

Puede determinarse el contenido de tanino  
en tiempo real, tonel por tonel



## Análise físico-química de vinhos (novos)

### Objectivo

Conclusão da ferm. alcoólica:

Estado de conservação:

Composição em ácidos:

Presença de polifenoloxidasas:

### Parâmetro

Massa volúmica

Açúcares redutores

Teor alcoólico adquirido

Acidez volátil

pH

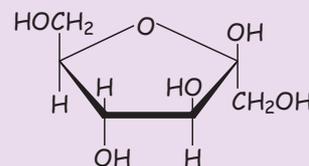
Acidez Total

F. Maloláctica (Ác. Málico/Ác. Láctico)

Prova de ar

# Açúcares

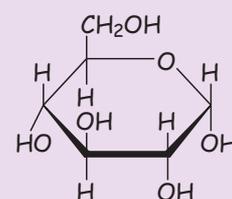
Representa uma parte importante do mosto e também do vinho, sendo constituída principalmente de frutose e glicose



Frutose

Outros açúcares presentes são a ramnose, arabinose e xilose

E dissacarídeos como a sacarose



Glicose

## Determinação de açúcares redutores vinho

### 1. OBJETIVO

A determinação do teor de açúcares é feita freqüentemente para conhecer o término da fermentação, para cumprir os requisitos legais ou comerciais sobre o índice de açúcares em um tipo de vinho e no controle de qualidade de vinhos e seus derivados. O método utilizado e descrito a seguir é por via química e fundamenta-se na oxidação dos açúcares pelo íon cúprico do licor de Fehling sob ebulição e meio alcalino. Os produtos de oxidação nem sempre são os mesmos e variam com o tempo de titulação e concentração, razão pela qual é necessário estabelecer normas tanto para a titulação quanto para a concentração. Assim, o teor em açúcar do vinho não deverá ser maior que 10 g/L (reconhecido através de densímetro), caso contrário, será necessário diluir a amostra antes da titulação.

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

Suporte universal;

- Garra para suporte universal;
- 2 pipetas de 5 mL;
- Erlenmeyer de 250 mL;
- Erlenmeyer de 300 mL (no caso de vinhos tintos);
- Béquer de 250 ou 300 mL (no caso de vinhos tintos);
- Funil (no caso de vinhos tintos);
- Papel filtro (no caso de vinhos tintos);
- Espátula (no caso de vinhos tintos)
- Carvão ativo (no caso de vinhos tintos);
- Solução de licor de Fehling A;
- Solução de licor de Fehling B;
- Azul de metileno (1%);
- Ácido clorídrico;
- Balão de 100 mL;
- Pipetas volumétricas de 5 mL 10 mL e 20 mL;
- Béquer de 2000 mL;

## 3. INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES NÃO-REDUTORES

### 3.1. DILUIÇÃO NOS VINHOS COM BASE NA DENSIDADE

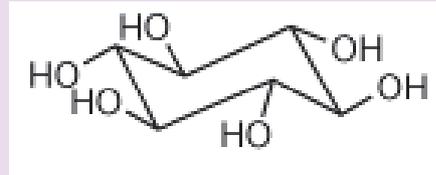
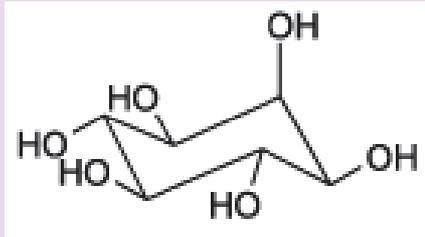
- Densidade de 1000 a 1009 - 5 diluições (20 mL de vinho em um balão de 100 mL).
- Densidade de 1009 a 1019 - 10 diluições (10 mL de vinho em um balão de 100 mL).
- Densidade acima de 1020 - 20 diluições (5 mL de vinho em um balão de 100 mL).

Diluir conforme a densidade, adicionando ao balão 1 mL de ácido clorídrico e água destilada sem completar até o menisco. Leva-se ao banho-maria por 15 minuto, mantendo uma temperatura em torno de 75°C. Esfriar à temperatura ambiente e aferir o volume com água destilada. Titular conforme açúcares redutores.

**Cálculo:  $50 \times n^\circ$  de diluições/volume gasto (mL) = g/L de açúcares não-redutores**

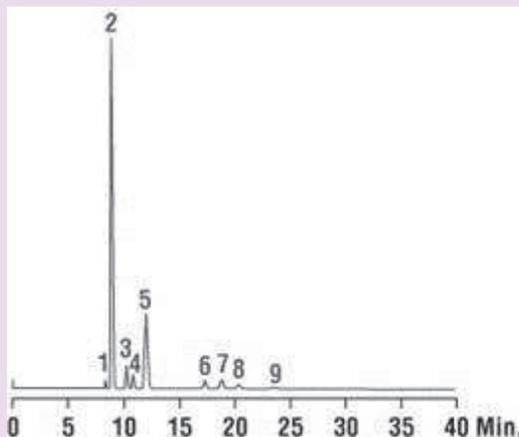
# Inositol

Controle de garantia com relação a origem



## Determinação cromatográfica

Água ACN detector por índice de refração



1. iso-Eritritol
2. Frutose
3. Sorbitol
4. Mannitol
5. Glicose
6. Inositol
7. Sacarose
8. Maltitol
9. Maltose

# Alcool etílico

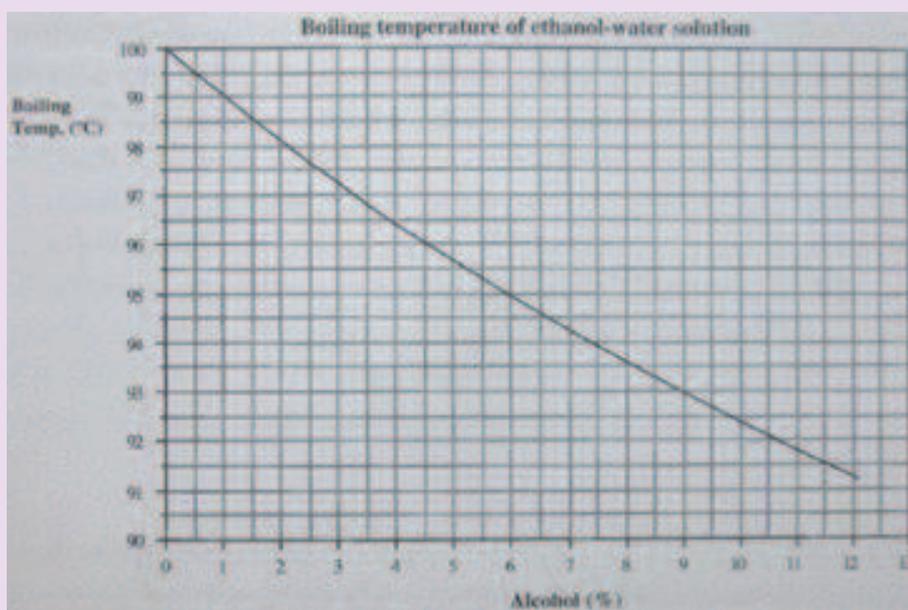
Maior concentração depois da água, influencia notavelmente as características organolépticas do vinhos, apresenta característica doce , solubiliza os componentes que consituem o bouquet do vinho .

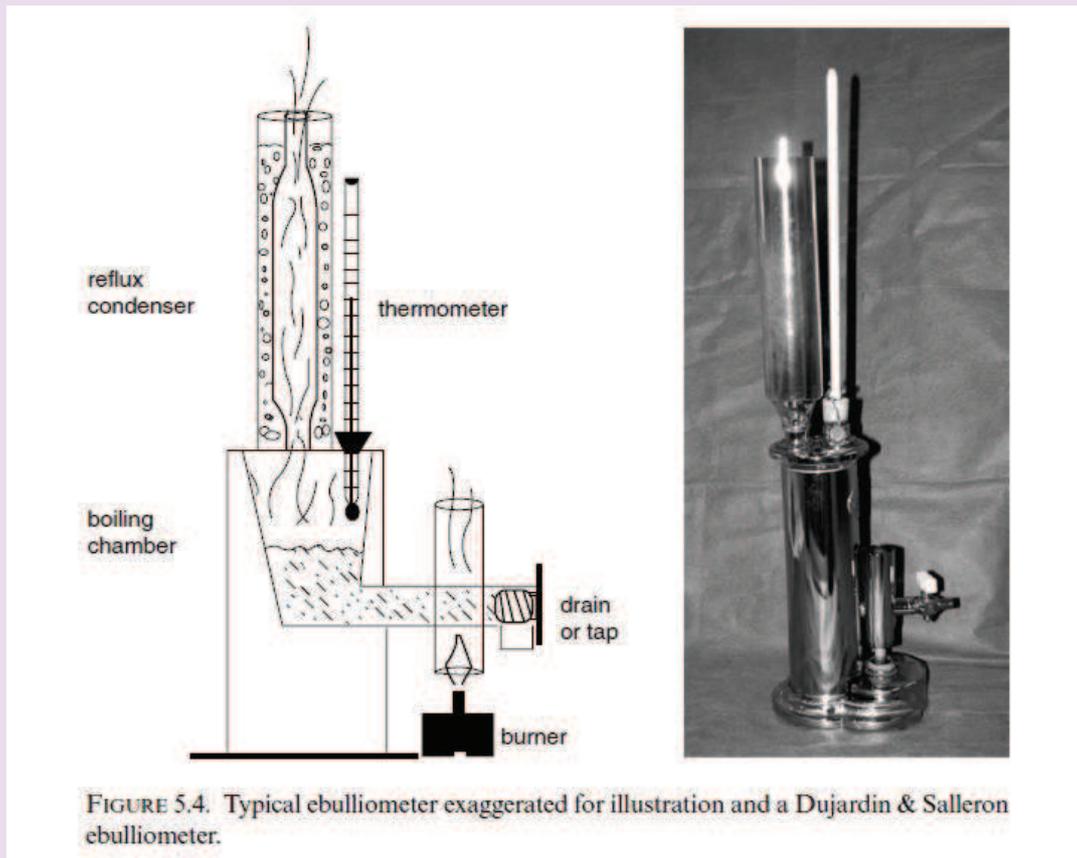
E é obtido pela fermentação dos açucares



## Determinação alcólica

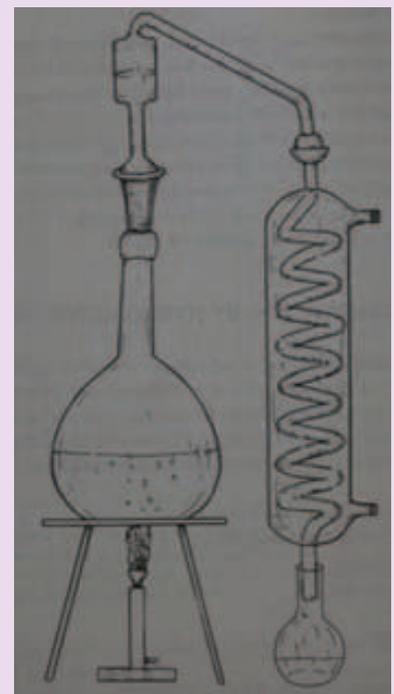
O método ebuliométrico é o método mais simples para determinação da concentração alcólica de uma bebida.

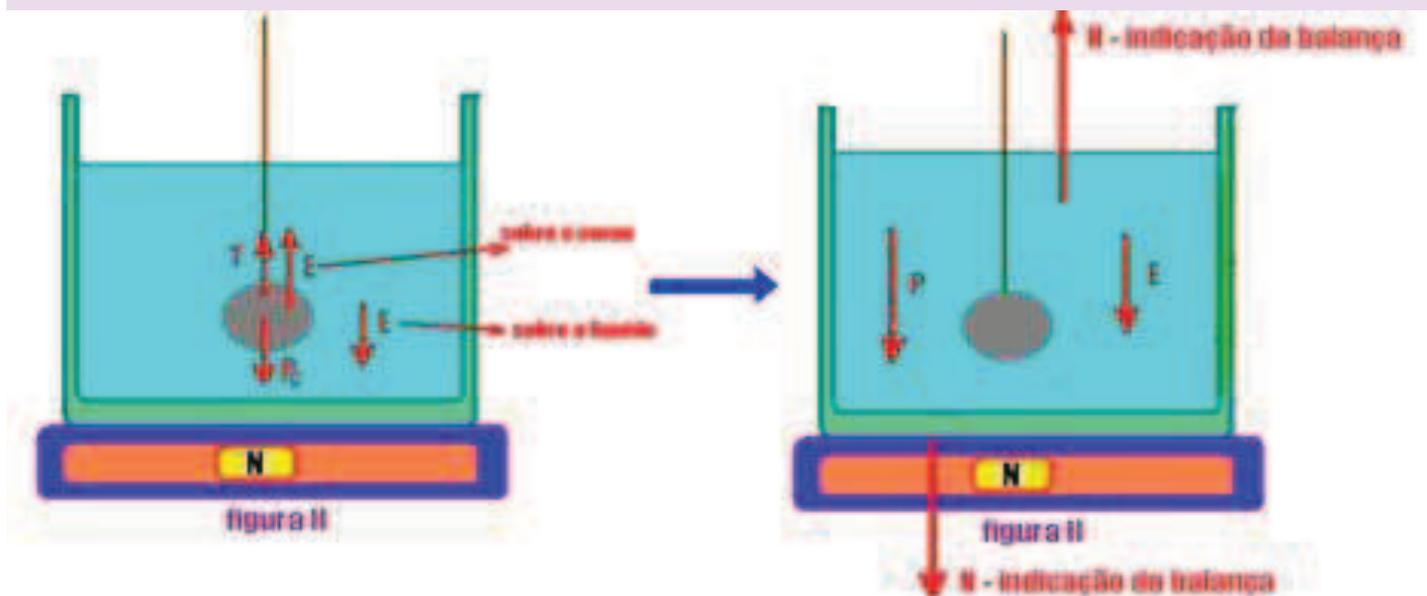




## Medida densimétrica

Outro método simples e bastante utilizado baseia-se na densidade da mistura etanol-água correlacionado com o grau alcólico, o vinho é destilado e pode ser mensurado por uma balança hidrostática que funciona com base no princípio de Arquimedes que considera que um corpo mergulhado em um líquido recebe um impulso igual ao peso do líquido deslocado, o peso dividido pelo volume dá a densidade, ou também pode ser utilizado um alcoômetro (densímetro)

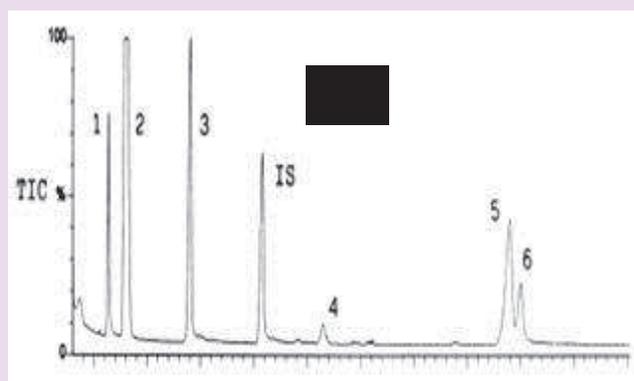




## Alcois Superiores

São oriundos do catabolismo dos aminoácidos e os principais são 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol e 2-metil-1-butanol

E influenciam bastante no aroma e no gosto do vinho.



1-propanol, etil acetato, 2-metil-1-propanol, 3-1-butanol (standard interno), 4-etil acetal, 5-3-metil-1-butanol e 6-2-metil-1-butanol

# Extrato Seco

O extrato seco se compõe de todas as substâncias não voláteis do vinho as quais se encontram no vinho em solução ou ao estado coloidal. São as substâncias: açúcar, glicerina, bitartarato, tartarato, ácidos fixos, matéria corante e nitrogenada, polifenóis, etc. Na prática de análise de vinhos, a determinação do extrato seco contribui para avaliar a qualidade dos vinhos, sua determinação se faz por métodos diretos e indiretos. O método oficial brasileiro é direto e por evaporação.

## **2. MATERIAIS E REAGENTES**

- Destilador eletrônico enoquímico;
- Pipeta graduada (10 mL);
- Balão volumétrico de 100 mL;
- Balança hidrostática;
- Cilindro para balança hidrostática;
- Solução de óxido de cálcio (12%);
- Solução antiespumante;
- Água destilada.

## **INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO UTILIZANDO BALANÇA HIDROSTÁTICA**

Coloca-se a amostra em um balão de 100 mL e afere-se a 20°C. Liga-se o destilador eletrônico enoquímico e coloca-se a amostra (100 mL) no balão do destilador. Lava-se o balão de 100 mL 2 vezes com água colocando a água de lavagem juntamente com a amostra no destilador. Coloca-se o balão de 100 mL para recolher o destilado juntamente com o peso específico (100 mL). Para alcalinizar a amostra, utiliza-se de 5 a 10 mL de óxido de cálcio (12%) e antiespumante (5 a 7 gotas) para o destilado não ser contaminado com substâncias indesejáveis. Tapa-se o destilador e inicia-se a destilação (2 eletrodos que formam uma corrente elétrica em meio alcalino) apertando a tecla START. Quando a destilação terminar, aferir o balão a 20°C e colocar o destilado no cilindro.

Coloca-se a amostra de vinho no cilindro para balança hidrostática até no menisco. Colocar o cilindro com a amostra na balança hidrostática e submergir o termômetro da balança e o floter na amostra. Colocar no programa de determinação de extrato seco e gravar dado. Depois disso, fazer a medição do extrato seco através da densidade do destilado rechamando o dado gravado do vinho. Através da densidade do destilado e do vinho o cálculo do extrato seco é obtido.

### **3.1. CÁLCULO DO EXTRATO SECO REDUZIDO**

O extrato seco reduzido é o extrato no qual permanece somente 1 g/L de açúcar.

**Cálculo:**

Extrato Seco Reduzido (g/L) = Extrato Seco (g/L) - (açúcar (g/L) - 1)

### **3.2. CÁLCULO DA RELAÇÃO ÁLCOOL/EXTRATO SECO**

A relação álcool/extrato seco tem por finalidade controlar a genuinidade dos vinhos.

A legislação prevê valores máximos que são:

- Tinto comum: 4,8
- Tinto Vinífera: 5,2
- Rosé comum: 6,0
- Rosé vinífera: 6,5
- Branco comum: 6,5
- Branco vinífera: 6,7

**Cálculo:**

Relação álcool/Extrato Seco = 
$$\frac{\text{Álcool (}^\circ \text{GL)} \times 8}{\text{Extrato Seco} - (\text{açúcar} - 1)}$$

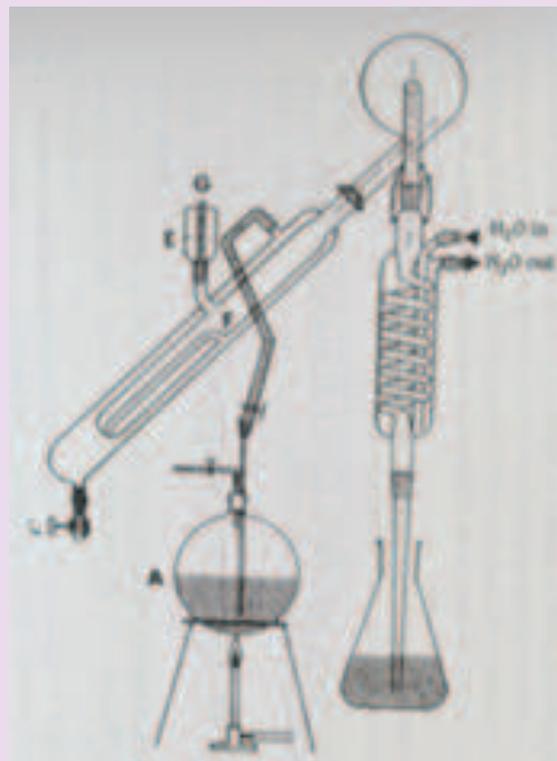
# Acidez Titulável

## 1. OBJETIVO

Essa determinação é muito importante, tanto para a caracterização do vinho, tanto para o reconhecimento de fraudes e alteração microbiana. Por ação das bactérias, a acidez total e a acidez fixa diminuem e aumenta a acidez volátil. O mesmo acontece na fermentação malolática. O vinho é um meio menos ácido que o mosto de que provém, já que durante a fermentação alcóolica precipita bitartrato de potássio, sendo que o mesmo ocorre durante a conservação e o envelhecimento.

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

- Béquer;
- Pipeta volumétrica de 10 mL;
- Bureta;
- Suporte universal;
- Garra para suporte universal;
- Solução de fenolftaleína (10 g/L em álcool);
- Solução de hidróxido de sódio 0,1N.



### 3. INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL

Pipeta-se 10 mL da amostra no erlenmeyer e adiciona-se 3 gotas de fenolftaleína . Colocar a solução de NaOH na bureta e titula-se com a amostra até coloração rósea. Anota-se o volume gasto de NaOH.

#### 3.1. Cálculo da acidez total titulável

Volume gasto (mL) x 10 = acidez total em meq/L.

Volume gasto (mL) = cm<sup>3</sup>

Volume gasto (mL) x 0,75 = g/L em ácido tartárico.

Volume gasto x 0,49 = g/L em ácido sulfúrico.

<i>Known Expression</i>	<i>Desired Expression</i>			
	<i>meq/l</i>	<i>g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>	<i>g/l tartaric acid</i>	<i>g/l acetic acid</i>
<i>meq/l</i>	1.00	0.049	0.075	0.060
<i>g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>	20.40	1.00	1.53	1.22
<i>g/l tartaric acid</i>	13.33	0.65	1.00	
<i>g/l acetic acid</i>	16.67	0.82		1.00

*Multiplier to pass from one expression of total or volatile acidity to another*

# ACIDEZ VOLÁTIL

## 1. OBJETIVO

A acidez volátil de um vinho é a base do diagnóstico do estado de conservação deste. A acidez volátil aumenta por causas patogênicas devido à decomposição da glicerina dos açúcares ou ácidos tartárico. Pode-se defini-la como o conjunto dos ácidos da série acética que se encontram em um vinho (exclui-se o ácido láctico, succínico,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$  livre e combinado).

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

- Destilador eletrônico enoquímico;
- Pipeta volumétrica de 20 mL;
- Erlenmeyer (300mL);
- Bureta;
- Suporte universal;
- Garra para suporte universal;
- Solução de fenolftaleína (10 g/L em álcool);
- Solução de hidróxido de sódio 0,1N.

### 3. INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ VOLÁTIL

Colocar 20 mL da amostra de vinho no destilador eletrônico enoquímico e destilar aproximadamente 250 mL deste. Adicionar 3 gotas de fenolftaleína no destilado e titular com a solução de NaOH até ponto de viragem (rosa). Anotar o volume gasto.

#### 3.1. CÁLCULO DA ACIDEZ VOLÁTIL DE VINHOS

Volume gasto na titulação x 0,3 = g/L de ácido acético.

$\frac{\text{g/L de ácido acético}}{0,6} = \text{volume gasto de NaOH (mL)} \times 10$  na titulação.

0,6

Volume gasto de NaOH na titulação x 10 = meq/L.

### 4. INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ VOLÁTIL EM VINAGRES

Pipetar 20 mL da amostra para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água destilada. Proceder a destilação e a titulação com o mesmo procedimento de vinhos.

#### 4.1. CÁLCULO DE ACIDEZ VOLÁTIL DE VINAGRES

$$\frac{n \times N \times Eq \times f}{10 \times V} = \text{g/L de ácido acético/100 mL de amostra.}$$

n = número de mL da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio

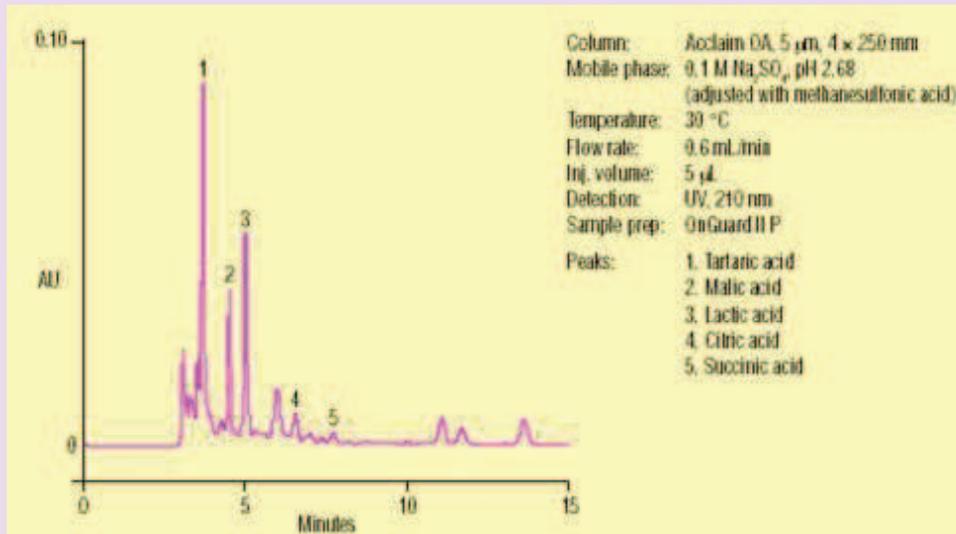
Eq = equivalente grama de ácido acético (60)

F = fator de diluição (diluição 20:500, f = 25);

V = volume da amostra no preparo (20).

# Quadro acido con HPLC

C18 água/acetonitrila a 210 nm



## DETERMINAÇÃO DE SULFATOS

### OBJETIVO

A determinação de sulfatos é realizada através do método aproximativo de Marty. Uma adição de sais no vinho, tanto cloretos como sulfatos, conferem ao mesmo alterações organolépticas indesejáveis (sabor salgado).

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

- 6 tubos de ensaio;
- 1 pipeta volumétrica de 10 mL;
- 2 pipetas graduadas de 1 mL;
- 1 pipeta graduada de 5 mL;
- 1 pipeta graduada de 10 mL;
- Banho-maria a 100°C;
- Funil;
- Papel filtro;
- 3 frascos erlenmeyer de 150 mL;
- Licor de Marty (2,804 g de cloreto de bário e 10 mL de HCl diluídos em 1000 mL – 1 mL dessa solução corresponde a 0,2 g de  $K_2SO_4$ /L de amostra, operando-se sobre 10 mL de amostra);
- Solução de cloreto de bário ( $BaCl_2$ ) a 10%;
- Solução de ácido sulfúrico 1N (30 mL de  $H_2SO_4$  em 1000 mL de  $H_2O$ ).

## 3. INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE SULFATOS

Pipetar 10 mL da amostra em 3 tubos de ensaio (A, B e C) e aquecer em banho-maria durante 30 minutos (para vinho: 5 a 6 minutos) para eliminação do ácido acético. Adicionar no tubo A 3,5 mL, no tubo B 5 mL e no tubo C 7,5 mL do Licor de Marty. Agitar e levar ao banho-maria em ebulição durante 5 minutos, resfriar e filtrar. Dividir o líquido filtrado de cada tubo em 2 volumes iguais nos tubos A, A'; B, B'; C, C'. Adicionar num dos tubos 1 mL da solução de cloreto de bário a 10% e, no outro, 1 mL da solução de ácido sulfúrico 1N. Julgar os tubos de acordo com a seguinte tabela:

**Interpretação dos resultados na determinação de sulfatos (em  $K_2SO_4$ ) conforme a turbidez apresentada pelas amostras após o procedimento analítico.**

TUBOS	ASPECTO	$K_2SO_4$ (g/L)
A	Turvo com $H_2SO_4$ Límpido com $BaCl_2$	<b>Menos de 0,7</b>
A'	Límpido com $H_2SO_4$ Turvo com $BaCl_2$	<b>Mais de 0,7</b>
B	Turvo com $H_2SO_4$ Límpido com $BaCl_2$	<b>Menos de 1,0</b>
B'	Límpido com $H_2SO_4$ Turvo com $BaCl_2$	<b>Mais de 1,0</b>
C	Turvo com $H_2SO_4$ Límpido com $BaCl_2$	<b>Menos de 1,5</b>
C'	Límpido com $H_2SO_4$ Turvo com $BaCl_2$	<b>Mais de 1,5</b>

Fonte: Metodologia de Análises de Bebidas e Vinagres da LANARV (Laboratório de Referência Vegetal - Ministério da Agricultura - Secretaria de Defesa Agropecuária).

## **DETERMINAÇÃO DE CLORETOS**

### **1. OBJETIVO**

Normalmente os vinhos contêm pequenas quantidades de cloretos entre 20 e 200 mg/L, embora esses teores possam variar de acordo com o solo podendo ultrapassar 1 g/L. A adição de cloreto de sódio ao vinho, seja para aumentar o sabor, abrilhantar ou tapar aguado, está proibida pela legislação vigente. A legislação brasileira permite, no máximo, 0,2 gramas de cloretos, expressados em cloreto de sódio. Sua determinação fundamenta-se em mineralizar os vinhos por meio de uma oxidação nitropermangânica e, em seguida, determinação dos cloretos pela técnica de Charpentier- Volland.

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

- Erlenmeyer de 300 mL;
- 1 pipeta de 50 mL;
- Bico de Bunsen com tela de amianto;
- 2 pipetas volumétrica de 20 mL;
- 1 pipeta graduada de 20 mL;
- Bureta;
- Suporte universal;
- Garra para suporte universal;
- Solução de nitrato de prata N/20;
- Ácido nítrico concentrado;
- Solução saturada de permanganato de potássio (6,5%);
- Solução de tiocianato de potássio N/20;
- Solução saturada de sulfato de ferro e amônio.

## INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE CLORETO

Pipetar em um erlenmeyer de 300 mL, 50 mL da amostra de vinho. Aquecer o erlenmeyer até que o volume se reduza a 1/4 para a retirada do álcool. Adicionar 20 mL de solução de nitrato de prata N/20, 15 mL de ácido nítrico concentrado, e 20 mL de solução saturada de permanganato de potássio (6,5%) agitando bem. Reaquecer novamente até a ebulição. Retirar e esfriar. Titular com solução de tiocianato de potássio N/20 utilizando como indicador 5 mL de solução saturada de sulfato de ferro e amônio até coloração rosa-alaranjado.

**Cálculo: 20 - volume gasto (mL) na titulação x 0,0585 = g/L**

**NaCl**

# DETERMINAÇÃO DE COR

## 1. OBJETIVO

A coloração dos vinhos é um dos aspectos mais importantes a ser avaliado tanto pela análise sensorial (aspecto visual) quanto pela determinação do índice de cor por espectrofotometria.

## 2. MATERIAIS

- Espectrofotômetro (HACH – DR/2010);

## 3. INSTRUMENTAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE COR

Escolher o programa para leitura de cor (120) APHA. Ajustar para leitura a 455 nm. Zerar com branco (água destilada) e fazer a leitura (420 nm, 520 nm e 620 nm). Para cubeta de 10 mL colocar elevador de cubeta.

**Intensidade de Cor:**

420 nm – tonalidade azul
520 nm – tonalidade verde
620 nm – tonalidade roxa

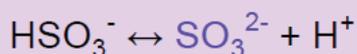
**Densidade da Cor:** 420 nm + 520 nm

$$\text{Índice de Cor: dA (\%)} = \frac{(A_{520} - A_{420} + A_{620})}{2 A_{520}} \cdot 100$$

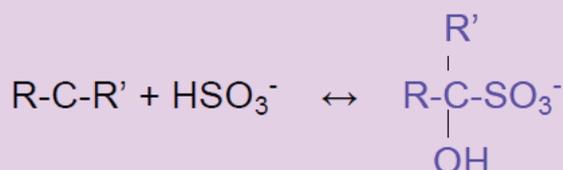
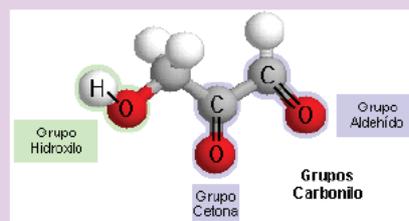
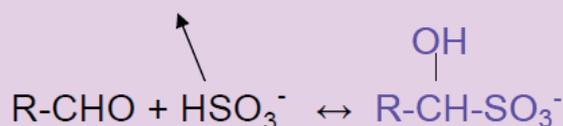
# SO<sub>2</sub>

## Estados em que o SO<sub>2</sub> se pode encontrar

SO<sub>2</sub> LIVRE : SO<sub>2</sub> Molecular, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>



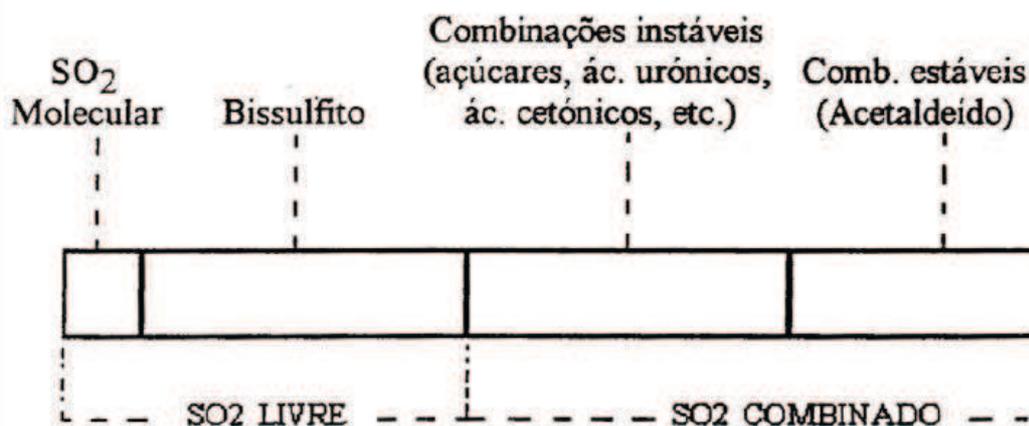
SO<sub>2</sub> COMBINADO: COMBINA-SE C/ MOLÉCULAS COM CARBONILOS



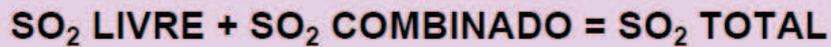
## Estados em que o SO<sub>2</sub> se pode encontrar (Cont.)

SO<sub>2</sub> LIVRE e SO<sub>2</sub> COMBINADO

FIGURA 2 - ESTADO DO SO<sub>2</sub> NOS VINHOS



## Estados em que o SO<sub>2</sub> se pode encontrar (Cont.)



OS LIMITES LEGAIS EXISTENTES, RESPEITANTES À PRESENÇA DESTE COMPOSTO NOS MOSTOS/VINHOS DIZ RESPEITO EXCLUSIVAMENTE AO

**SO<sub>2</sub> TOTAL**

### 1. OBJETIVO

O anidrido sulfuroso livre é aquele que está em estado de SO<sub>2</sub>, ácido sulfúrico e sais neutros ou ácidos (sulfitos ou bissulfitos). Os anidridos sulfurosos, adicionados aos vinhos sob a forma de SO<sub>2</sub> ou sulfitos, se combina praticamente em parte com os açúcares, acetaldeído, matéria corante, tanino, etc., produzindo combinações muitas menos ativas quanto ao seu poder antisséptico, sendo que somente o SO<sub>2</sub> livre conserva suas propriedades anti-sépticas. Por isso é importante ressaltar a importância desta quantificação, para o uso devido e dentro dos parâmetros legais deste composto.

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

- Erlenmeyer (250 mL);
- Pipeta volumétrica de 20 mL;
- Bureta;
- Suporte universal;
- Garra para suporte universal;
- Solução de ácido sulfúrico (1:3);
- Solução de amido 2%;
- Solução de iodo N/50.

## 3. INSTRUMENTAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ANIDRIDO SULFUROSO LIVRE- MÉTODO DE RIPPER

Coloca-se 20 mL de vinho em um erlenmeyer, adiciona-se 2 mL da solução de amido 2% e 3 mL da solução de ácido sulfúrico (1:3). Titula-se com a solução de iodo N/50 até o ponto de viragem azul para vinhos branco e azul violeta para vinhos tintos. Anota-se o volume gasto.

**Resultado: Volume gasto (mL) x 32 = meq./L de SO<sub>2</sub> livre**

## 1. OBJETIVO

A quantificação de anidrido sulfuroso total em vinhos é a soma do anidrido sulfuroso livre mais o combinado com acetaldeídos, açúcares, etc. Fundamenta-se na oxidação do  $\text{SO}_2$  do vinho em presença de amido ou indicador. Apresenta o inconveniente de que atua sobre todas as substâncias oxidáveis do vinho, embora o teor dessas substâncias possa ser desprezado

## 2. MATERIAIS E REAGENTES

- Pipeta graduada (20 mL);
- Pipeta volumétrica de 20 mL;
- Cronômetro;
- Bureta;
- Suporte universal;
- Garra para suporte universal;
- Solução de hidróxido de sódio 1N
- Solução de amido 2%;
- Solução de ácido sulfúrico (1:3);
- Solução de iodo N/50.

## . INSTRUMENTAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ANIDRIDO SULFUROSO TOTAL - MÉTODO DE RIPPER

Pipetar em um erlenmeyer 15 mL de solução de NaOH 1N adicionar 20 mL da amostra, encostando a ponta da pipeta no fundo do erlenmeyer. Deixar em repouso por 15 minutos. Adicionar 2 mL de solução de amido 2% e 5 mL de solução de ácido sulfúrico 1:3. Titular com iodo N/50 até ponto de viragem violeta. Anotar o volume gasto.

**Resultado:** Volume gasto (mL) x 32 = meq./L de SO<sub>2</sub> total.

### Determinação qualitativa do ácido málico (fermentação malolática)

#### ***Objetivo:***

A fermentação malolática é importantíssima no “amadurecimento” do vinho, pois o melhora consideravelmente. É conveniente que a fermentação malolática ocorra somente em vinhos tintos, já que os brancos são consumidos jovens. Os agentes desta fermentação são as bactérias lácticas (cocos e lactobacilos) que transformam o ácido málico em ácido lático.

A fermentação malolática é originada pela decomposição do ácido málico dos vinhos, pela atuação das bactérias anteriormente mencionadas, que nele se desenvolvem produzindo a partir do ácido málico, ácido lático e gás carbônico. Durante a realização da fermentação malolática, a acidez total, vai sendo reduzida porque o ácido málico que é diácido se transforma em ácido lático que é monoácido, e em gás carbônico.

***Princípio:*** Cromatografia de papel.

### ***Materiais e Reagentes:***

- Cuba de vidro para cromatografia de papel.
- Micropipeta;
- Pipeta volumétrica de 50 mL;
- Pipeta volumétrica de 20 mL;
- Papel para cromatografia (sugestão: Wahtman nº 1 ou Schleicher y Schull marcado como “n 2043 a” e “n 2043 b”);
- Butanol em azul de bromofenol (em 1 litro de butanol normal dissolver 1 g de azul de bromofenol);
- Solução aquosa de ácido acético 50%;
- Solução de referência do ácido málico (1 g de ácido málico em 850 mL de água mais 150 mL de álcool a 96°GL);

### ***Procedimento:***

Corta-se uma folha de papel para cromatografia em retângulo com aproximadamente 20 cm de largura e altura inferior a altura da cuba (2 cm a menos). Na parte inferior do retângulo (lado mais largo) traçar uma reta 3 cm para dentro da extremidade da folha e fazer pontos de 3 em 3 cm (nas extremidades 3,5 cm). No primeiro ponto deposita-se com pipeta automática uma gota da solução de referência e sobre os outros pontos, uma gota de cada uma das amostras.

Colocar na cuba 50 mL da solução de butanol/azul de bromofenol e 20 mL de ácido acético (50%). Colocar o papel seco, enrolado e grampeado nas extremidades na cuba cromatográfica. Quando grampear o papel ter o cuidado de não encostar as extremidades.

Feito isto, espera-se que o líquido chegue a 1 cm da extremidade superior do papel (5 a 10 horas para subir). Quando o líquido atingir esta altura, retirar o papel e suspendê-lo em local seco e ventilado. Seca-se até que apareçam sobre a folha manchas amarelas correspondentes aos ácidos orgânicos. No exemplo, só na amostra 2 ocorreu fermentação malolática.

# Maturação Fenólica

**Corresponde ao momento em que se obtém simultaneamente na uva um potencial importante em pigmentos e uma boa capacidade destes serem extraídos (elevada extractibilidade)**

## Métodos de medir a maturação fenólica

1 - No momento em que o teor de polifenóis totais atingiu o seu máximo e começa a decrescer (a extracção deve ser feita sempre nas mesmas condições). *Ribéreau-Gayon, 1998*

2 - Extracção das antocianas em condições distintas: suave (pH3,2) e extrema (pH1). Permite a quantificação do potencial em antocianas e da sua extractibilidade. *Glories, 1990*

# Maturação fenólica

## Método de Glories, 1990

Colheita de 200 bagos

Trituração dos bagos e toma de duas amostras homogéneas de 50 g

Adição à 1ª do seu volume em HCL N/10 (pH1) e à 2ª do seu volume de solução de Ác. Tartárico com pH 3,2 ( $\pm 5$  g/l)

Agitar manualmente e aguardar 4 horas

Após filtração por lã de vidro obtém duas soluções: pH1 e pH3,2

Determina-se em cada uma as antocianas pelo método da descoloração pelo SO<sub>2</sub> sendo respectivamente ApH1 e ApH3,2, ambos em mg/l de mosto. Sobre a solução ApH3,2 determina-se a DO280.

O potencial em antocianas é dado por ApH1

A extractibilidade das antocianas (EA) é dado por:

$$EA(\%) = (ApH1 - ApH3,2 / ApH1) \times 100$$

Varia entre 70 e 20 em função do estado de maturação, diminuindo à medida que as uvas estão mais maduras e por tal facto cedem as antocianas mais facilmente