

ESAV
2019 / 20

**CURSO TÉCNICO SUPERIOR PROFISSIONAL
(CTeSP)**
-
em Viticultura e Enologia

Caraterização de Vinhos e Derivados
Componente de Caraterização Físico-química



Fernando J. Gonçalves



1. DETERMINAÇÃO DOS FENÓIS TOTAIS (método reduzido)

1.1 Princípio do método: Baseia-se na oxidação das substâncias com o grupo fenol, pelo reagente de Folin-Ciocalteu, dando origem a uma mistura de óxidos azuis de molibdénio e tungsténio.

1.2 Reagentes:

- Solução aquosa de carbonato de sódio (7,5% m/v)
- Solução de Folin-Ciocalteu (10 % v/v)

1.3 Procedimento experimental:

A) Vinhos Tintos

1. Num tubo de ensaio juntar 2 mL de solução de vinho (vinho diluído 1:50), 10 mL de sol de Folin-Ciocalteu e 8 mL da sol de carbonato de sódio.
2. Esperar 30 min ao abrigo da luz.
3. Ler a absorvência a 700 nm, em células de 1 cm, contra um branco

B) Vinhos Brancos

1. Num tubo de ensaio juntar 2 mL de solução de vinho (vinho diluído 1:10), 10 mL de sol de Folin-Ciocalteu e 10 mL da solução de carbonato de sódio.
2. Esperar 30 min ao abrigo da luz.
3. Ler a absorvência a 700 nm, em células de 1 cm, contra um branco

Nota: o ensaio em branco é feito de forma semelhante à descrita anteriormente, sendo a amostra substituída por 2 mL de água destilada.

1.4 Resultados:

$$\text{Fenóis totais} = \text{Abs}_{700} \times 100$$

2. ANTOCIANAS TOTAIS

2.1 Princípio:

O método baseia-se na formação de um composto corado em meio ácido.

2.2 Reagentes:

- Ácido clorídrico
- Etanol

2.3 Procedimento experimental:

1. Num copo colocar 1 mL de HCl, 70 mL de etanol e 30 mL de água destilada.
homogeneizar a solução;
2. Colocar 1 mL de vinho num balão de diluição de 50 mL e perfazer o conteúdo do balão com a solução preparada anteriormente. Homogeneizar a solução; (fazer em triplicado)
3. Encher as células de 1 cm de percurso óptico e efetuar as leituras no espectrofotómetro a 540 nm (calibrar com água);

2.4 Resultados:

Antocianas Totais (mg/L) = $Abs_{540} \times 16,17 \times f.d.$ (neste caso, f.d.=50)

3. TANINOS TOTAIS

3.1 Princípio do método:

Baseia-se na capacidade de proantocianidinas originarem antocianidinas por aquecimento em meio ácido.

3.2 Reagentes:

Solução standard: num copo juntar 100mL de HCl, 100 de álcool butílico (ou butanol) e 60 mg de ferro (149,8 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

3.3 Procedimento experimental:

1. Retirar 1 mL de amostra para um balão de diluição de 50 ml e perfazer o conteúdo com água destilada. Tapar e homogeneizar a solução; (sol A).
2. Colocar num tubo de ensaio 2 mL da solução A e adicionar 6 ml da solução standard. Tapar o tubo de ensaio e agitar cuidadosamente.
3. Dividir o conteúdo em dois tubos de ensaio, ou seja, transferir 4mL do conteúdo para outro tubo de ensaio;
4. Um dos tubos é levado a banho fervente (tubo 1) durante 30 minutos. O outro (tubo 2) é colocado no escuro durante 30 minutos;
5. Determinar a absorvâncias das soluções no espectrofotómetro a 540 nm;

3.4 Resultados:

Taninos Totais (g/L) = $(\text{Abs}_1 - \text{Abs}_2) \times 0,1736 \times \text{f.d.}$ (neste caso, f.d.=50)

4. Intensidade e Tonalidade da Cor

4.1 Definição: Chamam-se características cromáticas de um vinho à sua luminosidade e à sua cromaticidade (C.I.E., 1931).

A luminosidade corresponde à transmitância, e varia em razão inversa à intensidade corante do vinho. A cromaticidade corresponde ao comprimento de onda dominante que o caracteriza quanto à tonalidade e pureza.

4.2 Aparelhos e Reagentes:

Espectrofotómetro UV/Vis; células de 1mm de percurso óptico

4.3 Procedimento Experimental:

1º Leitura direta das absorvências a 420, 520 e 620nm, em células de 1mm de percurso óptico.

4.4 Resultados:

$$\text{Intensidade da cor (IC)} = (\text{Abs}_{420} + \text{Abs}_{520} + \text{Abs}_{620}) \times 10$$

$$\text{Tonalidade da cor: } A_{420} / A_{520}$$

5. DETERMINAÇÃO DE SULFATOS

(Método de Marty)

5.1. Fundamento: Os sulfatos presentes precipitam por acção do cloreto de bário, originando sulfato de bário insolúvel.

5.2. Material:

- Tubos de ensaio, Pipetas, Funil e Papel de filtro
- Banho-maria a 100°C

5.3. Reagentes:

- Solução de Marty: Num balão volumétrico de 1L, juntar 2.804g de cloreto de bário ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e 10mL de ácido clorídrico (previamente diluído em água) e perfazer até à marca com água destilada (1mL desta solução corresponde a 0,2g de sulfato de potássio por litro de amostra, operando-se sobre 10ml de amostra).
- Solução de cloreto de bário a 10% (m/v)
- Solução de ácido sulfúrico 1N

5.4. Procedimento:

- 1- Pipetar 10mL de vinho filtrado para cada um de 3 tubos de ensaio (A, B e C) e aquecer em banho-maria durante 30 minutos para eliminação do ácido acético.
- 2- Adicionar no tubo A 3,5mL, no tubo B 5ml e no tubo C 7,5mL da solução de Marty.
- 3- Agitar e lavar à ebulição em banho-maria durante 5 minutos, arrefecer (1-2h) e filtrar.
- 4- Dividir em volumes iguais o líquido filtrado de cada tubo (tubos: A1 e A2; B1 e B2; C1 e C2).
- 5- Adicionar aos:
 - tubos 1: 1mL da solução de cloreto de bário a 10% e
 - tubos 2: 1mL de solução de ácido sulfúrico 1N (ou 0,5M).

5. Resultados:

O teor em sulfatos é determinado de acordo com a seguinte tabela:

	<u>TUBOS</u>	<u>K₂SO₄ (g/l)</u>
A	a	turvo com H ₂ SO ₄
	a	límpido com BaCl ₂
	a'	límpido com H ₂ SO ₄
	a'	turvo com BaCl ₂
B	b	turvo com H ₂ SO ₄
	b	límpido com BaCl ₂
	b'	límpido com H ₂ SO ₄
	b'	turvo com BaCl ₂
C	c	turvo com H ₂ SO ₄
	c	límpido com BaCl ₂
	c'	límpido com H ₂ SO ₄
	c'	turvo com BaCl ₂
		menos de 0,7
		mais de 0,7
		menos de 1,0
		mais de 1,0
		menos de 1,5
		mais de 1,5

6. DETERMINAÇÃO DE CLORETOS NO VINHO

6.1. Fundamento:

Os cloretos presentes no vinho precipitam por ação de uma solução de nitrato de prata, sob a forma de cloreto de prata.

6.2. Reagentes:

- solução de nitrato de prata: Num balão volumétrico de 1L, juntar 2,406g de nitrato de prata (AgNO_3) e 40mL de ácido nítrico (previamente diluído em água) e perfazer até à marca com água destilada (1mL desta solução precipita 1mg de NaCl)
- Ácido nítrico concentrado
- solução de cloretos (ex. cloreto de bário)

6.3. procedimento Experimental:

- 1º Para um tubo de ensaio medir 10 mL de vinho e 10mL de solução de nitrato de prata.
- 2º Levar o tubo à ebulição e juntar 1-2 mL de ácido nítrico concentrado. A solução adquire a cor amarela clara.
- 3º Deixar arrefecer e filtrar com filtro lavado com água destilada morna.
- 4º Ao filtrado adicionar 4-5 gotas da solução de cloretos

6.4. Resultados:

Se o líquido turvar, o vinho possui menos de 1g/L

7. Azoto Total

7.1 Princípio:

Mineralização pelo ácido sulfúrico em presença de um catalisador, alcalinização dos produtos da reacção e titulação do amoníaco libertado por destilação.

7.2 Reagentes:

- Ácido sulfúrico concentrada
- solução saturada de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Hidróxido de sódio a 40% (m/v)
- ácido bórico 1%
- ácido clorídico 0,1 N
- Indicador misto: misturam-se 100 mL de vermelho de metilo a 0,1% com 25 mL de azul de metileno a 0,1%.

7.3 Procedimento:

1. Colocar num tubo de kjeldhal 10 mL de vinho + 10mL de ácido sulfúrico + 1mL de sulfato de cobre.
2. Mineralizar durante 30min a 420°C (atinge a cor verde claro).
3. Deixar arrefecer até 50-60° e destilar (adição automática de 20mL de NaOH)
4. Recolher o destilado num erlenmeyer contendo 20 mL de ácido bórico (adição automática) e umas gotas de indicador misto.
5. Titular com a solução de HCl (volume gasto em mL= V).

7.4 Resultados

$$\text{Azoto total (g/L)} = V \times 0,14$$

8. Determinação Colorimétrica Rápida do ácido tartárico

8.1 Princípio:

O ácido L(+)-tartárico é o ácido específico das uvas, sendo muito rara a sua existência noutras espécies vegetais. É o ácido mais importante dos vinhos, pelos teores em que se encontra e pelas suas características químicas e organolépticas.

Princípio do método (Rebelein modificado por M. Vidal e J. Blouin)

O ácido tartárico reage com o ácido vanádico dando origem a uma coloração amarelo alaranjado mensurável a 500nm. As antocianinas interferem devido à sua cor, por isso efectua-se uma segunda leitura, nas mesmas condições de pH, para eliminar o seu efeito.

8.2 Reagentes:

- **Solução 1** (Solução ácido acético a 30% v/v: Num balão volumétrico de 1L contendo 300ml de água destilada, adicionar 300mL de ácido acético glacial e perfazer com água destilada);
- **Solução 2** (Solução de vanadato de amónio a 1% m/v: num balão volumétrico de 1L, dissolver 10g de vanadato de amónio (NH_4VO_3) em 150mL de NaOH 1N. Adicionar 200mL de uma solução de acetato de sódio a 27%. Completar a 1L com água destilada);
- **Solução 3** (A: num balão volumétrico de 1L, dissolver 4,5g de cloreto de amónio em 150mL de NaOH 1N. Adicionar 200ml de uma solução de acetato de sódio a 27%, completar com água destilada) (B: solução de ácido acético a 30% (Sol1)). A solução 3 é preparada adicionando 1 volume de solução A a um volume de solução B. O seu pH é ajustado para o mesmo valor que o pH de uma mistura de iguais volumes de solução 1 e solução 2, usando NaOH 1N.
- **Solução padrão (10g/L:** Pesar com exatidão 5g de ácido tartárico puro e dissolver num balão de 500mL com água destilada, perfazer até ao traço de aferição com água. A partir da solução padrão preparar soluções contendo 1-2-3-4-5g/L do ácido tartárico.

8.3 Procedimento:

-Em 4 porta-amostras colocar o volume (mL) das soluções de acordo com a tabela seguinte:

Tubo de ensaio	Reação colorida do ácido tartárico		Correção da coloração própria do vinho	
	A	AT	B	BT
Vinho ou sol. Padrão	1	0	1	0
Água	0	1	0	1
Solução 1	10	10	0	0
Solução 2	10	10	0	0
Solução 3	0	0	20	20

- Agitar e após 15 minutos ler a absorvância a 500nm, em cuvetes de 1 cm de percurso óptico.
- Fazer as seguintes correções: da solução A usando para testemunha a solução AT ($abs_A - abs_{AT}$); da solução B usando para testemunha a solução BT ($abs_B - abs_{BT}$).
- Estabelecer, nestas condições uma curva padrão com soluções contendo 1 a 5g de ácido tartárico (representação gráfica “absorvância vs concentração de ácido tartárico”).

8.4 Resultados

Para cada amostra, aplicar o valor final da absorvância ($abs_A - abs_{AT}$) - ($abs_B - abs_{BT}$) na curva de calibração e calcular a concentração de ácido tartárico.