 mL.

### Reagentes

- Solução de iodo 0,02 N.
- Solução de hidróxido de potássio 1 N.
- Solução de ácido sulfúrico a 20%.
- Solução de amido a 1%.

## Procedimento

Pipetar 50 mL de vinho num erlenmeyer de 250 mL, com tampa esmerilhada, adicionar 25 mL da solução de hidróxido de potássio 1 N, fechar, agitar e deixar em repouso por um período de 15 minutos. A seguir, adicionar 15 mL de ácido sulfúrico a 20% e 2 mL de amido. Titular com iodo 0,02 N e anotar os mililitros gastos ( $v$ ).

## Cálculo do resultado

A quantidade de dióxido de enxofre total é obtida por meio da seguinte fórmula:

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

onde:

$v$  = volume de solução de iodo gasto na titulação em mL

$N$  = normalidade de solução de iodo

$V$  = volume da amostra de vinho em mL.

## Dióxido de enxofre total

### Definição

O dióxido de enxofre total corresponde à soma do dióxido de enxofre livre mais o combinado existente no vinho.

### Princípio do método

A amostra previamente acidificada é destilada. O dióxido de enxofre é liberado e absorvido numa solução de iodo cujo excesso é titulado com tiocianato de potássio.

## Material e equipamento

- Aparelho de destilação.
- Bureta graduada de 25 mL.
- Pipeta volumétrica de 2,5 mL, 5 mL, 25 mL e 50 mL.
- Proveta graduada de 200 mL.
- Erlenmeyer com tampa esmerilhada de 250 mL.

## Reagentes

- Ácido clorídrico concentrado.
- Solução saturada de bicarbonato de sódio.
- Solução de iodo 0,02 N.
- Solução de tiosulfato de sódio 0,05 N.
- Solução de amido a 1% como indicador.

## Procedimento

Pipetar 50 mL da amostra no balão de destilação. Acrescentar 125 mL de água destilada, 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e 5 mL de ácido clorídrico concentrado, e conectar o balão ao destilador. Destilar uma amostra em branco da mesma maneira que a amostra, usando água destilada.

Mergulhar a extremidade inferior do condensador num erlenmeyer, contendo 25 mL de solução de iodo 0,02 N onde se recolherá aproximadamente 75 mL de destilado. Resfriar esse erlenmeyer mergulhando-o em água e gelo. No final da destilação, lavar a extremidade do tubo com água destilada.

Titular o iodo residual da amostra e do branco com solução de tiosulfato de sódio a 0,05 N, em presença de 2,5 mL da solução de amido.

### Cálculo do resultado

O dióxido de enxofre total é obtido por meio da fórmula:

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

onde:

$a$  = mililitros de tiosulfato de sódio gastos para titular o branco

$b$  = mililitros de tiosulfato de sódio gastos para titular a amostra

$N$  = normalidade do tiosulfato de sódio

$V$  = volume de amostra de vinho utilizada.





## Capítulo 3

# Colorimetria

Luiz Antenor Rizzon | Magda Beatris Gatto Salvador

Muitos métodos de análise de vinhos, aplicados na enologia, são baseados na medida quantitativa da absorção da luz por uma solução. A concentração na solução da substância absorvente é proporcional à quantidade de luz absorvida. Essas medidas são efetuadas por instrumentos denominados fotocolorímetros ou espectrofotômetros.

As radiações eletromagnéticas com comprimento de onda compreendidos entre 380 nm e 750 nm (nm = nanômetro =  $10^{-9}$  m ou  $10^{-7}$  cm) são visíveis ao olho humano. A luz visível constitui uma parcela muito pequena do espectro eletromagnético. A região do espectro cujas radiações possuem um comprimento de onda inferior a 380 nm é denominada de ultravioleta (UV). Comprimentos de onda acima de 750 nm correspondem à região do infravermelho (IR). A visão humana não detecta nenhuma dessas duas regiões do espectro.

A irradiação de uma substância por uma luz branca (luz solar) resulta, segundo a estrutura e o estado da superfície dessa substância, nas seguintes condições:

- Todas as radiações incidentes são refletidas ou difusas – a substância apresenta cor branca.
- Todas as radiações são absorvidas – a substância apresenta cor preta.

- Uma parte das radiações são absorvidas seletivamente – a substância apresenta-se colorida.

Quando uma solução aparece colorida para o olho humano, é porque a mesma absorve toda a luz incidente, com exceção do intervalo de comprimento de onda observado pela visão.

Segundo a natureza da radiação colorida, obtêm-se os espectros de absorção da luz, de tal modo que a imagem espectral pode servir para identificar uma determinada substância.

As medidas são efetuadas por meio da transmitância, que corresponde à relação existente entre a intensidade do raio de luz monocromático que incide sobre uma solução colorida e a intensidade de luz emergente, ou seja, a luz que foi absorvida. Quando a intensidade de luz incidente é igual a 100%, a intensidade de luz emergente pode ser medida como percentagem de transmitância (%T). A absorbância corresponde à relação entre intensidade de luz absorvida por uma solução corada pela redução da intensidade de luz transmitida. A medida de absorção é a absorbância (A).

Os princípios gerais da colorimetria seguem a lei de Bouguer-Lambert, que cita que “ao incidir um raio de luz sobre diversas camadas oticamente homogêneas e de espessuras conhecidas, a transmissão da luz decresce logaritmicamente com o aumento linear da espessura da camada”, e a lei de Lambert-Beer, que cita que “a absorbância é proporcional à concentração”.

## **Antocianinas**

### **Definição**

As antocianinas são os principais corantes vermelhos e azuis do reino vegetal. No meio ácido – como é o caso dos vinhos –, as antocia-

ninas são vermelhas; porém, em meio alcalino, elas adquirem cor azul ou violeta. São os compostos fenólicos responsáveis pela coloração dos vinhos tintos jovens. Esses compostos absorvem intensamente radiação na zona do espectro visível, com um máximo a 500–550 nm; no entanto, não é possível determinar sua concentração diretamente no vinho por meio de método colorimétrico, em virtude da interferência de outros compostos, especialmente os taninos.

### **Princípio do método**

A determinação das antocianinas em vinhos se baseia na diferença de coloração das antocianinas em relação ao pH, visto que a variação da intensidade corante em dois valores de pH é proporcional ao teor de antocianina.

### **Material e equipamento**

- Espectrofotômetro.
- Cubetas de quartzo com 1 cm de percurso ótico.
- Tubos de ensaio com tampa rosca.
- Pipetas de 1 mL e 10 mL.

### **Reagentes**

- Etanol com 0,1% de ácido clorídrico.
- Ácido clorídrico a 2%.
- Solução tampão de pH 3,5, preparada com fosfato dissódico 0,2 M (303,5 mL) e ácido cítrico 0,1 M (696,5 mL).

## Procedimento

Colocar em um tubo de ensaio 1 mL do vinho a se analisar, 1 mL de etanol com 0,1% de ácido clorídrico e 10 mL de ácido clorídrico a 2%.

Em um segundo tubo de ensaio, adicionar também 1 mL do vinho a se analisar, 1 mL de etanol com 0,1% de ácido clorídrico e 10 mL de solução tampão de pH 3,5.

Efetuar a leitura da absorção das amostras dos dois tubos a 520 nm, utilizando cubetas de 1 cm de percurso ótico, calibrando o aparelho com água destilada.

## Cálculo do resultado

A concentração de antocianina livre, expressa em  $\text{mg L}^{-1}$ , é obtida relacionando-se as diferenças de densidade ótica a uma curva padrão estabelecida com os valores abaixo:

$$\text{Antocianina (mg L}^{-1}\text{)} = 388 \times \Delta d$$

onde:

$\Delta d$  = diferença de leitura entre os dois tubos.

## Tanino total

### Definição

Os taninos são os compostos fenólicos responsáveis pela estrutura e pela capacidade de envelhecer dos vinhos. São formados pela combinação de vários tipos de substâncias fenólicas.

Os taninos da uva e dos vinhos são os taninos condensados, polímeros dos 3-flavanóis (catequinas) e dos 3,4-flavanodióis (proantocianidinas). É conhecida a propriedade dos taninos de se combinarem com outros polímeros, como as proteínas e os polissacarídeos, o que determina o seu poder adstringente e a sua capacidade de inibição enzimática, princípio que constitui a característica das colagens com produtos proteicos. A capacidade de combinação dos taninos com as proteínas, bem como suas propriedades, depende diretamente da natureza da polimerização, podendo variar de 2 a 10 moléculas de flavanas.

No decorrer do processo de amadurecimento do vinho tinto verifica-se um aumento progressivo da polimerização dos taninos.

### **Princípio do método**

A determinação do tanino baseia-se na propriedade das proantocianidinas monômeras ou polimerizadas de originarem antocianinas por aquecimento em meio ácido. Como essa reação apresenta um rendimento relativamente baixo, de ordem de 20%, dependendo da estrutura dos taninos e das condições da reação, é importante seguir cuidadosamente a metodologia.

O método baseia-se na transformação das leucoantocianinas em antocianinas por intermédio da hidrólise ácida.

### **Material e equipamento**

- Espectrofotômetro.
- Cubetas de quartzo com 1 cm de percurso ótico.
- Aparelho de banho-maria com aberturas adaptadas para tubos de ensaio.

- Tubos de ensaio de 20 mL com tampa esmerilhada equipadas com um sistema de vidro para refluxo.
- Pipetas de 1 mL, 2 mL, 5 mL e 10 mL.

### Reagentes

- Ácido clorídrico concentrado (12 N).
- Etanol puro para análise.

### Procedimento

Em dois tubos de ensaio, um dos quais sofrerá a hidrólise e o outro não, colocar 4 mL de vinho diluído a 2,0%, 2 mL de água destilada e 6 mL de ácido clorídrico concentrado. No tubo submetido à hidrólise, colocar gelo no aparelho de refluxo, e colocar no aparelho de banho-maria a 100 °C durante 30 minutos.

Passado esse período, deixar esfriar e adicionar 1 mL de etanol nos dois tubos.

Medir a densidade ótica dos dois tubos no espectrofotômetro a 550 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1 cm de percurso ótico, aferindo o aparelho com água destilada.

### Cálculo do resultado

A concentração de tanino total do vinho, expressa em  $\text{g L}^{-1}$ , é obtida relacionando as diferenças de densidade ótica dos dois tubos a uma curva padrão estabelecida com os volumes abaixo:

$$\text{Tanino total (g L}^{-1}\text{)} = 19,33 \times \Delta d$$

onde:

$\Delta d$  = diferença de leitura entre os dois tubos.

## Polifenóis totais (I 280)

### Definição

Os polifenóis totais correspondem ao conjunto de todos os compostos fenólicos do vinho. Trata-se de uma determinação que abrange todo o conjunto dos compostos fenólicos do vinho.

### Princípio do método

Os vinhos tintos absorvem consideravelmente radiação ultravioleta (UV) com um mínimo de 280–282 nm, essencialmente à absorção dos núcleos benzênicos, característicos dos compostos fenólicos, princípio utilizado para a determinação dos polifenóis totais, em que o resultado é expresso por um índice (I 280 nm).

### Material e equipamento

- Espectrofotômetro UV/VIS.
- Cubetas de quartzo com 1 cm de percurso ótico.
- Balão volumétrico de 100 mL.
- Pipetas de 1 mL e 10 mL.

### Procedimento

Diluir o vinho tinto na proporção de 1% com água destilada e com o auxílio de um balão volumétrico de 100 mL. Determinar a absorbância no espectrofotômetro a 280 nm, com cubeta de quartzo de 1 cm de percurso ótico e anotar o valor obtido, tendo o cuidado de zerar o aparelho com água destilada.



## **Cálculo do resultado**

O valor da absorvância obtido, multiplicado pelo fator de diluição, indica o índice de polifenóis totais. Em princípio, cada 20 unidades de polifenóis totais representam aproximadamente  $1 \text{ g L}^{-1}$  de taninos.

Por meio de diluições adequadas, o método pode ser aplicado aos vinhos brancos; no entanto, com diluições muito pequenas, é evidente a interferência de substâncias não fenólicas provocando erros na análise.

## **Cor dos vinhos**

### **Definição**

A cor do vinho corresponde à medida da radiação da energia luminosa percebida pela visão. As características cromáticas dos vinhos tintos e rosados são definidas pela intensidade corante e pela tonalidade, segundo método adotado pela Organização Internacional da Uva e do Vinho. As características cromáticas dos vinhos, por sua vez, estão relacionadas com a cromaticidade e com a luminosidade. A luminosidade corresponde à transmitância e varia na razão inversa da intensidade corante do vinho. A cromaticidade corresponde ao comprimento de onda dominante que caracteriza a tonalidade.

### **Princípio do método**

O método se baseia na absorção máxima a 520 nm apresentada pelos vinhos tintos novos, em função de sua composição antociânica, que vai se atenuando no decorrer do processo de amadurecimento/envelhecimento. Por outro lado, a absorção a 420 nm que é mínima nos vinhos tintos novos aumenta com o envelhecimento. Essas variações

mostram a evolução da cor dos vinhos tintos e constituem a base dos métodos empregados para avaliação da cor. Ademais, os vinhos tintos novos com valores elevados de pH apresentam absorvância significativa a 620 nm, característica da coloração violácea. Além dos constituintes fenólicos dos vinhos, a cor se deve também a diversos parâmetros físico-químicos, como o pH, o potencial de oxidorredução e o teor de dióxido de enxofre.

### **Material e equipamento**

- Espectrofotômetro.
- Cubetas de quartzo de 1 mm de percurso ótico para vinho tinto e 5 mm ou 10 mm para vinho rosado.

### **Procedimento**

Caso o vinho se apresente turvo, ele deve ser clarificado por meio da centrifugação e, quando tiver excesso de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), esse excesso deve ser retirado por agitação no vácuo.

Medir a absorvância diretamente no vinho com cubeta de quartzo de 1 mm de percurso ótico para vinho tinto e de 5 mm ou 10 mm no caso de vinho rosado, devendo a escolha recair para a obtenção de valores compreendidos entre 0,3 e 0,7. As leituras são efetuadas a 420 nm, 520 nm e 620 nm, tomando-se como referência a água destilada. Anotar os valores obtidos.

A diluição do vinho não é recomendável, em virtude da não proporcionalidade entre a diluição e a absorvância.

No caso dos vinhos brancos, um processo simples de definição da cor consiste na determinação da absorvância a 420 nm com uma cubeta de quartzo de 10 mm de percurso ótico, tendo a água como referência.

## Cálculo do resultado

A soma dos valores da absorvância a 420 nm, 520 nm e 620 nm corresponde à intensidade de cor do vinho:

$$\text{Intensidade de cor (I)} = 420 \text{ nm} + 520 \text{ nm} + 620 \text{ nm}$$

A relação entre os valores da absorvância a 420 nm e 520 nm representa a tonalidade do vinho:

$$\text{Tonalidade (T)} = \frac{420 \text{ nm}}{520 \text{ nm}}$$

## Prolina

### Definição

A prolina é um dos principais aminoácidos presentes nos vinhos, cujo nitrogênio geralmente não é utilizado pelas leveduras no processo fermentativo; por isso, não sofre variações acentuadas. Os vinhos tintos de algumas cultivares de viníferas se caracterizam por apresentarem teores mais elevados de prolina em relação àqueles de americanas.

### Princípio do método

A prolina existente na amostra de vinho reage em meio ácido e quente e em presença de ninidrina, originando um composto de coloração violeta, com um máximo de absorção a 517 nm, proporcional à quantidade existente na amostra.

## Material e equipamento

- Cubetas de quartzo de 10 mm de percurso ótico.
- Tubos de ensaio de 20 mL com tampa de rosca.
- Pipetas de 0,25 mL, 0,5 mL, 1 mL, 5 mL e 10 mL.
- Balão volumétrico de 50 mL.
- Banho-maria.
- Espectrofotômetro.

## Reagentes

- Ninidrina a 3% em metilcelosolve (glicol etileno monoetil éter).
- Isopropanol diluído a 50% com água destilada.
- Ácido fórmico puro.
- Padrão de prolina a 100 mg L<sup>-1</sup>.

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg L<sup>-1</sup> de prolina, preparar os padrões de 0 mg L<sup>-1</sup>, 10 mg L<sup>-1</sup>, 20 mg L<sup>-1</sup>, 30 mg L<sup>-1</sup>, 40 mg L<sup>-1</sup> e 50 mg L<sup>-1</sup>, completando o volume com água destilada.

## Procedimento

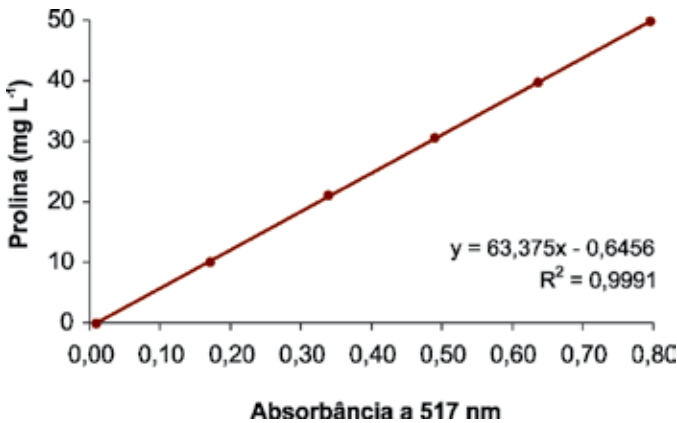
O vinho a ser analisado deve ser diluído a 10% para ficar no limite em que apresenta uma resposta linear na leitura espectrofotométrica. Retira-se uma alíquota de 0,5 mL, coloca-se no tubo de ensaio de 20 mL com tampa de rosca, acrescenta-se 0,25 mL de ácido fórmico e 1,0 mL de solução de ninidrina. Enrosca-se a tampa, agita-se e coloca-se o tubo em banho-maria em ebulição por 15 minutos. A seguir, esfria-se o tubo a 20 °C por 5 a 10 minutos. Durante o resfriamento, acrescenta-se 5,0 mL

da solução de isopropanol e faz-se a leitura a 517 nm no período compreendido até 30 minutos do fim do aquecimento. Procedese da mesma maneira com relação às soluções para estabelecimento da curva padrão. O branco é preparado do mesmo modo, substituindo a amostra pelo mesmo volume de água destilada.

### Cálculo do resultado

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no espectrofotômetro, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações da prolina na abscissa, conforme Figura 1.

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$  de prolina, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra.



**Figura 1.** Curva de calibração para determinação da prolina.

## Ácido sórbico

### Definição

O ácido sórbico é um ácido graxo insaturado, utilizado como aditivo conservador em vinho suave em função do seu efeito antisséptico.

## Princípio do método

O ácido sórbico é separado do vinho por meio do arraste com vapor d'água e determinado por espectrofotometria a 256 nm.

## Material e equipamento

- Espectrofotômetro ultravioleta.
- Aparelho Cazenave-Ferré (utilizado para determinação da acidez volátil).
- Balão volumétrico de 100 mL.
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 2 mL e 5 mL.
- Cubetas de quartzo de 10 mm de percurso ótico.

## Reagente

- Padrão de ácido sórbico a 200 mg L<sup>-1</sup> (268 mg L<sup>-1</sup> de sorbato de potássio).
- Ácido clorídrico 0,1 N.

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 200 mg L<sup>-1</sup> de ácido sórbico (268 mg L<sup>-1</sup> de sorbato de potássio), preparar os padrões de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 1 mg L<sup>-1</sup>, 2 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, 4 mg L<sup>-1</sup> e 5 mg L<sup>-1</sup> de ácido sórbico, em balões volumétricos de 100 mL com 0,3 mL de ácido clorídrico 0,1 N, completando o volume com água deionizada. Homogeneizar.

## Procedimento

Pipetar 1 mL de vinho no aparelho de destilação (Cazenave-Ferré). Recolher o destilado num balão volumétrico de 100 mL, que contém

0,3 mL de ácido clorídrico 0,1 N. Quando o volume estiver próximo ao traço de aferição, parar a destilação, retirar o balão e completar o nível com água deionizada. Fazer a leitura em espectrofotômetro a 256 nm (UV).

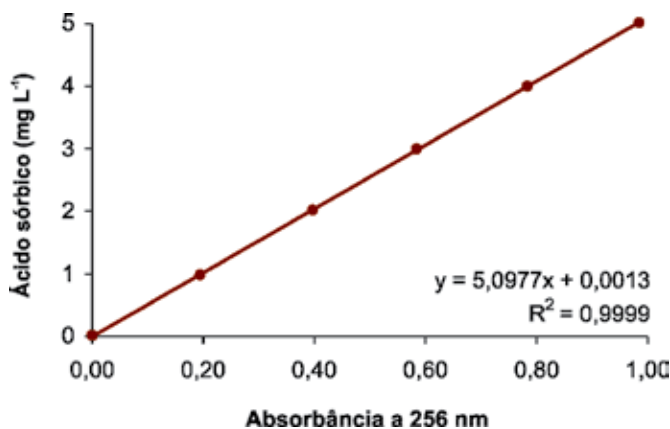
### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no espectrofotômetro, utilizando a água deionizada como branco, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações de ácido sórbico na abscissa conforme Figura 2.

### Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$  de ácido sórbico, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra.

Para indicar os valores em sorbato de potássio, multiplicar o teor de ácido sórbico por 1,34.



**Figura 2.** Curva de calibração para determinação do ácido sórbico.

## Fósforo

### Definição

O fósforo existe naturalmente nos vinhos, na forma mineral e orgânica. Esse elemento tem participação importante – principalmente quando os teores são elevados – na formação de precipitados de fosfato-férrico, causando turvação nos vinhos. Muitas vezes ele é adicionado ao mosto na forma de fosfato de amônio, com o objetivo de facilitar a fermentação alcoólica.

### Princípio do método

Fotocolorimetria.

### Material e equipamento

- Espectrofotômetro.
- Balão volumétrico de 50 mL.
- Pipetas volumétricas de 2 mL, 5 mL e 10 mL.
- Cubetas de quartzo de 10 mm de percurso ótico.

### Reagente

- Padrão de fósforo com concentração conhecida.
- Solução sulfomolibdica: dissolver 1 g de subcarbonato de bismuto em 200 mL de água deionizada, acrescentar 138 mL de ácido sulfúrico concentrado, agitar até dissolver e deixar esfriar; dissolver 20 g de molibdato de amônio em 300 mL de água deionizada.
- Transferir as duas soluções para um balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água deionizada a 20 °C.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda: 725 nm.



## Preparo da curva padrão

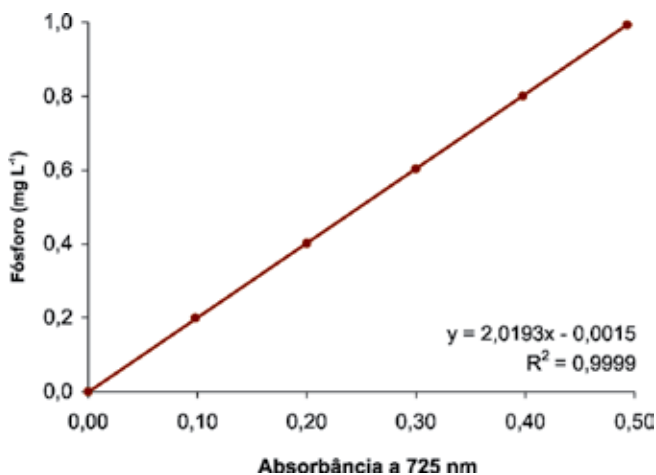
Em balão volumétrico de 50 mL, adicionar 10 mL de água deionizada, 5 mL de solução sulfomolibdica, 2 mL de ácido ascórbico a 2% e os padrões de fósforo de 0,2 mg L<sup>-1</sup>, 0,4 mg L<sup>-1</sup>, 0,6 mg L<sup>-1</sup>, 0,8 mg L<sup>-1</sup> e 1,0 mg L<sup>-1</sup>, obtidos a partir de uma solução de 10 mg L<sup>-1</sup>; completar o volume com água deionizada, agitar e esperar 15 minutos para efetuar a leitura, utilizando cubetas de 10 mm de percurso ótico. Tratar o branco da mesma forma que para a curva padrão, substituindo a solução de fósforo por água deionizada.

## Preparo da amostra

Seguir o mesmo procedimento da curva padrão, substituindo a solução de fósforo por 2 mL do vinho diluído a 20%.

## Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações de fósforo na abscissa, conforme a Figura 3.



**Figura 3.** Curva de calibração para determinação do fósforo.

### **Cálculo do resultado**

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra.

Para expressar os valores obtidos em fosfato, multiplicar o valor obtido por 3,065.



## Capítulo 4

# Espectrofotometria de absorção atômica e emissão de chama

Luiz Antenor Rizzon | Magda Beatris Gatto Salvador

A espectrofotometria de absorção atômica e a emissão de chama são dois princípios analíticos utilizados para a determinação dos elementos minerais do vinho. Em princípio, os metais alcalinos – potássio, sódio, lítio e rubídio – são determinados por emissão de chama, enquanto os demais – cálcio, magnésio, manganês, ferro, cobre e zinco – são determinados por absorção atômica.

As técnicas espectrofotométricas baseiam-se na mobilidade dos elétrons periféricos dos átomos-elétrons de valência. Essa mobilidade é determinada pelas leis da física quântica. Ao retornar ao estado de equilíbrio, os átomos liberam a energia armazenada na forma de raios eletromagnéticos – fótons, de onde deriva o termo fotometria.

O átomo é formado por um núcleo cercado de elétrons. Cada elemento químico possui um número específico de elétrons que estão relacionados com o núcleo atômico e que, juntamente com ele, conferem uma estrutura orbital que é única para cada elemento. Os elétrons ocupam posições orbitais em uma forma pré-estabelecida e ordenada. A configuração mais estável e de menor valor magnético é conhecida como estado fundamental, além de ser a configuração orbital normal do átomo.

Quando é aplicada uma certa energia ao átomo, os elétrons mais periféricos são promovidos a um orbital menos estável e passam para o estado excitado. Nesse estado, menos estável, o átomo imediatamente e espontaneamente retornará à sua configuração fundamental. O elétron, por sua vez, retornará ao seu orbital inicial, estável, e emitirá energia radiante equivalente à quantidade inicialmente absorvida no processo de excitação.

O comprimento de onda da energia radiante emitida será diretamente relacionada à transição eletrônica produzida, posto que cada elemento químico possui uma estrutura eletrônica única que o caracteriza. Portanto, o comprimento de onda da luz emitida é específico para cada elemento.

Assim, o processo de excitação e de retorno ao estado fundamental é comum tanto na absorção atômica como na emissão de chama. Por essa razão, a energia absorvida no processo de excitação e a emitida no retorno ao estado fundamental podem ser medidas e utilizadas para fins analíticos.

Na emissão atômica, a amostra é submetida a uma alta energia com o objetivo de produzir átomos no estado excitado aptos a emitir luz. A fonte de energia geralmente é uma chama. A técnica de emissão é utilizada para determinar a quantidade de um elemento presente na atmosfera; para isso, mede-se a intensidade de luz emitida e o comprimento de onda do elemento a se analisar. A intensidade da emissão é proporcional ao número de átomos do elemento presente.

A absorção atômica corresponde à energia que o átomo absorve ao passar para o estado excitado, em um determinado comprimento de onda. A luz que é a fonte de excitação do átomo é simplesmente uma forma específica de energia. A característica de interesse nas medidas por absorção atômica é a intensidade de luz, o comprimento de onda ressonante que é absorvido, quando a luz passa através de uma nuvem

atômica. Segundo o número de átomos existentes na passagem da luz, a intensidade da luz absorvida aumenta proporcionalmente. O uso de fontes especiais de luz (lâmpadas de cátodo oco) e a seleção cuidadosa do comprimento de onda permitem determinar quantitativamente o elemento específico presente no vinho.

A nuvem de átomos necessária para as medições em absorção atômica é obtida submetendo a amostra de vinho a uma determinada energia térmica para dissociar os compostos químicos em átomos livres. A aspiração da amostra de vinho em uma chama alinhada com o raio de luz emitido pela lâmpada de cátodo oco é utilizada no processo. A facilidade e a rapidez que possibilitam efetuar determinações precisas tornam a técnica de absorção atômica uma das metodologias mais aptas para a determinação dos elementos minerais em vinhos.

## Potássio

### Definição

O potássio é o cátion mais importante do vinho. A sua concentração é fundamental para determinar a estabilidade em relação ao bitartarato de potássio. O teor nos mostos é consequência da cultivar de videira e da evolução das condições climáticas, especialmente por ocasião da colheita.

### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

### Reagente

Padrão de potássio com concentração definida (KCl).

## Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 766,8 nm.
- Abertura da fenda: 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de potássio de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , preparar os padrões de  $30 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $60 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $90 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $120 \text{ mg L}^{-1}$  e  $150 \text{ mg L}^{-1}$ , completando o volume com água deionizada.

## Procedimento

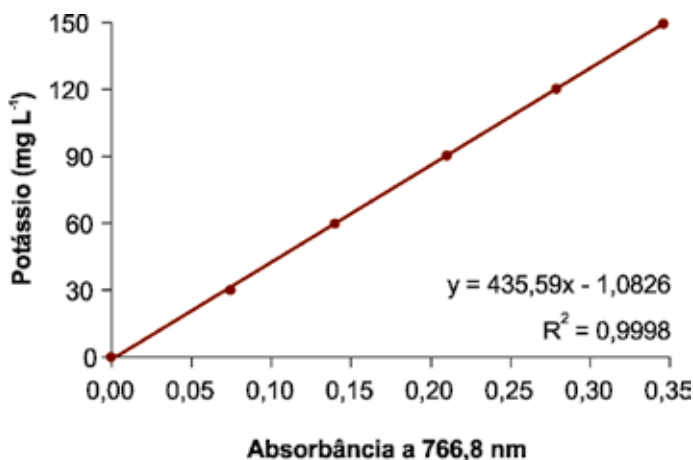
O vinho deve ser diluído na proporção de 10% com água deionizada, fazendo com que a concentração fique nos limites da curva.

## Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme a Figura 1.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de potássio normalmente encontrado no vinho varia entre  $400 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1.500 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Figura 1.** Curva de calibração para determinação do potássio.

## Sódio

### Definição

O sódio é um elemento mineral encontrado nos vinhos. O seu teor está sempre relacionado com o local de procedência da uva. Assim, vinhedos localizados em regiões próximas ao mar apresentam vinhos com teor de sódio mais elevado em relação àqueles de regiões mais afastadas. Vinhos de regiões mais secas também apresentam teores de sódio mais elevados do que os de outras regiões mais úmidas. Outros fatores que concorrem para aumentar o teor de sódio nos vinhos são os produtos enológicos utilizados, principalmente as bentonites.

### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

### Reagente

Padrão de sódio com concentração definida (NaCl).



## Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 589,0 nm.
- Abertura da fenda (*slit*): 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de sódio de 10 mg L<sup>-1</sup> preparar os padrões de 0,4 mg L<sup>-1</sup>, 0,8 mg L<sup>-1</sup>, 1,2 mg L<sup>-1</sup>, 1,6 mg L<sup>-1</sup> e 2,0 mg L<sup>-1</sup>, completando o volume com água deionizada.

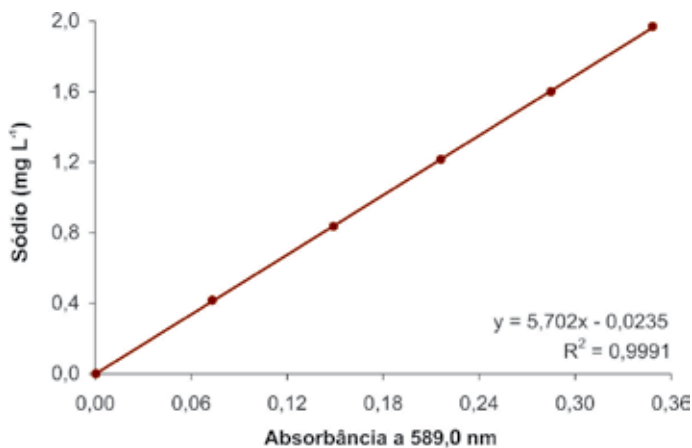
## Procedimento

O vinho deve ser diluído na proporção de 10% com água deionizada, fazendo com que a concentração fique nos limites da curva.

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no trabalho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme a Figura 2.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em mg L<sup>-1</sup>, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de sódio normalmente encontrado no vinho varia entre 5 mg L<sup>-1</sup> e 50 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 2.** Curva de calibração para determinação do sódio.

## Cálcio

### Definição

O cálcio está sempre presente nos vinhos. Seu teor é consequência das condições do solo, do tratamento dos mostos com carbonato de cálcio, da utilização de certos agentes filtrantes. A conservação em recipientes de concreto armado e a utilização de certas bentonites são fatores que favorecem o aumento do teor de cálcio nos vinhos.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de cálcio com concentração definida ( $\text{CaCl}_2$ ) e óxido de lantano ( $\text{La}_2\text{O}_3$ ) para absorção atômica – solução a 2,5% contendo 8% de ácido clorídrico. Completar com água deionizada.

## Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 422,7 nm.
- Abertura da fenda: 0,7 nm.
- Chama: ar e acetileno (reductor).

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, preparar padrões de 1 mg L<sup>-1</sup>, 2 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, 4 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup> e 6 mg L<sup>-1</sup>, adicionando 10% da solução de óxido de lantano a 2,5% e completando o volume com água deionizada.

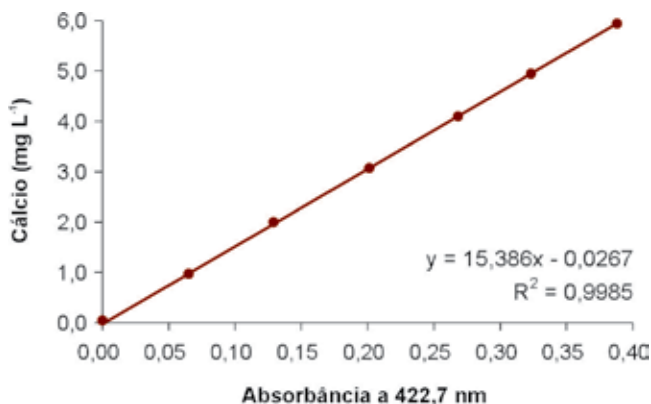
## Procedimento

O vinho deve ser diluído na proporção de 4% em balão volumétrico contendo 20% da solução de óxido de lantano. Completar o volume com água deionizada.

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme Figura 3.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em mg L<sup>-1</sup>, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de cálcio normalmente encontrado no vinho varia entre 60 mg L<sup>-1</sup> e 110 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 3.** Curva de calibração para determinação do cálcio.

## Magnésio

### Definição

A concentração de magnésio nos vinhos está relacionada com o solo, com agentes filtrantes, com a conservação em recipientes de concreto armado, com o tratamento com resinas pela concentração de álcool no vinho e com outros constituintes, como, no caso, tartaratos e sulfatos. O pH, o tempo e a temperatura de conservação também exercem uma influência no teor de magnésio dos vinhos.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de magnésio em concentração definida ( $\text{MgCl}_2$  em 6% HCl).

## Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 285,2 nm (ultravioleta).
- Abertura da fenda: 0,7 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 20 mg L<sup>-1</sup> de magnésio, preparar os padrões de 0,2 mg L<sup>-1</sup>, 0,4 mg L<sup>-1</sup>, 0,6 mg L<sup>-1</sup>, 0,8 mg L<sup>-1</sup> e 1,0 mg L<sup>-1</sup>, completando o volume com água deionizada.

## Preparo da amostra

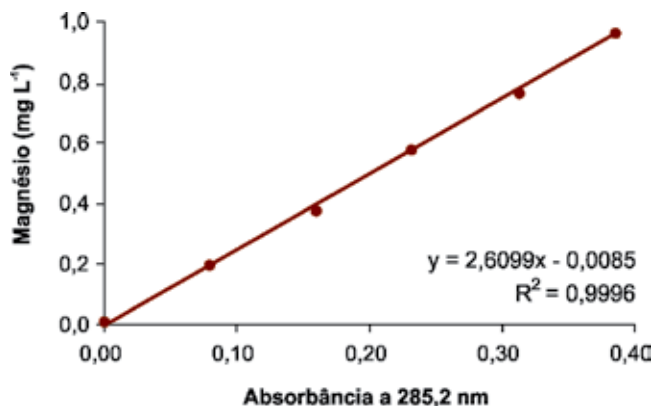
O vinho deve ser diluído na proporção de 1% com água deionizada, fazendo com que a concentração fique nos limites da curva.

## Procedimento

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de magnésio na abscissa, conforme a Figura 4.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em mg L<sup>-1</sup>, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de magnésio normalmente encontrado no vinho varia entre 50 mg L<sup>-1</sup> e 90 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 4.** Curva de calibração para determinação do magnésio.

## Manganês

### Definição

O manganês está presente em todos os vinhos, em pequenas quantidades. Normalmente, os vinhos tintos apresentam teores mais altos desse cátion, uma vez que é encontrado em percentagem mais elevada na semente. Alguns produtos fitossanitários utilizados para controlar as doenças das videiras podem aumentar a sua concentração nos vinhos.

### Princípios do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de manganês com concentração definida ( $\text{MnCl}_2$ ).

### Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento da onda: 279,5 nm.
- Abertura da fenda: 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

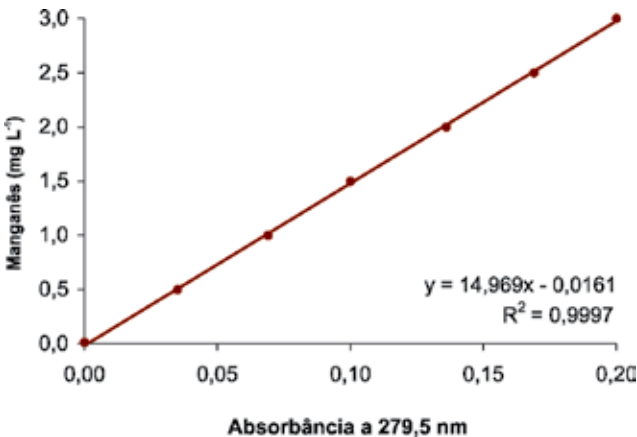
A partir de uma solução de 100 mg L<sup>-1</sup> de manganês, preparar os padrões de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 1,0 mg L<sup>-1</sup>, 1,5 mg L<sup>-1</sup>, 2,0 mg L<sup>-1</sup>, 2,5 mg L<sup>-1</sup> e 3,0 mg L<sup>-1</sup>, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

### Procedimento

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos na absorvância na ordenada e as concentrações de sódio na abscissa, conforme a Figura 5.



**Figura 5.** Curva de calibração para determinação do manganês.

## Cálculo da concentração

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , conforme leitura na curva padrão. O teor de manganês normalmente encontrado no vinho varia entre  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  e  $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

## Ferro

### Definição

O ferro é um cátion encontrado em todos os vinhos e participa dos processos de turvação e oxidação quando em concentrações elevadas.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de ferro com concentração definida ( $\text{FeCl}_2$ ).

### Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 248,3 nm (ultravioleta).
- Abertura de fenda: 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).



## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de ferro, preparar os padrões de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $2 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $4 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $6 \text{ mg L}^{-1}$  e  $8 \text{ mg L}^{-1}$ , completando o volume com água deionizada.

## Procedimento

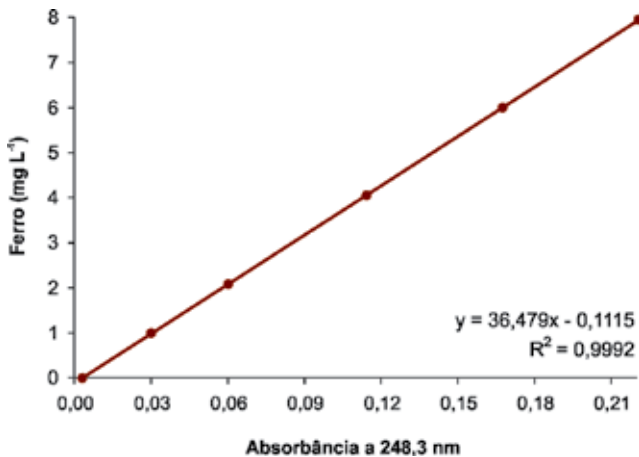
A amostra é lida diretamente.

## Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de ferro na abscissa, conforme a Figura 6.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , conforme a leitura na curva padrão. O teor de ferro normalmente encontrado no vinho varia entre traços e  $15 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Figura 6.** Curva de calibração para determinação do ferro.

## Cobre

### Definição

O teor de cobre participa dos processos de turvação e oxidação dos vinhos. A concentração depende dos tratamentos fitossanitários utilizados na videira ou do contato do vinho com materiais e recipientes que contêm cobre. Durante a fermentação alcoólica, as leveduras fixam e precipitam a maior parte do cobre existente no mosto.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de cobre com concentração definida ( $\text{CuCl}_2$ ).

### Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 325,0 nm (ultravioleta).
- Abertura da fenda: 0,7 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

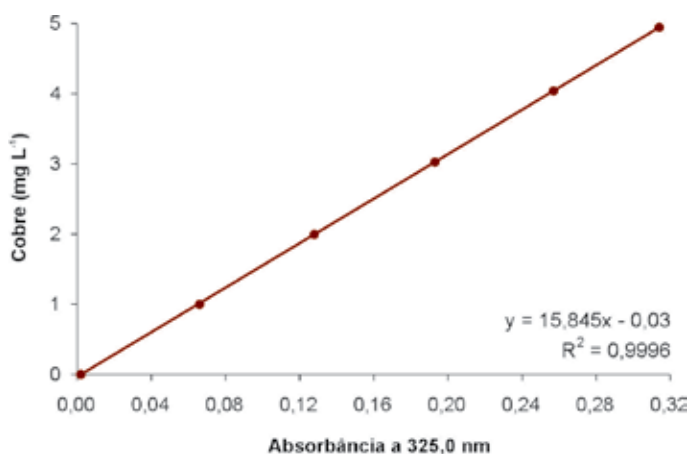
A partir de uma solução de 100 mg L<sup>-1</sup> de cobre, preparar os padrões de 1 mg L<sup>-1</sup>, 2 mg L<sup>-1</sup>, 3 mg L<sup>-1</sup>, 4 mg L<sup>-1</sup> e 5 mg L<sup>-1</sup>, completando o volume com água deionizada.

## Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

## Procedimento

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de cobre na abscissa, conforme a Figura 7.



**Figura 7.** Curva de calibração para determinação do cobre.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , conforme a leitura na curva padrão. O teor de cobre normalmente encontrado no vinho varia entre traços e  $5 \text{ mg L}^{-1}$ .

## Zinco

### Definição

O zinco é encontrado nos vinhos em níveis muito baixos e um aumento eventual pode ser consequência do contato com certos mate-

riais galvanizados ou de certas ligas com esse metal. Alguns produtos fitossanitários utilizados na videira podem contribuir para aumentar o teor de zinco nos vinhos.

### **Princípio do método**

Espectrofotometria de absorção atômica.

### **Reagente**

Padrão de zinco com concentração definida ( $\text{ZnCl}_2$ ).

### **Equipamento**

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### **Parâmetros de operação do aparelho**

- Comprimento de onda: 213,9 nm (ultravioleta).
- Abertura de fenda: 0,7 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

### **Preparo da curva padrão**

A partir de uma solução de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de zinco, preparar padrões de  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ , completando o volume com água deionizada.

### **Preparo da amostra**

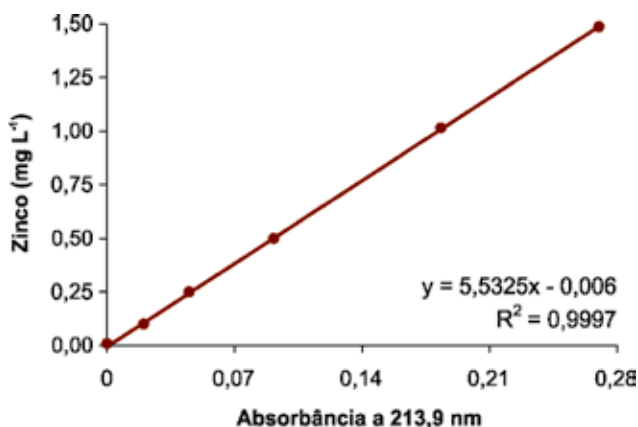
A leitura é feita diretamente na amostra.

## Procedimento

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme a Figura 8.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , conforme leitura na curva padrão. O teor de zinco normalmente encontrado no vinho varia entre  $0,4 \text{ mg L}^{-1}$  e  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Figura 8.** Curva de calibração para determinação do zinco.

## Lítio

### Definição

Lítio é um cátion que está sempre presente nos vinhos em pequenas quantidades ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Segundo alguns autores, a sua presença estaria relacionada com o tipo de solo onde é cultivada a videira e com o pH desse solo. Esse elemento apresenta um certo valor discriminante para a diferenciação dos vinhos das várias regiões vitícolas. Para outros

autores, a sua presença, em maior quantidade em alguns vinhos, seria considerada como uma poluição, adicionada por meio da sacarose no momento da correção do mosto.

### **Princípio do método**

Espectrofotometria de emissão de chama.

### **Reagente**

- Padrão de lítio com concentração definida (LiCl).
- Hidróxido de potássio.

### **Equipamento**

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### **Parâmetros de operação do aparelho**

- Comprimento de onda: 670,8 nm.
- Abertura da fenda: 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

### **Preparo da curva padrão**

A partir de uma solução de 1 mg L<sup>-1</sup> de lítio, preparar os padrões de 5 µg L<sup>-1</sup>, 10 µg L<sup>-1</sup>, 15 µg L<sup>-1</sup>, 20 µg L<sup>-1</sup> e 25 µg L<sup>-1</sup>, adicionando-se 20% do volume de uma solução de hidróxido de potássio a 10 g L<sup>-1</sup> e completando o volume com água deionizada.

### **Preparo da amostra**

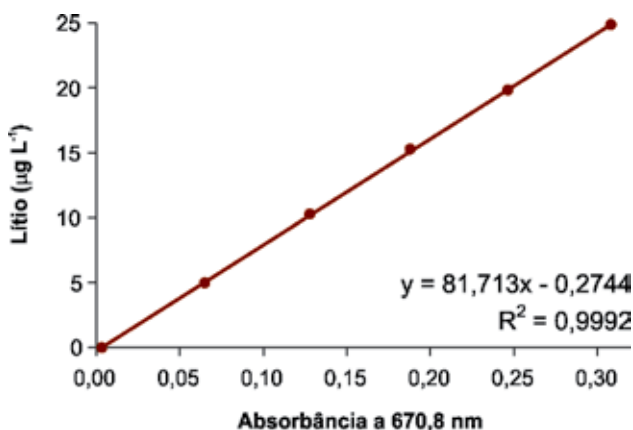
A amostra é lida diretamente.

## Procedimento

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração na abscissa, conforme a Figura 9.

## Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , conforme a leitura na curva padrão. O teor de lítio normalmente encontrado no vinho varia entre traços a  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figura 9.** Curva de calibração para determinação do lítio.

## Rubídio

### Definição

O rubídio é um metal do grupo dos alcalinos terrosos encontrado em todos os vinhos, sempre em pequenas quantidades. Em alguns casos, esse elemento tem sido útil para diferenciar vinhos provenientes de diferentes regiões vitícolas.

## Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

## Reagentes

- Padrão de rubídio com concentração definida.
- Hidróxido de potássio.

## Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 780 nm.
- Abertura da fenda: 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

## Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , preparar os padrões de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $2 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $4 \text{ mg L}^{-1}$  e  $6 \text{ mg L}^{-1}$ , adicionando 10% de uma solução de hidróxido de potássio a  $10 \text{ g L}^{-1}$  e completando o volume com água deionizada.

## Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

## Procedimento

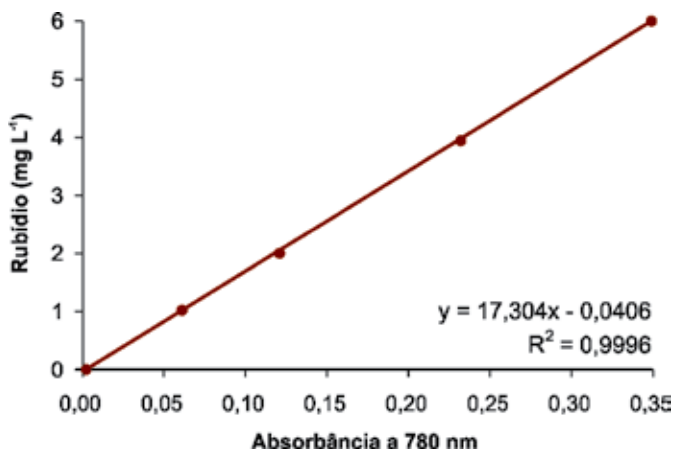
A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no espectrofotômetro de absorção atômica, traçar a curva, colocando os valores



obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de rubídio na abscissa, conforme a Figura 10.

### Cálculo do resultado

O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$ , conforme a leitura na curva. Os teores de rubídio normalmente encontrado nos vinhos variam entre traços e  $8 \text{ mg L}^{-1}$ .



**Figura 10.** Curva de calibração para determinação do rubídio.

# Cromatografia de fase gasosa

Luiz Antenor Rizzon

A cromatografia de fase gasosa é um método de separação e análise dos componentes de uma mistura onde cada constituinte pode ser identificado pelo tempo de retenção. A superfície do pico correspondente a cada uma dessas substâncias é proporcional à sua concentração. As substâncias a se separar são inicialmente volatilizadas em um espaço aquecido, que é o injetor. A seguir, são arrastadas por um gás vetor, denominado de fase móvel, através de uma coluna preenchida por um suporte sólido de textura fina, que é envolto por um líquido, que é a fase estacionária. Para obter tempos de retenção reprodutivos, é necessário que a temperatura do forno – espaço onde está instalada a coluna – esteja adequadamente regulada.

Na saída da coluna, as substâncias separadas chegam ao detector, geralmente do tipo de ionização de chama, que está ligado a um eletrodo, o qual transmite um sinal elétrico para o registrador ou para um computador que gera um gráfico (cromatograma) com os diferentes picos correspondentes às substâncias detectadas.

De modo geral, um cromatógrafo é formado pelas seguintes partes:

- **Injetor** – Câmara aquecida onde é introduzida a amostra a se analisar através de uma microseringa.

- **Coluna** – Instalada no forno com temperatura regulada e que realiza a separação dos componentes da mistura.
- **Forno** – Compartimento do cromatógrafo onde é instalada a coluna.
- **Detector** – Ligado a um eletrômetro e que transmite um sinal elétrico ao detector ou a um computador.

A cromatografia gasosa é muito utilizada para a determinação dos compostos voláteis ou que podem ser volatilizáveis do vinho, responsáveis pelas características aromáticas deles, especialmente pelas notas florais e frutadas. Geralmente, o teor de substâncias aromáticas dos vinhos é de aproximadamente 1% do peso do teor de álcool, isto é, de  $0,8 \text{ g L}^{-1}$  a  $1,2 \text{ g L}^{-1}$ .

## **Aldeído acético, acetato de etila, metanol e álcoois superiores**

### **Definição**

Os compostos voláteis determinados, exceto o metanol, são considerados produtos secundários da fermentação alcoólica e contribuem para a qualidade dos vinhos. Um grande número de substâncias fazem parte dos compostos voláteis dos vinhos. Quantitativamente, quatro álcoois superiores (1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol), juntamente com um éster (acetato de etila), são os mais importantes. O metanol é formado por meio da hidrólise das pectinas pela ação enzimática. O aldeído acético, produto de oxidação do etanol, está intimamente ligado aos processos de oxidorredução dos vinhos.

### **Princípio do método**

Cromatografia gasosa.

## Equipamento

Cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama e coluna de Carbowax 400 a 4% mais Hallcomid M-18-ol a 1% de aço inoxidável, de 3,2 m de comprimento por 3/4" de diâmetro.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Temperatura de coluna: 98 °C em isoterma.
- Temperatura do vaporizador (injetor): 140 °C.
- Temperatura do detector: 160 °C.
- Vazão do gás de arraste (nitrogênio): 40 mL min<sup>-1</sup>.
- Volume da amostra a ser injetado: 3 µL.

## Reagentes

- Aldeído acético.
- Acetato de etila.
- Metanol.
- 1-propanol.
- 2-metil-1-propanol.
- 2-metil-1-butanol.
- 3-metil-1-butanol.
- 4-metil-2-pentanol (padrão interno).
- Etanol.

## Preparo dos padrões

Preparar os seguintes padrões diluídos em solução de 10% de etanol:

- Metanol, 145 mg L<sup>-1</sup>.

- 1-propanol, 45 mg L<sup>-1</sup>.
- 2-metil-1-propanol, 112 mg L<sup>-1</sup>.
- 2-metil-1-butanol, 54 mg L<sup>-1</sup>.
- 3-metil-1-butanol, 255 mg L<sup>-1</sup>.
- Aldeído acético, 73 mg L<sup>-1</sup>.
- Acetato de etila, 64 mg L<sup>-1</sup>.
- 4-metil-2-pentanol (padrão interno), 1,25 g L<sup>-1</sup>.

## Procedimento

Tomar uma amostra de 20 mL do vinho a ser analisado, colocar num erlenmeyer de 125 mL, com tampa de rosca; adicionar 2 mL de solução de 4-metil-2-pentanol (padrão interno) e homogeneizar a amostra por 5 minutos, com auxílio de um agitador magnético. Injetar a amostra no aparelho. A Figura 1 corresponde ao cromatograma de um vinho analisado.

## Cálculo do resultado

A concentração (*C*) de uma substância no vinho é obtida por meio da seguinte fórmula:

$$C \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = c \times \frac{h \times I}{H \times i}$$

onde:

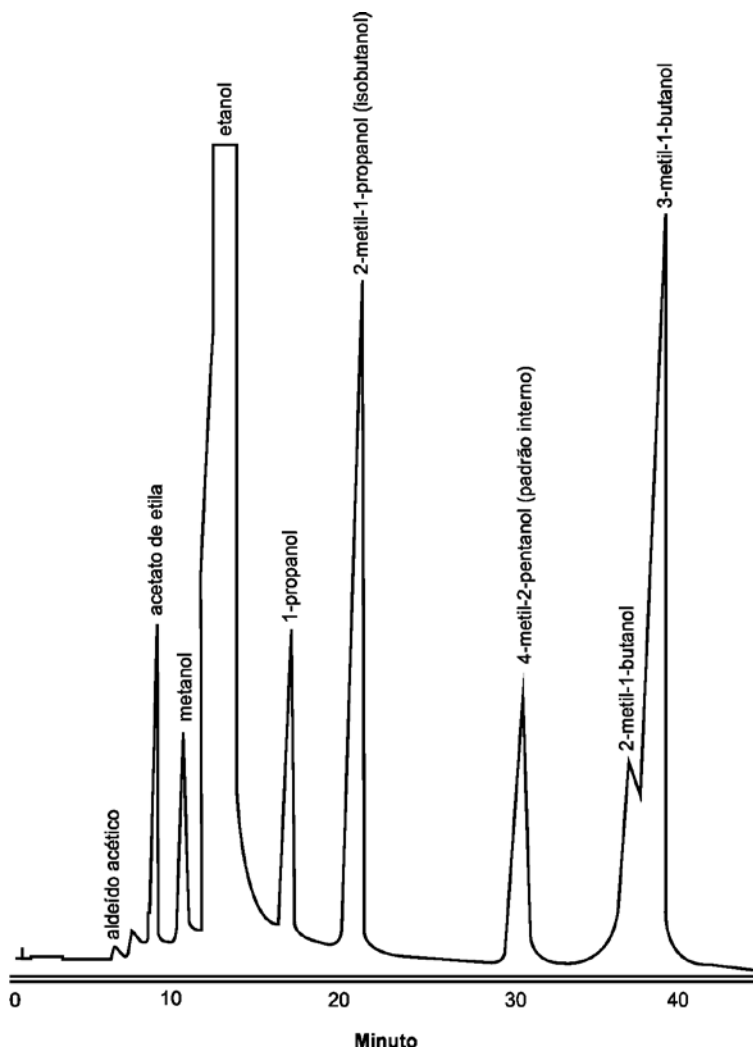
*c* = concentração da substância na solução padrão de referência

*h* = altura do pico da substância no vinho

*H* = altura do pico da substância na solução padrão de referência

*I* = altura do pico do padrão interno na solução padrão de referência

*i* = altura do pico do padrão interno da substância no vinho.



**Figura 1.** Cromatograma dos compostos voláteis de um vinho, com identificação dos picos.

Esse método de cálculo é aplicado no caso da utilização de um padrão interno. O resultado é expresso em  $\text{mg L}^{-1}$  para cada substância analisada. Os valores normalmente encontrados no vinho variam de:

- Traços a  $50 \text{ mg L}^{-1}$  para o aldeído acético.

- 40–180 mg L<sup>-1</sup> para o acetato de etila.
- 40–250 mg L<sup>-1</sup> para o metanol.
- 1–40 mg L<sup>-1</sup> para o 1-propanol.
- 20–120 mg L<sup>-1</sup> para o 2-metil-1- propanol.
- 80–250 mg L<sup>-1</sup> para a soma do 2-metil-1-butanol com o 3-metil-1-butanol.

## Lactato de etila

### Definição

O lactato de etila é um éster etílico que está sempre presente no vinho. Trata-se de éster que identifica a fermentação malolática do vinho e contribui com a implementação do aroma láctico do vinho.

### Princípio do método

Cromatografia gasosa.

### Equipamento

Cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização de chama e coluna Carbowax 1540 a 10% (CG 5764) com 6 m de comprimento por 1/8" de diâmetro.

### Reagentes

- Lactato de etila.
- Octanol-2 (padrão interno).
- Etanol.

## Procedimento

Colocar uma amostra de 20 mL de vinho e analisar num erlenmeyer de 100 mL, adicionar 2 mL da solução de octanol-2 (padrão interno), colocar a barra imantada, fechar com a tampa rosca e homogeneizar a amostra por cinco minutos no agitador magnético.

Repetir a operação com a solução padrão de lactato de etila. A seguir, injetar no cromatógrafo uma alíquota de 3 µL da amostra do vinho e da solução padrão de lactato de etila.

A separação do lactato de etila é indicada no cromatograma mostrado na Figura 2.

## Parâmetros de operação do aparelho

- Temperatura de coluna: 130 °C em isoterma.
- Temperatura do vaporizador (injetor): 193 °C.
- Temperatura do detector: 214 °C.
- Vazão do gás de arraste (nitrogênio): 30 mL min<sup>-1</sup>.
- Volume da amostra a ser injetada: 3 µL.

## Cálculo do resultado

A concentração de lactato de etila do vinho é obtida por meio da seguinte fórmula:

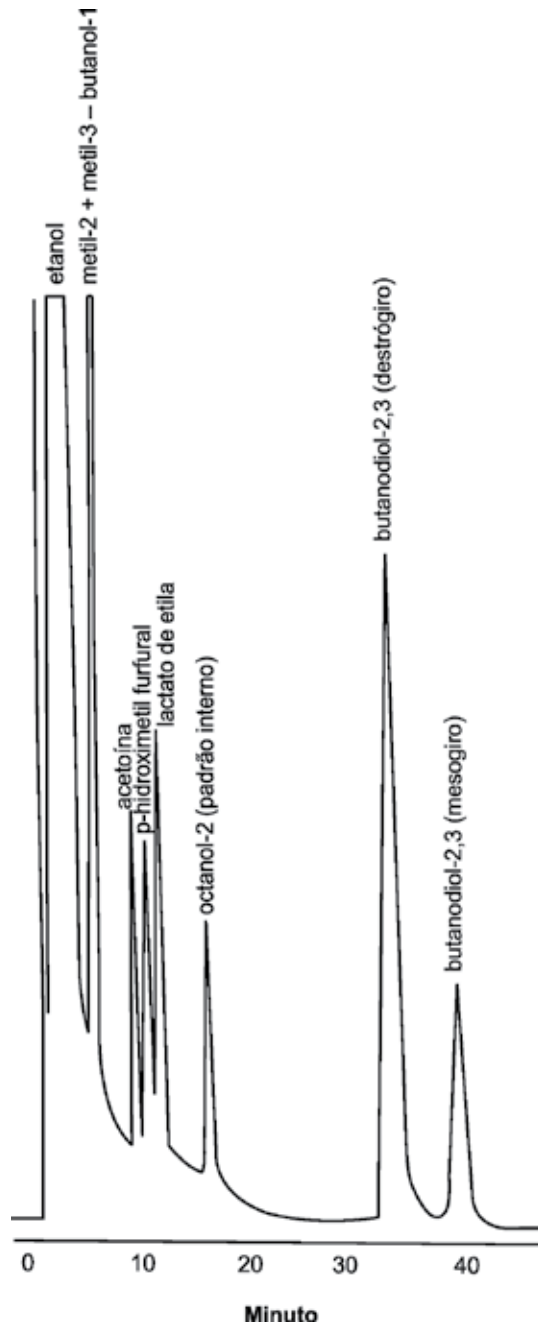
$$C \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = c \times \frac{h \times I}{H \times i}$$

onde:

$C$  = concentração de lactato de etila

$c$  = concentração de lactato de etila na solução padrão





**Figura 2.** Cronograma do lactato de etila de um vinho, com identificação dos picos.

$h$  = altura do pico do lactato de etila na amostra de vinho

$H$  = altura do pico do lactato de etila na solução padrão

$I$  = altura do pico do padrão interno na solução padrão

$i$  = altura do pico do padrão interno na amostra do vinho.

## Glicerol

### Definição

O glicerol é, depois da água e do álcool, o componente mais importante do vinho. Por ser formado durante o processo fermentativo, é considerado um produto secundário da fermentação alcoólica. O seu teor no vinho está relacionado com a quantidade de açúcar do mosto, com o estado sanitário da uva, com a natureza das leveduras e com as condições de fermentação (temperatura, acidez, aeração e sulfitagem).

### Princípio do método

Cromatografia gasosa.

### Reagentes

- Glicerol.
- 1,6-hexanodiol.
- Etanol.

### Equipamento

Cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama, e coluna de aço inoxidável, de 2 m de comprimento por 3/4" de diâmetro, com Tenax.

### Parâmetros de operação do aparelho

- Temperatura da coluna: 170 °C em isoterma.
- Temperatura do vaporizador (infetor): 240 °C.
- Temperatura do detector: 260 °C.
- Vazão do gás de arraste (nitrogênio): 40 mL min<sup>-1</sup>.
- Volume da amostra a ser injetado: 3 µL.

### Reagentes

- Glicerol.
- 1,6-hexanodiol.
- Etanol.

### Preparo dos padrões

- Preparar uma solução de glicerol de 9 g L<sup>-1</sup> diluída numa solução hidroalcoólica a 20%.
- 1,6-hexanodiol a 40 g L<sup>-1</sup>, diluído numa solução hidroalcoólica a 20% (padrão interno).

### Procedimento

Tomar uma amostra de 20 mL do vinho a ser analisado e colocar em um erlenmeyer de 125 mL, com tampa de rosca. Adicionar 2 mL de uma solução de 1,6-hexanodiol (padrão interno) e homogeneizar por 5 minutos com o auxílio de um agitador magnético. Assim, a amostra estará em condições de ser injetada no aparelho. Para preparar o padrão de glicerol, seguir o mesmo procedimento utilizando 20 mL da solução de glicerol a 9 g L<sup>-1</sup> em lugar do vinho. Os demais passos são idênticos aos

usados para o reparo da amostra a ser analisada. Antes de efetuar as análises, uma série de injeções de uma solução de glicerol é necessária para saturar a coluna. A Figura 3 corresponde a um cromatograma obtido.

### Cálculo do resultado

A concentração ( $C$ ) do glicerol no vinho é obtida por meio da seguinte fórmula:

$$C (g L^{-1}) = c \times \frac{h \times I}{H \times i}$$

onde:

$c$  = concentração do glicerol na solução padrão de referência

$h$  = altura do pico do glicerol na amostra do vinho

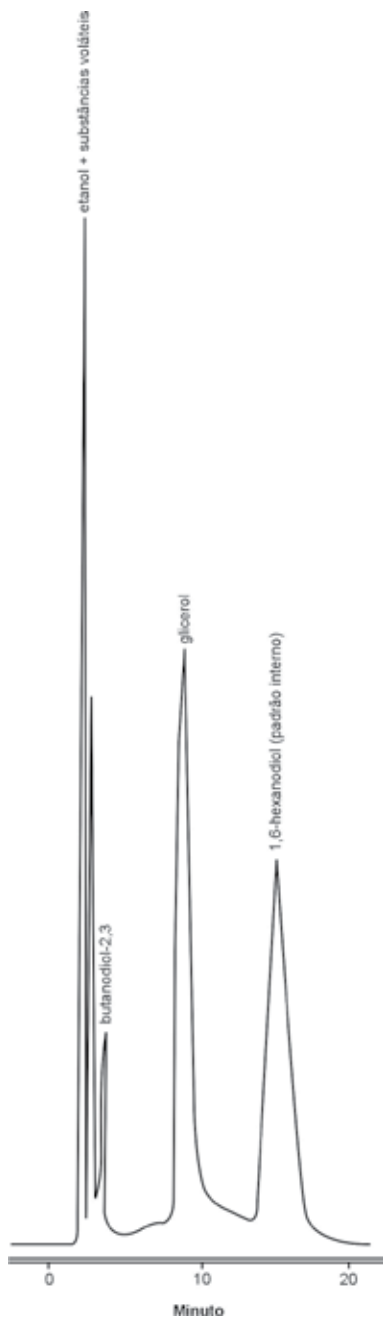
$H$  = altura do pico do glicerol na solução padrão de referência

$I$  = altura do pico do padrão interno na solução padrão de referência

$i$  = altura do pico do padrão interno na análise do vinho.

Esse método de cálculo é aplicado no caso da utilização de um padrão interno.

Os valores normalmente encontrados nos vinhos variam de  $7 \text{ g L}^{-1}$  a  $11 \text{ g L}^{-1}$ .



**Figura 3.** Cromatograma do glicerol de um vinho, com identificação dos picos.

# Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae)

Luiz Antenor Rizzon | Magda Beatris Gatto Salvador

A cromatografia de fase líquida de alta eficiência é um método de separação e de dosagem dos constituintes de uma mistura. A separação é efetuada por meio de quatro princípios cromatográficos:

**Adsorção.** A separação acontece em função da capacidade dos componentes da mistura de serem adsorvidos pela fase estacionária. Nesse caso, a fase estacionária geralmente é uma sílica com grupos ativos que adsorvem. A fase móvel é um solvente anidro de polaridade comparável àquela dos componentes a se analisar.

**Partição.** A separação depende da retenção dos componentes entre as fases estacionária e móvel, a qual está relacionada com afinidade química com cada uma das fases. A fase estacionária é um líquido impregnado de um suporte inerte, geralmente a sílica desativada. Quando a fase estacionária é polar, o solvente deve ser apolar; nesse caso, a separação ocorre em fases normais. Quando a fase estacionária é apolar, o solvente deve ser polar; nesse caso, trata-se da separação com fases inversas.

A cromatografia de partição é utilizada para todos os compostos de peso molecular inferior a 1.000. Os mais polares são separados por

partição com fases normais. Os compostos pouco ou não polares são separados por partição por meio de fases inversas.

**Troca de íons.** A separação dos componentes depende das características iônicas, isto é, da sua constante de dissociação e da sua carga elétrica. Nesse caso, a fase estacionária é uma resina ou uma sílica carregada eletricamente. A fase móvel é normalmente tamponada a um pH elevado. A cromatografia de troca de íons é utilizada principalmente para separar compostos iônicos ou ionizáveis.

**Exclusão.** Nesse caso, a fase estacionária é um polímero pouco reticulado que se expande em contato com a fase móvel ou com uma sílica com os poros de tamanho calibrado. A retenção das moléculas acontece em função do tamanho. A cromatografia de exclusão é utilizada para separar substâncias de peso molecular diferente.

As colunas analíticas utilizadas na cromatografia líquida são constituídas de tubo de aço inoxidável de comprimento variável de 5 cm a 100 cm, e de diâmetro interno de 4,7 mm. O tubo é preenchido de uma fase estacionária de granulometria fina resistente a pressão. O mais comum é utilizar microesferas de sílica de diâmetro variável de 5  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ , com diferente carga elétrica ou de poros calibrados conforme o tipo de separação a se realizar.

Os detectores mais utilizados são os espectrofotométricos que atuam na região do visível e do ultravioleta e os refratométricos que medem o índice de refração entre a fase móvel e o eluente.

A cromatografia líquida é utilizada em enologia para a determinação dos compostos orgânicos fixos do vinho, especialmente os ácidos orgânicos, compostos fenólicos (antocianinas, ácidos fenólicos, catequinas, epicatequinas, estilbenos), aminoácidos, aminas biogênicas, glicérol e aditivos conservadores (sorbato de potássio, benzoato de sódio).

## Ácido tartárico e málico

### Definição

Os ácidos tartárico e málico são constituintes essenciais do vinho. Esses dois ácidos provêm da uva e os teores evoluem no período de maturação, na fermentação alcoólica e na fermentação malolática quando ocorre.

### Princípio do método

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae).

### Material e equipamento

- Cromatógrafo líquido equipado com um injetor Rheodyne de 20  $\mu\text{L}$ , que funciona em condição isocrática.
- Detector de arranjo de diodos a 212 nm de comprimento de onda.
- Coluna Varian MCH-NCAP-5 de 15 cm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno.
- Microseringa de 100  $\mu\text{L}$ .
- Balão volumétrico de 100 mL.
- Pipetas volumétricas de 5 mL e 10 mL.
- Equipamento para filtração com membrana.
- Membrana filtrante de celulose de 25  $\mu\text{m}$ .

### Reagentes

- Solução de ácido tartárico L(+) a 1 g  $\text{L}^{-1}$  preparada com água ultrapura.



- Solução de ácido málico L(-) a  $1 \text{ g L}^{-1}$  preparada com água ultrapura.
- Solução de ácido fosfórico (pH 2,5) preparada por meio da diluição de 1,2 mL de ácido fosfórico em um balão de 1 L com água ultrapura.

### Condições analíticas

- Fase móvel: solução de água ultrapura e ácido fosfórico (pH 2,5) na proporção de 98,8:1,2 v/v, com vazão de  $0,9 \text{ mL min}^{-1}$ .
- Temperatura: ambiente.
- Pressão: 100 atmosferas.
- Volume injetado: 20  $\mu\text{L}$ .
- Detector UV: 212 nm.
- Sensibilidade: 0,5 D.O.

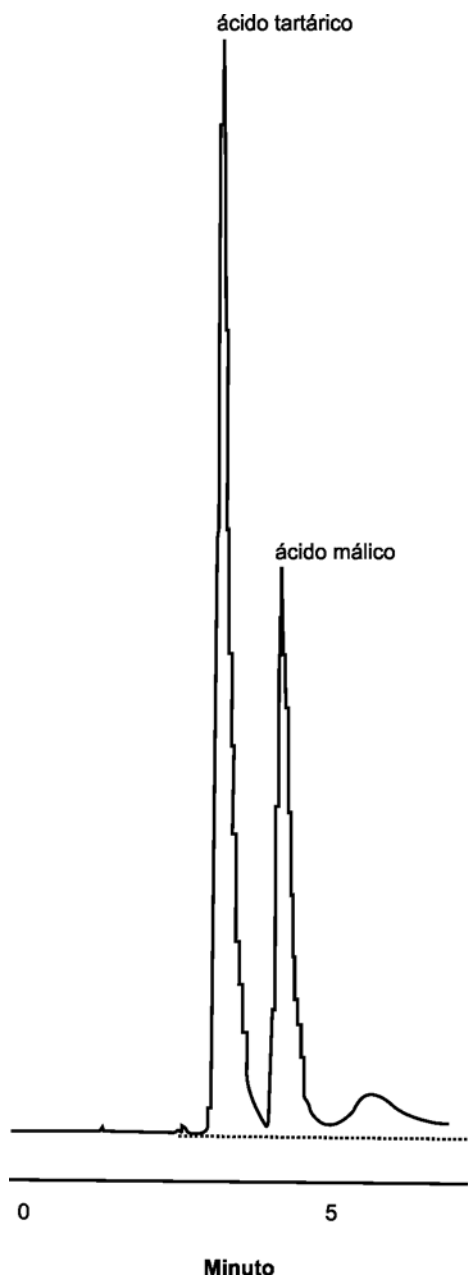
### Procedimento

Diluir a amostra de vinho a 10% com água ultrapura, homogeneizar e filtrar com membrana de celulose com poros de 25  $\mu\text{m}$ . Injetar no aparelho a amostra assim preparada. O mesmo procedimento é realizado com as soluções padrões dos ácidos tartárico e málico.

A separação dos picos do ácido tartárico e málico é indicada no cromatograma da Figura 1.

### Cálculo do resultado

O teor de ácido tartárico e de ácido málico em  $\text{g L}^{-1}$  é obtido por intermédio da comparação da superfície do pico do ácido tartárico da amostra de vinho com a superfície do pico das soluções padrões.



**Figura 1.** Cromatograma dos ácidos tartárico e málico de um vinho, com identificação dos picos.

## Ácido sórbico

### Definição

O ácido sórbico é um ácido graxo insaturado, utilizado como aditivo conservador em vinho suave por causa do seu efeito antisséptico.

### Princípio do método

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae).

### Material e equipamento

- Cromatógrafo líquido equipado com um injetor Rheodyne de 20  $\mu\text{L}$ , que funciona em condição isocrática.
- Detector de UV com 254 nm de comprimento de onda.
- Coluna Varian MCH-NCAP-5 (HM 73128-44) de 15 cm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno.
- Microseringa de 100  $\mu\text{L}$ .
- Balão volumétrico de 100 mL.
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 2 mL, 5 mL e 10 mL.
- Equipamento para filtração com membrana.
- Membrana filtrante de celulose de 25  $\mu\text{m}$ .

### Reagente

- Solução padrão de ácido sórbico a 200  $\text{mg L}^{-1}$  (268  $\text{mg L}^{-1}$  de sorbato de potássio) preparada com água ultrapura.
- Tetraidrofurano.

- Metanol.
- Ácido fosfórico.

### Condições analíticas

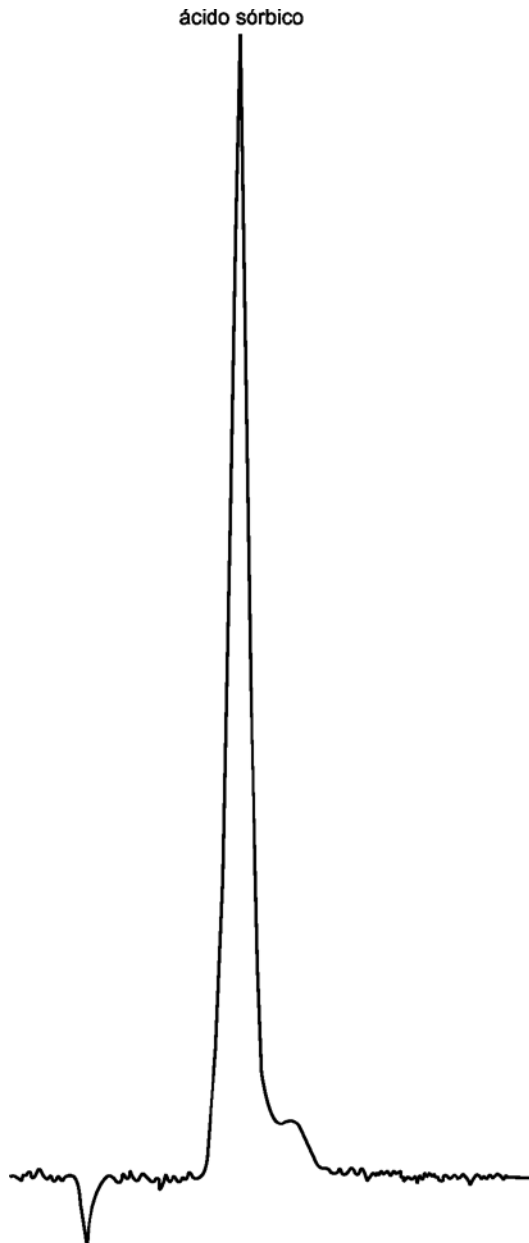
- Fase móvel: solução de metanol, tetraidrofurano e ácido fosfórico na proporção de 280:70:1,2, completando o volume para 1 L com água ultrapura, com vazão de 0,9 mL min<sup>-1</sup>.
- Temperatura: ambiente.
- Pressão: 100 atmosferas.
- Volume injetado: 20 µL.
- Detector UV: 254 nm.
- Sensibilidade: 0,32 D.O.

### Preparo amostra

Diluir a amostra de vinho a 10% com água ultrapura, homogeneizar e filtrar com membrana de celulose com poros de 25 µm. Injetar no aparelho a amostra assim preparada. O mesmo procedimento é realizado com a solução padrão do ácido sórbico. O cromatograma do ácido sórbico é mostrado na Figura 2.

### Cálculo do resultado

O teor de ácido sórbico em mg L<sup>-1</sup> é obtido por meio da comparação da superfície do pico do ácido sórbico da amostra de suco com a superfície do pico da solução padrão de sorbato de potássio.



**Figura 2.** Cromatograma de uma amostra padrão de ácido sórbico.

# Referências

GAROGLIO, P. G. **Nuovo trattato di enologia**. Firenze: Scientifique, 1953. v. 3. 1453 p.

HORWITS, W. (Ed.). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 13th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1980. 1017 p.

MEYER, C. R.; LEYGUE-ALBA, N. M. R. **Manual de métodos analíticos enológicos**. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 1991. 49 p.

PEYNAUD, E. **Le goût du vin**: le grand livre de la dégustation. Paris, FR: Dunod, 1980. 239 p.

RIBÉREU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEN, A; DUBOURDIEU, D. **Traité d'oenologie 2**: Chimie du vin et traitements. Paris, FR: Dunod, 1998. 519 p.



# Literatura recomendada

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Análisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acríbia, 1974. 158 p.

AMORIM, H. V. de; ZAGO, E. A.; OLIVEIRA, J. A. **Novos métodos analíticos para o controle da fermentação alcoólica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1982. 57 p.

ANGELUCCI, E.; CARVALHO, C. R. L.; CARVALHO, P. R. N.; FIGUEIREDO, I. B.; MANTOVANI, D. M. B.; MORAIS, M. R. de. **Análises químicas de alimentos, manual técnico**. Campinas: Ital, 1987. 123 p.

AUGUSTE, M. **Application de la chromatographie en phase liquide à haute pression à l'analyse des moûts et des vins**. 1979. 135 f. Thèse (Doctorat en Oenologie et Ampélogie)–Institut d'Oenologie, Université de Bordeaux II, Talence, France, 1979.

BARCELÓ, J. G. **Metodología de análisis de vinos y derivados**. Vilafranca del Penedès: Sociedad Expendedora del Penedès, 1976. 285 p.

BECCHETTI, R. **Metodi di analisi dei vini**. Novate: Gibertini, 1995. 151 p.

BERTRAND, A. **Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse**. 1975. 291 p. Thèse (Docteur d'État – Sciences)–Université de Bordeaux II, Bordeaux.

BLOUIN, J. **Manuel pratique d'analyses des moûts & des vins**. Bordeaux: Chambre d'Agriculture de la Gironde–Service de la vigne et du vin, 1977. 205 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. **Metodologia de análise de bebidas e vinagres**. Brasília, DF: 1986. 69 p.

CANTAGREL, R.; SYMONDS, P.; CARLES, J. Dosage du glycérol dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. **Revue Française d'Oenologie**, Paris, FR, v. 72, p. 37-39, 1978.



- DELANOË, D.; MAILLARD, C.; MAISONDIEU, D.; MICONI, C. **Il controllo tecnologico del vino attraverso l'analisi**. Brescia: AEB, 1989. 217 p.
- GAROGLIO, P. G. **Enciclopedia vitivinicola mondiale**. Firenze: Tellus, 1973. v. 5, 118 p.
- GAROGLIO, P. G. **Principi di chimico-fisica nei metodi di analisi basati sulla strumentologia moderna**. Milano: Edizioni Scientifiche UIV, 1973. 333 p.
- GIANNESSI, P.; MATTA, M. **Trattato di scienza e tecnica enologica: analisi e controllo dei mosti e dei vini**. Brescia: AEB, 1987. v. 1, 349 p.
- LACASTA, F. **Dosage de quelques métaux dans les vins par spectrométrie d'absorption et d'émission de flamme**. Bordeaux: Université de Bordeaux II – Station Agronomique et Oenologique, 1982. 66 p. (Rapport de Stage B.T.A.O.).
- MORI, L. **Metode razionali di analisi nella moderna tecnica enologica**. Roma, IT: Luigi Scialpi, 1975. 211 p.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica: métodos e interpretações**. Porto Alegre: Médica Missau, 1989. 355 p.
- NAVARRÉ, C. **L'oenologie**. Paris, FR: Technique et documentation (Lavoisier), 1988. 302 p.
- OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN. **Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts**. Paris, FR, 1990. 368 p.
- PERKIN-ELMER. **Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry**. Singapura: Perkin Elmer Instruments, 2000. 300 p.
- RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P. **Sciences et techniques du vin**. Paris, FR: Dunod, 1976. v. 1. 676 p.
- TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BIASSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEIS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS–Faculdade de Agronomia– Departamento de Solos, 1995. 174 p. (Boletim Técnico, 5).
- UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II. Institut d'Oenologie. **Cahier de travaux pratiques**. Bordeaux: 1982. 130 p.
- USSEGLIO-TOMASSET, L. **Chimica enologica**. Brescia: AEB, 1995. 431 p.







Na Livraria Embrapa, você encontra  
livros, fitas de vídeo, DVDs e  
CD-ROMs sobre agricultura,  
pecuária, negócio agrícola, etc.

Para fazer seu pedido, acesse  
**[www.embrapa.br/liv](http://www.embrapa.br/liv)**

ou entre em contato conosco

**Fone: (61) 3448-4236**

**Fax: (61) 3448-2494**

**[vendas@sct.embrapa.br](mailto:vendas@sct.embrapa.br)**

*Impressão e acabamento*  
***Embrapa Informação Tecnológica***

*O papel utilizado nesta publicação foi produzido conforme a certificação da Bureau Veritas Quality International (BVQI) de Manejo Florestal.*

# Embrapa

## Uva e Vinho

A edição deste livro tem o objetivo de auxiliar enólogos, estudantes, produtores de vinho e demais interessados no processamento agroindustrial da uva, fornecendo-lhes informações sobre a metodologia analítica para avaliar a composição e a qualidade dos vinhos.

Este livro descreve as metodologias analíticas básicas que informam sobre a composição físico-química do vinho, cujos parâmetros são necessários para comprovar o seu enquadramento nos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) e para avaliar a sua qualidade, detectar eventuais problemas ocorridos nas diferentes etapas do processamento, e garantir a sua procedência e genuinidade. A implementação da análise dos vinhos por meio de tais métodos representa um avanço importante para a cadeia produtiva, pois permite conhecer em detalhes a sua composição e comercializar com segurança o produto, agregando-lhe valor.

Os métodos propostos neste livro foram selecionados, adaptados e implementados em vinhos experimentais no laboratório de Enoquímica da Embrapa Uva e Vinho, de Bento Gonçalves, RS, e seus resultados deram suporte para a realização de grande número de projetos de pesquisa e de publicações técnicas, além de atender à demanda externa por análises de vinho da parte do setor vitivinícola brasileiro.

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



CGPE 8861