

I

(Atti per i quali la pubblicazione è una condizione di applicabilità)

Progetto di
REGOLAMENTO (CEE) N. 2676/90 DELLA COMMISSIONE
del 17 settembre 1990
che determina i metodi d'analisi comunitari da utilizzare nel settore del vino

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità economica europea,

visto il regolamento (CEE) n. 822/87 del Consiglio, del 16 marzo 1987, relativo all'organizzazione del mercato vitivinicolo ⁽¹⁾, modificato dal regolamento (CEE) n. 1325/90 ⁽²⁾, in particolare l'articolo 74,

considerando che l'articolo 74, paragrafo 1 del regolamento (CEE) n. 822/87 prescrive l'adozione dei metodi di analisi che consentono di determinare la composizione dei prodotti di cui all'articolo 1 del regolamento in causa e definisce le norme che consentono di stabilire se questi prodotti hanno subito dei trattamenti in violazione delle pratiche enologiche autorizzate;

considerando che, non avendo la Comunità fissato ancora i limiti quantitativi della presenza degli elementi che caratterizzano il ricorso a certe pratiche enologiche e le tabelle che consentono il confronto dei dati analitici, è opportuno autorizzare gli Stati membri a determinare tali limiti;

considerando che l'articolo 13, paragrafo 1 del regolamento (CEE) n. 822/87 prevede un esame analitico riguardante come minimo i valori degli elementi caratteristici del v.q.p.r.d. in questione che figurano tra quelli enumerati nell'allegato del regolamento stesso;

considerando che il controllo delle indicazioni figuranti nei documenti relativi ai prodotti in oggetto rende necessaria l'adozione di metodi d'analisi uniformi che permettano di ottenere dati precisi e comparabili; che tali metodi devono pertanto essere obbligatori per ogni transazione commerciale ed ogni operazione di controllo; che, date le esigenze di controllo e le limitate possibilità del commercio, è tuttavia opportuno ammettere un numero limitato di procedimenti usuali che consentano una determinazione rapida e sufficientemente sicura degli elementi ricercati;

considerando che è opportuno adottare, per quanto possibile, metodi che sono unanimemente riconosciuti, ad esempio i metodi sviluppati nell'ambito della Con-

venzione internazionale per l'unificazione dei metodi d'analisi e di apprezzamento dei vini del 1954 pubblicati dall'Ufficio internazionale della vigna e del vino nella *Raccolta dei metodi internazionali d'analisi del vino*;

considerando che il regolamento (CEE) n. 1108/82 ⁽³⁾ fissa alcuni metodi d'analisi comunitari applicabili nel settore del vino; che, tenuto conto del progresso scientifico, si è reso necessario sostituire con metodi più appropriati taluni metodi, modificarne altri ed introdurre di nuovi, in particolare quelli approvati successivamente dall'Ufficio internazionale della vigna e del vino; che, a causa dell'elevato numero e della complessità di tali adattamenti, è opportuno raggruppare tutti i metodi di analisi in un nuovo regolamento ed abrogare il regolamento (CEE) n. 1108/82;

considerando che, per assicurare la comparabilità dei risultati ottenuti applicando i metodi d'analisi di cui all'articolo 74 del regolamento (CEE) n. 822/87, è opportuno fare riferimento, per quanto concerne la ripetibilità e la riproducibilità di tali risultati, alle definizioni fissate dall'Ufficio internazionale della vigna e del vino;

considerando che, per tenere conto del progresso scientifico e della dotazione dei laboratori ufficiali e per rendere il lavoro di tali laboratori più efficace e produttivo, è opportuno consentire l'applicazione dei metodi di analisi automatizzati a talune condizioni; che è opportuno precisare che, in caso di controversie, i metodi automatizzati non possono sostituire i metodi di riferimento ed i metodi usuali;

considerando che i risultati di una misurazione di densità con il metodo automatizzato basato sul principio del risonatore di flessione sono, in quanto ad accuratezza, ripetibilità e riproducibilità, almeno pari ai risultati ottenuti con i metodi descritti al punto 1 dell'allegato del presente regolamento per la misurazione della massa volumica o della densità relativa; che è quindi opportuno, ai sensi dell'articolo 74, paragrafo 3 del regolamento (CEE) n. 822/87, considerare detto

⁽¹⁾ GU n. L 84 del 27. 3. 1987, pag. 1.

⁽²⁾ GU n. L 132 del 23. 5. 1990, pag. 19.

⁽³⁾ GU n. L 133 del 14. 5. 1982, pag. 1.

metodo automatizzato equivalente ai metodi di cui all'allegato del presente regolamento;

considerando che il modo di operare descritto al capitolo 25, punto 2.2.3.3.2 dell'allegato al presente regolamento per l'analisi del tenore di biossido di zolfo totale dei vini e dei mosti aventi un tenore presunto inferiore a 50 mg/l permette una migliore estrazione di questa sostanza in rapporto al modo di operare descritto nel capitolo 13, punto 13.4 dell'allegato al regolamento (CEE) n. 1108/82; che in tal modo si ottengono tenori più elevati in biossido di zolfo totale che possono superare, specialmente nel caso di alcuni succhi di uva il limite massimo prescritto; che, allo scopo di evitare difficoltà per lo smaltimento di succhi di uva, già elaborati al momento dell'entrata in vigore del presente regolamento ed in attesa che i processi di elaborazione siano adattati per ottenere una desolfitazione più completa dei mosti muti di uva, è necessario permettere durante un periodo transitorio che il modo di operare descritto nel regolamento precitato sia ancora utilizzato;

considerando che le misure previste dal presente regolamento sono conformi al parere del comitato di gestione per i vini,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

1. I metodi d'analisi comunitari applicabili nel settore del vino che consentono, nelle transazioni commerciali e nelle operazioni di controllo:

- di stabilire la composizione dei prodotti di cui all'articolo 1 del regolamento (CEE) n. 822/87,
- di accertare se i prodotti di cui trattasi hanno subito trattamenti che contravvengono alle pratiche enologiche autorizzate,

sono quelli riportati nell'allegato del presente regolamento.

2. Per le sostanze per le quali sono stati fissati metodi di riferimento e metodi usuali, prevalgono i risultati ottenuti applicando i metodi di riferimento.

Articolo 2

Ai fini dell'applicazione del presente regolamento:

- a) la ripetibilità rappresenta il valore al di sotto del quale è situato, con una probabilità specificata, il

valore assoluto della differenza tra due singoli risultati ottenuti mediante misure effettuate nelle stesse condizioni (stesso operatore, stesso apparecchio, stesso laboratorio e breve intervallo di tempo;

- b) la riproducibilità rappresenta il valore al di sotto del quale è situato, con una probabilità specificata, il valore assoluto della differenza tra due singoli risultati ottenuti in condizioni diverse (operatori diversi, apparecchiature diverse e/o laboratori diversi e/o tempi diversi).

Per «singolo risultato» si intende il valore ottenuto applicando una volta e completamente il metodo di analisi normalizzato su un solo campione.

In assenza di indicazioni la probabilità è del 95 %.

Articolo 3

1. Sotto la responsabilità del direttore del laboratorio, i metodi di analisi automatizzati sono ammessi a condizione che la ripetibilità e la riproducibilità dei risultati siano almeno equivalenti a quelle dei risultati ottenuti con i metodi di analisi di cui all'allegato.

In caso di controversie, i metodi automatizzati non possono prevalere su quelli riportati in allegato.

2. Il metodo automatizzato per la misura della densità, basato sul principio della variazione della frequenza di oscillazione, è considerato equivalente ai metodi di cui al punto 1 dell'allegato del presente regolamento.

Articolo 4

Quando si fa riferimento all'acqua per le soluzioni, le diluizioni o i lavaggi, si intende sempre acqua distillata o acqua demineralizzata di purezza almeno equivalente. Tutti i prodotti chimici devono essere di purezza analitica, salvo specificazioni diverse.

Articolo 5

Il regolamento (CEE) n. 1108/82 è abrogato.

Tuttavia l'articolo 1, paragrafo 4 del regolamento precitato resta applicabile fino al 31 dicembre 1990.

Articolo 6

Il presente regolamento entra in vigore il giorno della pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee*.

Esso è applicabile a decorrere dal 1° ottobre 1990.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 17 settembre 1990.

Per la Commissione
Ray MAC SHARRY
Membro della Commissione

ALLEGATO

1. MASSA VOLUMICA A 20 °C E DENSITÀ RELATIVA A 20 °C

1. DEFINIZIONI

La massa volumica è il rapporto fra la massa di un certo volume di vino o di mosto a 20 °C e il volume stesso. Si esprime in grammi per millilitro ed il suo simbolo è $\rho_{20\text{ °C}}$.

La densità relativa a 20 °C o densità 20 °C/20 °C è il rapporto, espresso in numeri decimali, fra la massa di un certo volume di vino o di mosto a 20 °C e la massa dello stesso volume di acqua alla stessa temperatura.

Il suo simbolo è $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$

2. PRINCIPIO DEI METODI

La massa volumica e la densità relativa a 20 °C vengono determinati sul campione di analisi:

- mediante picnometria: metodo di riferimento;
- mediante areometria o densimetria per mezzo della bilancia idrostatica: metodi usuali.

Osservazione:

Per determinazioni molto precise, la massa volumica deve essere corretta dell'azione del biossido di zolfo:

$$\rho_{20\text{ °C}} = \rho'_{20\text{ °C}} - 0,0006 \cdot S$$

$$\rho_{20\text{ °C}} = \text{massa volumica corretta}$$

$$\rho'_{20\text{ °C}} = \text{massa volumica osservata}$$

$$S = \text{biossido di zolfo totale in g/l}$$

3. TRATTAMENTO PRELIMINARE DEL CAMPIONE

Se il vino o il mosto contengono quantità notevoli di biossido di carbonio, eliminarne la maggior parte agitando 250 ml di campione in un pallone da 1 000 ml o filtrando sotto vuoto su 2 g di cotone collocato in un'allunga.

4. METODO DI RIFERIMENTO

4.1. Apparecchiatura

Materiale d'uso comune in laboratorio, in particolare:

- 4.1.1. Picnometro ⁽¹⁾, in vetro pyrex da circa 100 ml provvisto di un termometro mobile con raccordo smerigliato, graduato in decimi di grado da 10 °C a 30 °C. Tale termometro deve essere controllato (fig. 1).

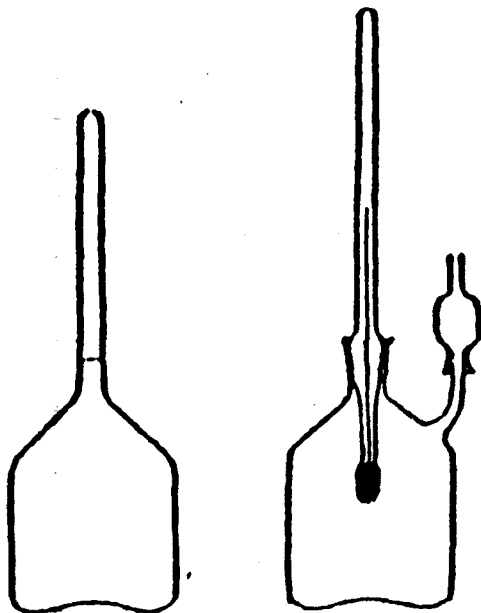


Fig. 1

Picnometro e relativo pallone tara

⁽¹⁾ Si può usare qualsiasi picnometro avente caratteristiche equivalenti.

Detto picnometro porta un tubo laterale di 25 mm di lunghezza e di 1 mm al massimo di diametro interno, terminante con una parte conica smerigliata. Questo tubo laterale può essere chiuso da un «tappo ricevitore» costituito da un tubo conico smerigliato terminante con una parte affilata. Questo tappo serve da camera di dilatazione.

Le due smerigliature dell'apparecchiatura devono essere realizzate con la massima cura.

- 4.1.2. Pallone tara avente lo stesso volume esterno del picnometro (a meno di circa 1 ml) e di massa uguale alla massa del picnometro pieno di un liquido di densità 1,01 (soluzione al 2 % m/v di cloruro di sodio).

Involucro coibentato che si adatta perfettamente al corpo del picnometro.

- 4.1.3. Bilancia a due piatti con portata di almeno 300 g e sensibilità di 0,1 mg, oppure bilancia monopiatto con portata di almeno 200 g e sensibilità di 0,1 mg.

4.2. Taratura del picnometro

La taratura del picnometro comporta la determinazione delle seguenti caratteristiche:

- tara a vuoto,
- volume a 20 °C,
- massa dell'acqua a 20 °C.

4.2.1. Utilizzazione di una bilancia a due piatti

Una volta collocato il pallone tara sul piatto sinistro della bilancia ed il picnometro pulito ed asciutto munito del relativo «tappo ricevitore» sul piatto destro, raggiungere l'equilibrio ponendo accanto al picnometro i pesi necessari: p grammi.

Riempire con cura il picnometro con acqua distillata a temperatura ambiente ed immergere il termometro; asciugare con cura il picnometro e collocarlo nell'involucro coibentato; agitare capovolgendo finché la temperatura letta al termometro sia costante. Portare il livello esattamente al bordo superiore del tubo laterale. Asciugare questo tubo ed applicare il «tappo ricevitore»; leggere la temperatura t °C con accuratezza ed effettuare l'eventuale correzione della scala del termometro. Pesare il picnometro pieno d'acqua: sia p' la massa in grammi che realizza l'equilibrio.

Calcoli⁽¹⁾

Tara del picnometro vuoto:

$$\text{Tara a vuoto} = p + m$$

m = massa d'aria contenuta nel picnometro

$$m = 0,0012 (p - p')$$

Volume a 20 °C:

$$V_{20^\circ\text{C}} = (p + m - p') \cdot F_t$$

F_t = fattore ricavato dalla tabella I per la temperatura t °C

$V_{20^\circ\text{C}}$ deve essere noto con l'approssimazione di $\pm 0,001$ ml

Massa in acqua a 20 °C:

$$M_{20^\circ\text{C}} = V_{20^\circ\text{C}} \cdot 0,998203$$

0,998203 = massa volumica dell'acqua a 20 °C.

(1) Al punto 6 del presente capitolo si riporta un esempio numerico.

4.2.2. *Utilizzazione di una bilancia monopiatto*

Determinare:

- la massa del picnometro pulito ed asciutto: P;
- la massa del picnometro pieno d'acqua, a t °C: P₁ seguendo le indicazioni di cui al punto 4.2.1;
- la massa del pallone tara T₀.

Calcoli ⁽¹⁾:

Tara del picnometro vuoto:

Tara a vuoto: P - m

m = massa d'aria contenuta nel picnometro

$m = 0,0012 (P_1 - P)$

Volume a 20 °C

$V_{20^{\circ}\text{C}} = [P_1 - (P - m)] \cdot F_t$

F_t = fattore ricavato nella tabella I in corrispondenza alla temperatura t °C

Il volume a 20 °C deve essere noto con l'approssimazione di ± 0,001 ml.

Massa dell'acqua a 20 °C.

$M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \cdot 0,998203$

0,998203 = massa volumica dell'acqua a 20 °C.

4.3. **Modo di operare** ⁽¹⁾4.3.1. *Utilizzazione di una bilancia a due piatti*

Pesare il picnometro riempito con il campione preparato per l'analisi (3) secondo le indicazioni descritte al punto 4.2.1. Sia p'' la massa in grammi che realizza l'equilibrio a t °C.

Massa del liquido contenuto nel picnometro = p + m - p''.

Massa volumica apparente a t °C:

$$\rho_{t^{\circ}\text{C}} = \frac{p + m - p''}{V_{20^{\circ}\text{C}}}$$

Calcolare la massa volumica a 20 °C con l'aiuto di una delle tabelle di correzione riportate di seguito, in funzione della natura del liquido studiato: vino secco (tabella II), mosto naturale o concentrato (tabella III), vino dolce (tabella IV).

Si esprime la densità 20 °C/20 °C del vino dividendo la massa volumica a 20 °C per 0,998203.

4.3.2. *Utilizzazione di una bilancia monopiatto* ⁽¹⁾

Pesare il pallone tara, sia T₁ la sua massa.

Calcolare dT = T₁ - T₀.

Massa del picnometro vuoto al momento della misurazione = P - m + dT.

Pesare il picnometro riempito con il campione preparato per l'analisi (3), seguendo le istruzioni riportate al punto 4.2.1. Sia P₂ la massa misurata a t °C.

⁽¹⁾ Al punto 6 del presente capitolo si riporta un esempio numerico.

Massa del liquido contenuto nel picnometro a $t\text{ }^{\circ}\text{C} = P_2 - (P - m + dT)$.

Massa volumica apparente a $t\text{ }^{\circ}\text{C}$:

$$\rho_{t\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{P_2 - (P - m + dT)}{V_{20\text{ }^{\circ}\text{C}}}$$

Calcolare la massa volumica a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ del liquido studiato (vino secco, mosto naturale e concentrato, vino dolce) con il procedimento indicato al punto 4.3.1.

La densità $20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$ si ottiene dividendo la massa volumica a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 0,998203.

- 4.3.3. Ripetibilità sulla massa volumica:
- per i vini secchi e amabili: $r = 0,00010$;
 - per i vini dolci: $r = 0,00018$.
- 4.3.4. Riproducibilità sulla massa volumica:
- per i vini secchi e amabili: $R = 0,00037$;
 - per i vini dolci: $R = 0,00045$.

5. METODI USUALI

5.1. Areometro

5.1.1. *Apparecchiatura*

5.1.1.1. Areometro

Per quanto riguarda le dimensioni e le graduazioni, gli areometri devono soddisfare alle prescrizioni dell'ISO.

Essi debbono avere una carena cilindrica ed una cannello di sezione circolare di almeno 3 mm di diametro. Per i vini secchi, devono essere graduati da 0,983 a 1,003 in millesimi e quinti di millesimo. Ogni millesimo deve distare almeno 5 mm dal millesimo successivo. Per la misura della densità dei vini dealcolizzati, dei vini dolci e dei mosti, si userà una serie di 5 areometri graduati rispettivamente da 1,000 a 1,030; 1,030 a 1,060; 1,060 a 1,090; 1,090 a 1,120; 1,120 a 1,150. Questi apparecchi devono essere tarati in masse volumiche a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ con divisioni almeno in millesimi e mezzi millesimi. Ogni millesimo deve inoltre distare almeno 3 mm dal millesimo successivo.

Questi areometri devono essere graduati in modo da essere letti alla «sommità del menisco». L'indicazione della graduazione in massa volumica a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o in densità relativa a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e della lettura al livello del menisco sarà riportata sia sulla scala graduata, sia su una striscia di carta inclusa nella carena.

Questi apparecchi debbono essere controllati da un servizio ufficiale.

- 5.1.1.2. Termometro di precisione graduato almeno in $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 5.1.1.3. Provetta cilindrica di 36 mm di diametro interno e di 320 mm di altezza, mantenuta verticalmente mediante un supporto a viti calanti.
- 5.1.2. *Modo di operare*

Tecnica di una misurazione

Porre, nella provetta 5.1.1.3, 250 ml del campione preparato per l'analisi (3), introdurre l'areometro e il termometro. Effettuare la lettura sul termometro un minuto dopo aver agitato per realizzare l'equilibrio termico. Togliere il termometro e leggere la massa volumica apparente a $t\text{ }^{\circ}\text{C}$ sullo stelo dell'areometro dopo un minuto di riposo.

Correggere la massa volumica apparente letta a $t^{\circ}\text{C}$ dell'azione della temperatura mediante le tabelle: vini secchi (tabella V), mosti (tabella VI) e vini contenenti zucchero (tabella VII).

La densità $20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ si ottiene dividendo la massa volumica a 20°C per 0,998203.

5.2. Densimetria per mezzo della bilancia idrostatica

5.2.1. Apparecchiatura

5.2.1.1. Bilancia idrostatica

La bilancia idrostatica, con portata di almeno 100 g, deve essere sensibile a 1/10 di mg.

Sotto ciascun piatto è fissato un galleggiante in vetro pyrex di almeno 20 ml di volume. Questi due galleggianti identici sono sospesi con un filo di diametro inferiore o uguale a 0,1 mm.

Il galleggiante sospeso sotto il piatto di destra deve poter essere introdotto in una provetta cilindrica munita di un segno di livello. Questa provetta deve avere un diametro interno maggiore di almeno 6 mm di quello del galleggiante. Quest'ultimo deve poter essere contenuto per intero nel volume della provetta situato al di sotto del segno di riferimento, mentre la superficie del liquido su cui va effettuata la misura deve essere attraversata soltanto dal filo di sospensione. La temperatura del liquido contenuto nella provetta è misurata con un termometro graduato in quinti di grado.

Si può anche usare una bilancia idrostatica monopiatto.

5.2.2. Modo di operare

5.2.2.1. Taratura di una bilancia idrostatica

Con i due galleggianti nell'aria, raggiungere l'equilibrio collocando sul piatto di destra i pesi di precisione p .

Riempire la provetta di acqua fino al segno di riferimento, leggere la temperatura $t^{\circ}\text{C}$ dopo agitazione e riposo di 2-3 minuti. Ristabilire l'equilibrio per mezzo di pesi di precisione collocati sul piatto di destra, siano p' questi pesi.

Il volume del galleggiante a 20°C :

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = (p' - p) (F + 0,0012)$$

F = fattore dato dalla tabella I alla temperatura $t^{\circ}\text{C}$.
 p e $V_{20^{\circ}\text{C}}$ sono le caratteristiche del galleggiante.

5.2.2.2. Tecnica di misurazione

Immergere il galleggiante nella provetta riempita di vino (o di mosto) fino al segno di riferimento. Leggere la temperatura $t^{\circ}\text{C}$ del vino (o del mosto), siano:

p'' i pesi di precisione necessari a ristabilire l'equilibrio

$\rho_{t^{\circ}\text{C}}$, la massa volumica apparente:

$$\rho_{t^{\circ}\text{C}} = \frac{(p'' - p)}{V} + 0,0012$$

Riportare questa massa volumica a 20°C mediante una delle tabelle II, III o IV.

6. ESEMPIO DI CALCOLO DELLA MASSA VOLUMICA A 20 °C E DELLA DENSITÀ A 20 °C/20 °C (METODO DI RIFERIMENTO)

6.1. Picnometria su bilancia a due piatti

6.1.1. Determinazione delle costanti del picnometro

1. Pesata del picnometro pulito ed asciutto:

$$\begin{aligned} \text{Tara} &= \text{picnometro} + p \\ p &= 104,9454 \text{ g} \end{aligned}$$

2. Pesata del picnometro pieno d'acqua alla temperatura t °C:

$$\begin{aligned} \text{Tara} &= \text{picnometro} + \text{acqua} + p' \\ p' &= 1,2396 \text{ g per } t = 20,5 \text{ °C} \end{aligned}$$

3. Calcolo della massa d'aria contenuta nel picnometro:

$$\begin{aligned} m &= 0,0012 (p - p') \\ m &= 0,0012 (104,9454 - 1,2396) \\ m &= 0,1244 \text{ g} \end{aligned}$$

4. Caratteristiche da tenere presenti:

$$\begin{aligned} \text{Tara del picnometro vuoto: } p + m \\ p + m &= 104,9454 + 0,1244 \\ p + m &= 105,0698 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\text{Volume a } 20 \text{ °C} = (p + m - p') \cdot F_{t \text{ °C}}$$

$$\begin{aligned} F_{20,50 \text{ °C}} &= 1,001900 \\ V_{20 \text{ °C}} &= (105,0698 - 1,2396) \cdot 1,001900 \\ V_{20 \text{ °C}} &= 104,0275 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa dell'acqua a } 20 \text{ °C} &= V_{20 \text{ °C}} \cdot 0,998203 \\ M_{20 \text{ °C}} &= 103,8405 \text{ g} \end{aligned}$$

6.1.2. Determinazione della massa volumica a 20 °C e della densità 20 °C/20 °C di un vino secco:

$$p'' = 1,2622 \text{ a } 17,80 \text{ °C}$$

$$\rho_{17,80 \text{ °C}} = \frac{105,0698 - 1,2622}{104,0275}$$

$$\rho_{17,80 \text{ °C}} = 0,99788 \text{ g/ml}$$

La tabella II consente di calcolare $\rho_{20 \text{ °C}}$ a partire da $\rho_{t \text{ °C}}$ mediante la relazione:

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_{t \text{ °C}} \pm \frac{c}{1000}$$

Per t = 17,80 °C e per un titolo alcolometrico di 11 % vol, si trova c = 0,54

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99788 - \frac{0,54}{1000}$$

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99734 \text{ g/ml}$$

$$d_{20 \text{ °C}}^{20 \text{ °C}} = \frac{0,99734}{0,998203} = 0,99913$$

6.2. Picnometria su bilancia monopiatto

6.2.1. Determinazioni delle costanti del picnometro

1. Pesata del picnometro pulito e asciutto

$$P = 67,7913 \text{ g}$$

2. Pesata del picnometro pieno d'acqua alla temperatura t °C

$$P_1 = 169,2715 \text{ a } 21,65 \text{ °C}$$

3. Calcolo della massa d'aria contenuta nel picnometro:

$$m = 0,0012 (P_1 - P)$$

$$m = 0,0012 \times 101,4802$$

$$m = 0,1218 \text{ g}$$

4. Caratteristiche da tenere presenti:

Tara del picnometro vuoto: $P - m$

$$P - m = 67,7913 - 0,1218$$

$$P - m = 67,6695 \text{ g}$$

Volume a 20 °C = $[P_1 - (P - m)] F_{t \text{ °C}}$

$$F_{21,65 \text{ °C}} = 1,002140$$

$$V_{20 \text{ °C}} = (169,2715 - 67,6695) \times 1,002140$$

$$V_{20 \text{ °C}} = 101,8194 \text{ ml}$$

$$\text{Massa dell'acqua a } 20 \text{ °C} = V_{20 \text{ °C}} \times 0,998203$$

$$M_{20 \text{ °C}} = 101,6364 \text{ g}$$

Massa del pallone tara: T_0

$$T_0 = 171,9160 \text{ g.}$$

6.2.2. *Determinazione della massa volumica a 20 °C e della densità 20 °C/20 °C di un vino secco:*

$$T_1 = 171,9178 \text{ g}$$

$$dT = 171,9178 - 171,9160 = 0,0018 \text{ g}$$

$$P - m + dT = 67,6695 + 0,0018 = 67,6713 \text{ g}$$

$$P_2 = 169,2799 \text{ a } 18 \text{ °C}$$

$$\rho_{18 \text{ °C}} = \frac{169,2799 - 67,6713}{101,8194}$$

$$\rho_{18 \text{ °C}} = 0,99793 \text{ g/ml}$$

La tabella II consente di calcolare $\rho_{20 \text{ °C}}$ a partire da $\rho_{t \text{ °C}}$ mediante la relazione:

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_{t \text{ °C}} \pm \frac{c}{1000}$$

Per $t = 18 \text{ °C}$ con un titolo alcolometrico di 11 % vol, si trova $c = 0,49$

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99793 - \frac{0,49}{1000}$$

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99744 \text{ g/ml}$$

$$d_{20 \text{ °C}}^{20 \text{ °C}} = \frac{0,99744}{0,998203} = 0,99923$$

TABELLA I

Fattori F

per i quali bisogna moltiplicare la massa dell'acqua contenuta nel picnometro in pyrex a t° per calcolare il volume del picnometro a 20°C

$t^\circ\text{C}$	F	$t^\circ\text{C}$	F	$t^\circ\text{C}$	F	$t^\circ\text{C}$	F	$t^\circ\text{C}$	F	$t^\circ\text{C}$	F	$t^\circ\text{C}$	F
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003787
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	,7	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	,9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	1,004013
,2	1,000501	,2	1,000842	,2	1,001290	,2	1,001839	,2	1,002485	,2	1,003222	,2	1,004042
,3	1,000511	,3	1,000855	,3	1,001306	,3	1,001859	,3	1,002508	,3	1,003247	,3	1,004071
,4	1,000520	,4	1,000868	,4	1,001323	,4	1,001880	,4	1,002531	,4	1,003273	,4	1,004099
11,5	1,000530	14,5	1,000882	17,5	1,001340	20,5	1,001900	23,5	1,002555	26,5	1,003299	29,5	1,004128
,6	1,000540	,6	1,000895	,6	1,001357	,6	1,001920	,6	1,002578	,6	1,003326	,6	1,004158
,7	1,000550	,7	1,000909	,7	1,001374	,7	1,001941	,7	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003379	,8	1,004216
,9	1,000570	,9	1,000937	,9	1,001409	,9	1,001982	,9	1,002649	,9	1,003405	,9	1,004245
12,0	1,000580	15,0	1,000951	18,0	1,001427	21,0	1,002002	24,0	1,002672	27,0	1,003432	30,0	1,004275
,1	1,000591	,1	1,000965	,1	1,001445	,1	1,002023	,1	1,002696	,1	1,003458		
,2	1,000601	,2	1,000979	,2	1,001462	,2	1,002044	,2	1,002720	,2	1,003485		
,3	1,000612	,3	1,000993	,3	1,001480	,3	1,002065	,3	1,002745	,3	1,003513		
,4	1,000623	,4	1,001008	,4	1,001498	,4	1,002086	,4	1,002769	,4	1,003540		
12,5	1,000634	15,5	1,001022	18,5	1,001516	21,5	1,002107	24,5	1,002793	27,5	1,003567		
,6	1,000645	,6	1,001037	,6	1,001534	,6	1,002129	,6	1,002817	,6	1,003594		
,7	1,000656	,7	1,001052	,7	1,001552	,7	1,002151	,7	1,002842	,7	1,003621		
,8	1,000668	,8	1,001067	,8	1,001570	,8	1,002172	,8	1,002866	,8	1,003649		
,9	1,000679	,9	1,001082	,9	1,001589	,9	1,002194	,9	1,002891	,9	1,003676		

TABELLA II

Tabella delle correzioni c per la temperatura sulla massa volumica dei vini secchi e dei vini secchi privati dell'alcole misurata a t° con un picnometro in pyrex per ricondurre il risultato a 20°C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{ se } t^\circ \text{ è inferiore a } 20^\circ \text{C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ è superiore a } 20^\circ \text{C} \end{cases}$$

Temperatura in $^\circ \text{C}$	Titolo alcolometrico																							
	0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	1,59	1,64	1,67	1,71	1,77	1,84	1,91	2,01	2,11	2,22	2,34	2,46	2,60	2,73	2,88	3,03	3,19	3,35	3,52	3,70	3,87	4,06	4,25	4,44
11	1,48	1,53	1,56	1,60	1,64	1,70	1,77	1,86	1,95	2,05	2,16	2,27	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,06	3,21	3,36	3,53	3,69	3,86	4,03
12	1,36	1,40	1,43	1,46	1,50	1,56	1,62	1,69	1,78	1,86	1,96	2,05	2,16	2,27	2,38	2,50	2,62	2,75	2,88	3,02	3,16	3,31	3,46	3,61
13	1,22	1,26	1,28	1,32	1,35	1,40	1,45	1,52	1,59	1,67	1,75	1,83	1,92	2,01	2,11	2,22	2,32	2,44	2,55	2,67	2,79	2,92	3,05	3,18
14	1,08	1,11	1,13	1,16	1,19	1,23	1,27	1,33	1,39	1,46	1,52	1,60	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,11	2,21	2,31	2,42	2,52	2,63	2,74
15	0,92	0,96	0,97	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,19	1,24	1,30	1,36	1,42	1,48	1,55	1,63	1,70	1,78	1,86	1,95	2,03	2,12	2,21	2,30
16	0,76	0,79	0,80	0,81	0,84	0,86	0,89	0,93	0,97	1,01	1,06	1,10	1,16	1,21	1,26	1,32	1,38	1,44	1,51	1,57	1,64	1,71	1,78	1,85
17	0,59	0,61	0,62	0,63	0,65	0,67	0,69	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,95	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,25	1,30	1,35	1,40
18	0,40	0,42	0,42	0,43	0,44	0,46	0,47	0,49	0,51	0,53	0,55	0,57	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,74	0,77	0,81	0,84	0,87	0,91	0,94
19	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,42	0,44	0,46	0,47
20																								
21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,38	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48
22	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,49	0,51	0,52	0,54	0,56	0,59	0,61	0,63	0,66	0,69	0,71	0,74	0,77	0,80	0,83	0,87	0,90	0,93	0,97
23	0,68	0,70	0,71	0,72	0,74	0,76	0,78	0,80	0,83	0,86	0,90	0,93	0,96	1,00	1,03	1,08	1,13	1,17	1,22	1,26	1,31	1,37	1,41	1,46
24	0,93	0,96	0,97	0,99	1,01	1,03	1,06	1,10	1,13	1,18	1,22	1,26	1,31	1,36	1,41	1,47	1,52	1,58	1,64	1,71	1,77	1,84	1,90	1,97
25	1,19	1,23	1,25	1,27	1,29	1,32	1,36	1,40	1,45	1,50	1,55	1,61	1,67	1,73	1,80	1,86	1,93	2,00	2,08	2,16	2,24	2,32	2,40	2,48
26	1,47	1,51	1,53	1,56	1,59	1,62	1,67	1,72	1,77	1,83	1,90	1,96	2,03	2,11	2,19	2,27	2,35	2,44	2,53	2,62	2,72	2,81	2,91	3,01
27	1,75	1,80	1,82	1,85	1,89	1,93	1,98	2,04	2,11	2,18	2,25	2,33	2,41	2,50	2,59	2,68	2,78	2,88	2,98	3,09	3,20	3,31	3,42	3,53
28	2,04	2,10	2,13	2,16	2,20	2,25	2,31	2,38	2,45	2,53	2,62	2,70	2,80	2,89	3,00	3,10	3,21	3,32	3,45	3,57	3,69	3,82	3,94	4,07
29	2,34	2,41	2,44	2,48	2,53	2,58	2,65	2,72	2,81	2,89	2,99	3,09	3,19	3,30	3,42	3,53	3,65	3,78	3,92	4,05	4,19	4,33	4,47	4,61
30	2,66	2,73	2,77	2,81	2,86	2,92	3,00	3,08	3,17	3,27	3,37	3,48	3,59	3,72	3,84	3,97	4,11	4,25	4,40	4,55	4,70	4,85	4,92	5,17

Nota: Si può utilizzare questa tabella per trasformare la densità d_{20}^t in d_{20}^{20} .

TABELLA III

Tabella delle correzioni c per la temperatura sulla massa volumica dei mosti naturali e dei mosti concentrati misurata a t° con un picnometro in pyrex per ricondurre il risultato a 20°C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{ se } t^\circ \text{ è inferiore a } 20^\circ \text{C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ è superiore a } 20^\circ \text{C} \end{cases}$$

Temperatura in $^\circ \text{C}$	Massa volumica																					
	1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36
10°	2,31	2,48	2,66	2,82	2,99	3,13	3,30	3,44	3,59	3,73	3,88	4,01	4,28	4,52	4,76	4,98	5,18	5,42	5,56	5,73	5,90	6,05
11°	2,12	2,28	2,42	2,57	2,72	2,86	2,99	3,12	3,25	3,37	3,50	3,62	3,85	4,08	4,29	4,48	4,67	4,84	5,00	5,16	5,31	5,45
12°	1,92	2,06	2,19	2,32	2,45	2,58	2,70	2,82	2,94	3,04	3,15	3,26	3,47	3,67	3,85	4,03	4,20	4,36	4,51	4,65	4,78	4,91
13°	1,72	1,84	1,95	2,06	2,17	2,27	2,38	2,48	2,58	2,69	2,78	2,88	3,05	3,22	3,39	3,55	3,65	3,84	3,98	4,11	4,24	4,36
14°	1,52	1,62	1,72	1,81	1,90	2,00	2,09	2,17	2,26	2,34	2,43	2,51	2,66	2,82	2,96	3,09	3,22	3,34	3,45	3,56	3,67	3,76
15°	1,28	1,36	1,44	1,52	1,60	1,67	1,75	1,82	1,89	1,96	2,04	2,11	2,24	2,36	2,48	2,59	2,69	2,79	2,88	2,97	3,03	3,10
16°	1,05	1,12	1,18	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,55	1,60	1,66	1,71	1,81	1,90	2,00	2,08	2,16	2,24	2,30	2,37	2,43	2,49
17°	0,80	0,86	0,90	0,95	1,00	1,04	1,09	1,13	1,18	1,22	1,26	1,30	1,37	1,44	1,51	1,57	1,62	1,68	1,72	1,76	1,80	1,84
18°	0,56	0,59	0,62	0,66	0,68	0,72	0,75	0,77	0,80	0,83	0,85	0,88	0,93	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,16	1,19	1,21	1,24
19°	0,29	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,59	0,60	0,61	0,62
20°																						
21°	0,29	0,30	0,32	0,34	0,35	0,37	0,38	0,40	0,41	0,42	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,58	0,59	0,60	0,61	0,62	0,62
22°	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,79	0,81	0,84	0,87	0,90	0,96	1,00	1,05	1,09	1,12	1,15	1,18	1,20	1,22	1,23
23°	0,89	0,94	0,99	1,03	1,08	1,12	1,16	1,20	1,25	1,29	1,33	1,37	1,44	1,51	1,57	1,63	1,67	1,73	1,77	1,80	1,82	1,84
24°	1,20	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,66	1,71	1,77	1,82	1,92	2,01	2,10	2,17	2,24	2,30	2,36	2,40	2,42	2,44
25°	1,51	1,59	1,66	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,23	2,30	2,42	2,53	2,63	2,72	2,82	2,89	2,95	2,99	3,01	3,05
26°	1,84	1,92	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,42	2,50	2,58	2,65	2,73	2,87	3,00	3,13	3,25	3,36	3,47	3,57	3,65	3,72	3,79
27°	2,17	2,26	2,36	2,46	2,56	2,66	2,75	2,84	2,93	3,01	3,10	3,18	3,35	3,50	3,66	3,80	3,93	4,06	4,16	4,26	4,35	4,42
28°	2,50	2,62	2,74	2,85	2,96	3,07	3,18	3,28	3,40	3,50	3,60	3,69	3,87	4,04	4,21	4,36	4,50	4,64	4,75	4,86	4,94	5,00
29°	2,86	2,98	3,10	3,22	3,35	3,47	3,59	3,70	3,82	3,93	4,03	4,14	4,34	4,53	4,72	4,89	5,05	5,20	5,34	5,46	5,56	5,64
30°	3,20	3,35	3,49	3,64	3,77	3,91	4,05	4,17	4,30	4,43	4,55	4,67	4,90	5,12	5,39	5,51	5,68	5,84	5,96	6,08	6,16	6,22

Nota: Si può utilizzare questa tabella per trasformare la densità d_{20}^t in d_{20}^{20} .

TABELLA IV

Tabella delle correzioni c per la temperatura sulla massa volumica dei vini di 13 % vol o più contenenti zucchero residuo misurata con picnometro in pyrex a t° per ricondurre il risultato a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{ se } t^\circ \text{ è inferiore a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ è superiore a } 20^\circ \text{ C} \end{cases}$$

Temperatura in °C	Vino a 13 % vol.							Vino a 15 % vol.							Vino a 17 % vol.						
	Massa volumica							Massa volumica							Massa volumica						
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
10°	2,36	2,71	3,06	3,42	3,72	3,96	4,32	2,64	2,99	3,36	3,68	3,99	4,30	4,59	2,94	3,29	3,64	3,98	4,29	4,60	4,89
11°	2,17	2,49	2,80	2,99	3,39	3,65	3,90	2,42	2,73	3,05	3,34	3,63	3,89	4,15	2,69	3,00	3,32	3,61	3,90	4,16	4,41
12°	1,97	2,25	2,53	2,79	3,05	3,29	3,52	2,19	2,47	2,75	3,01	3,27	3,51	3,73	2,42	2,70	2,98	3,24	3,50	3,74	3,96
13°	1,78	2,02	2,25	2,47	2,69	2,89	3,09	1,97	2,21	2,44	2,66	2,87	3,08	3,29	2,18	2,42	2,64	2,87	3,08	3,29	3,49
14°	1,57	1,78	1,98	2,16	2,35	2,53	2,70	1,74	1,94	2,14	2,32	2,52	2,69	2,86	1,91	2,11	2,31	2,50	2,69	2,86	3,03
15°	1,32	1,49	1,66	1,82	1,97	2,12	2,26	1,46	1,63	1,79	1,95	2,10	2,25	2,39	1,60	1,77	1,93	2,09	2,24	2,39	2,53
16°	1,08	1,22	1,36	1,48	1,61	1,73	1,84	1,18	1,32	1,46	1,59	1,71	1,83	1,94	1,30	1,44	1,58	1,71	1,83	1,95	2,06
17°	0,83	0,94	1,04	1,13	1,22	1,31	1,40	0,91	1,02	1,12	1,21	1,30	1,39	1,48	1,00	1,10	1,20	1,30	1,39	1,48	1,56
18°	0,58	0,64	0,71	0,78	0,84	0,89	0,95	0,63	0,69	0,76	0,83	0,89	0,94	1,00	0,69	0,75	0,82	0,89	0,95	1,00	1,06
19°	0,30	0,34	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,52	0,36	0,39	0,42	0,46	0,49	0,52	0,54
20°																					
21°	0,30	0,33	0,36	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,36	0,39	0,43	0,46	0,49	0,51	0,35	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54
22°	0,60	0,67	0,73	0,80	0,85	0,91	0,98	0,65	0,72	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	0,71	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	1,07
23°	0,93	1,02	1,12	1,22	1,30	1,39	1,49	1,01	1,10	1,20	1,29	1,38	1,46	1,55	1,10	1,19	1,29	1,38	1,46	1,55	1,63
24°	1,27	1,39	1,50	1,61	1,74	1,84	1,95	1,37	1,49	1,59	1,72	1,84	1,95	2,06	1,48	1,60	1,71	1,83	1,95	2,06	2,17
25°	1,61	1,75	1,90	2,05	2,19	2,33	2,47	1,73	1,87	2,02	2,17	2,31	2,45	2,59	1,87	2,01	2,16	2,31	2,45	2,59	2,73
26°	1,94	2,12	2,29	2,47	2,63	2,79	2,95	2,09	2,27	2,44	2,62	2,78	2,94	3,10	2,26	2,44	2,61	2,79	2,95	3,11	3,26
27°	2,30	2,51	2,70	2,90	3,09	3,27	3,44	2,48	2,68	2,87	3,07	3,27	3,45	3,62	2,67	2,88	3,07	3,27	3,46	3,64	3,81
28°	2,66	2,90	3,13	3,35	3,57	3,86	4,00	2,86	3,10	3,23	3,55	3,77	3,99	4,20	3,08	3,31	3,55	3,76	3,99	4,21	4,41
29°	3,05	3,31	3,56	3,79	4,04	4,27	4,49	3,28	3,53	3,77	4,02	4,26	4,49	4,71	3,52	3,77	4,01	4,26	4,50	4,73	4,95
30°	3,44	3,70	3,99	4,28	4,54	4,80	5,06	3,68	3,94	4,23	4,52	4,79	5,05	5,30	3,95	4,22	4,51	4,79	5,07	5,32	5,57

Temperatura in °C	Vino a 19 % vol.							Vino a 21 % vol.						
	Massa volumica							Massa volumica						
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
10°	3,27	3,62	3,97	4,30	4,62	4,92	5,21	3,62	3,97	4,32	4,66	4,97	5,27	5,56
11°	2,99	3,30	3,61	3,90	4,19	4,45	4,70	3,28	3,61	3,92	4,22	4,50	4,76	5,01
12°	2,68	2,96	3,24	3,50	3,76	4,00	4,21	2,96	3,24	3,52	3,78	4,03	4,27	4,49
13°	2,40	2,64	2,87	3,09	3,30	3,51	3,71	2,64	2,88	3,11	3,33	3,54	3,74	3,95
14°	2,11	2,31	2,51	2,69	2,88	3,05	3,22	2,31	2,51	2,71	2,89	3,08	3,25	3,43
15°	1,76	1,93	2,09	2,25	2,40	2,55	2,69	1,93	2,10	2,26	2,42	2,57	2,72	2,86
16°	1,43	1,57	1,70	1,83	1,95	2,08	2,18	1,56	1,70	1,84	1,97	2,09	2,21	2,32
17°	1,09	1,20	1,30	1,39	1,48	1,57	1,65	1,20	1,31	1,41	1,50	1,59	1,68	1,77
18°	0,76	0,82	0,88	0,95	1,01	1,06	1,12	0,82	0,88	0,95	1,01	1,08	1,13	1,18
19°	0,39	0,42	0,45	0,49	0,52	0,55	0,57	0,42	0,46	0,49	0,52	0,55	0,58	0,61
20°														
21°	0,38	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,41	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,60
22°	0,78	0,84	0,90	0,96	1,02	1,07	1,13	0,84	0,90	0,96	1,02	1,08	1,14	1,19
23°	1,19	1,28	1,38	1,47	1,55	1,64	1,72	1,29	1,39	1,48	1,57	1,65	1,74	1,82
24°	1,60	1,72	1,83	1,95	2,06	2,18	2,29	1,73	1,85	1,96	2,08	2,19	2,31	2,42
25°	2,02	2,16	2,31	2,46	2,60	2,74	2,88	2,18	2,32	2,47	2,62	2,76	2,90	3,04
26°	2,44	2,62	2,79	2,96	3,12	3,28	3,43	2,53	2,81	2,97	3,15	3,31	3,47	3,62
27°	2,88	3,08	3,27	3,42	3,66	3,84	4,01	3,10	3,30	3,47	3,69	3,88	4,06	4,23
28°	3,31	3,54	3,78	4,00	4,22	4,44	4,64	3,56	3,79	4,03	4,25	4,47	4,69	4,89
29°	3,78	4,03	4,27	4,52	4,76	4,99	5,21	4,06	4,31	4,55	4,80	5,04	5,27	5,48
30°	4,24	4,51	4,80	5,08	5,36	5,61	5,86	4,54	4,82	5,11	5,39	5,66	5,91	6,16

TABELLA V

Tabella delle correzioni c per la temperatura sulla massa volumica dei vini secchi e dei vini secchi privati dell'alcole misurata a t° mediante un areometro od un picnometro in vetro ordinario a t° per ricondurre il risultato a 20°C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1\,000} \begin{cases} - & \text{se } t^\circ \text{ è inferiore a } 20^\circ\text{C} \\ + & \text{se } t^\circ \text{ è superiore a } 20^\circ\text{C} \end{cases}$$

		Titolo alcolometrico																							
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Temperatura in $^\circ\text{C}$	10°	1,45	1,51	1,55	1,58	1,64	1,70	1,78	1,88	1,98	2,09	2,21	2,34	2,47	2,60	2,75	2,90	3,06	3,22	3,39	3,57	3,75	3,93	4,12	4,31
	11°	1,35	1,40	1,43	1,47	1,52	1,58	1,65	1,73	1,83	1,93	2,03	2,15	2,26	2,38	2,51	2,65	2,78	2,93	3,08	3,24	3,40	3,57	3,73	3,90
	12°	1,24	1,28	1,31	1,34	1,39	1,44	1,50	1,58	1,66	1,75	1,84	1,94	2,04	2,15	2,26	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,05	3,19	3,34	3,49
	13°	1,12	1,16	1,18	1,21	1,25	1,30	1,35	1,42	1,49	1,56	1,64	1,73	1,82	1,91	2,01	2,11	2,22	2,33	2,45	2,57	2,69	2,81	2,95	3,07
	14°	0,99	1,03	1,05	1,07	1,11	1,14	1,19	1,24	1,31	1,37	1,44	1,52	1,59	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,13	2,23	2,33	2,44	2,55	2,66
	15°	0,86	0,89	0,90	0,92	0,95	0,98	1,02	1,07	1,12	1,17	1,23	1,29	1,35	1,42	1,49	1,56	1,63	1,71	1,80	1,88	1,96	2,05	2,14	2,23
	16°	0,71	0,73	0,74	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,91	0,96	0,99	1,05	1,10	1,15	1,21	1,27	1,33	1,39	1,45	1,52	1,59	1,66	1,73	1,80
	17°	0,55	0,57	0,57	0,59	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,74	0,77	0,81	0,84	0,88	0,92	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,26	1,31	1,36
	18°	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,74	0,78	0,81	0,85	0,88	0,91
	19°	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46
	20°																								
	21°	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26	0,27	0,29	0,29	0,31	0,32	0,34	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48
	22°	0,43	0,45	0,45	0,46	0,47	0,49	0,50	0,52	0,54	0,56	0,58	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,73	0,77	0,80	0,83	0,86	0,89	0,93	0,96
	23°	0,67	0,69	0,70	0,71	0,72	0,74	0,77	0,79	0,82	0,85	0,88	0,91	0,95	0,99	1,03	1,07	1,12	1,16	1,21	1,25	1,30	1,35	1,40	1,45
	24°	0,91	0,93	0,95	0,97	0,99	1,01	1,04	1,07	1,11	1,15	1,20	1,24	1,29	1,34	1,39	1,45	1,50	1,56	1,62	1,69	1,76	1,82	1,88	1,95
	25°	1,16	1,19	1,21	1,23	1,26	1,29	1,33	1,37	1,42	1,47	1,52	1,57	1,63	1,70	1,76	1,83	1,90	1,97	2,05	2,13	2,21	2,29	2,37	2,45
	26°	1,42	1,46	1,49	1,51	1,54	1,58	1,62	1,67	1,73	1,79	1,85	1,92	1,99	2,07	2,14	2,22	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,77	2,86	2,96
	27°	1,69	1,74	1,77	1,80	1,83	1,88	1,93	1,98	2,05	2,12	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,72	2,82	2,93	3,04	3,14	3,25	3,37	3,48
	28°	1,97	2,03	2,06	2,09	2,14	2,19	2,24	2,31	2,38	2,46	2,55	2,63	2,73	2,83	2,93	3,03	3,14	3,26	3,38	3,50	3,62	3,75	3,85	4,00
29°	2,26	2,33	2,37	2,40	2,45	2,50	2,57	2,64	2,73	2,82	2,91	2,99	3,11	3,22	3,34	3,45	3,58	3,70	3,84	3,97	4,11	4,25	4,39	4,54	
30°	2,56	2,64	2,67	2,72	2,77	2,83	2,90	2,98	3,08	3,18	3,28	3,38	3,50	3,62	3,75	3,88	4,02	4,16	4,30	4,46	4,61	4,76	4,92	5,07	

Nota: Si può utilizzare questa tabella per trasformare la densità d_{20}^t in d_{20}^{20} .

TABELLA VI

Tabella delle correzioni c per la temperatura sulla massa volumica dei mosti naturali e dei mosti concentrati misurata a t° mediante un picnometro od un areometro in vetro ordinario per ricondurre il risultato a 20°C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1\,000} \begin{cases} - & \text{se } t^\circ \text{ è inferiore a } 20^\circ\text{C} \\ + & \text{se } t^\circ \text{ è superiore a } 20^\circ\text{C} \end{cases}$$

		Massa volumica																						
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36	
Temperatura in $^\circ\text{C}$	10°	2,17	2,34	2,52	2,68	2,85	2,99	3,16	3,29	3,44	3,58	3,73	3,86	4,13	4,36	4,60	4,82	5,02	5,25	5,39	5,56	5,73	5,87	
	11°	2,00	2,16	2,29	2,44	2,59	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,37	3,48	3,71	3,94	4,15	4,33	4,52	4,69	4,85	5,01	5,15	5,29	
	12°	1,81	1,95	2,08	2,21	2,34	2,47	2,58	2,70	2,82	2,92	3,03	3,14	3,35	3,55	3,72	3,90	4,07	4,23	4,37	4,52	4,64	4,77	
	13°	1,62	1,74	1,85	1,96	2,07	2,17	2,28	2,38	2,48	2,59	2,68	2,77	2,94	3,11	3,28	3,44	3,54	3,72	3,86	3,99	4,12	4,24	
	14°	1,44	1,54	1,64	1,73	1,82	1,92	2,00	2,08	2,17	2,25	2,34	2,42	2,57	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,35	3,46	3,57	3,65	
	15°	1,21	1,29	1,37	1,45	1,53	1,60	1,68	1,75	1,82	1,89	1,97	2,03	2,16	2,28	2,40	2,51	2,61	2,71	2,80	2,89	2,94	3,01	
	16°	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,65	1,75	1,84	1,94	2,02	2,09	2,17	2,23	2,30	2,36	2,42	
	17°	0,76	0,82	0,86	0,91	0,96	1,00	1,05	1,09	1,14	1,18	1,22	1,25	1,32	1,39	1,46	1,52	1,57	1,63	1,67	1,71	1,75	1,79	
	18°	0,53	0,56	0,59	0,63	0,65	0,69	0,72	0,74	0,77	0,80	0,82	0,85	0,90	0,95	0,99	1,02	1,06	1,09	1,13	1,16	1,18	1,20	
	19°	0,28	0,30	0,31	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,42	0,43	0,43	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,55	0,57	0,58	0,59	0,60	
	20°																							
	21°	0,28	0,29	0,31	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,51	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	
	22°	0,55	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,93	0,97	1,02	1,06	1,09	1,12	1,15	1,17	1,19	1,19	
	23°	0,85	0,90	0,95	0,99	1,04	1,08	1,12	1,16	1,21	1,25	1,29	1,32	1,39	1,46	1,52	1,58	1,62	1,68	1,72	1,75	1,77	1,79	
	24°	1,15	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,48	1,54	1,60	1,65	1,71	1,76	1,86	1,95	2,04	2,11	2,17	2,23	2,29	2,33	2,35	2,37	
	25°	1,44	1,52	1,59	1,67	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,22	2,34	2,45	2,55	2,64	2,74	2,81	2,87	2,90	2,92	2,96	
	26°	1,76	1,84	1,93	2,02	2,10	2,18	2,25	2,33	2,41	2,49	2,56	2,64	2,78	2,91	3,03	3,15	3,26	3,37	3,47	3,55	3,62	3,60	
	27°	2,07	2,16	2,26	2,36	2,46	2,56	2,65	2,74	2,83	2,91	3,00	3,07	3,24	3,39	3,55	3,69	3,82	3,94	4,04	4,14	4,23	4,30	
	28°	2,39	2,51	2,63	2,74	2,85	2,96	3,06	3,16	3,28	3,38	3,48	3,57	3,75	3,92	4,08	4,23	4,37	4,51	4,62	4,73	4,80	4,86	
29°	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22	3,34	3,46	3,57	3,69	3,80	3,90	4,00	4,20	4,39	4,58	4,74	4,90	5,05	5,19	5,31	5,40	5,48		
30°	3,06	3,21	3,35	3,50	3,63	3,77	3,91	4,02	4,15	4,28	4,40	4,52	4,75	4,96	5,16	5,35	5,52	5,67	5,79	5,91	5,99	6,04		

Nota: Si può utilizzare questa tabella per trasformare la densità d_{20}^t in d_{20}^{20} .

TABELLA VII

Tabella delle correzioni c per la temperatura sulla massa volumica dei vini di 13 % vol o più contenenti zucchero residuo misurata mediante areometro o picnometro in vetro ordinario a t° per ricondurla a 20°C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1\,000} \begin{cases} - & \text{se } t^\circ \text{ è inferiore a } 20^\circ\text{C} \\ + & \text{se } t^\circ \text{ è superiore a } 20^\circ\text{C} \end{cases}$$

		Vino a 13 % volume							Vino a 15 % volume							Vino a 17 % volume						
		Massa volumica							Massa volumica							Massa volumica						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Temperatura in $^\circ\text{C}$	10°	2,24	2,58	2,93	3,27	3,59	3,89	4,18	2,51	2,85	3,20	3,54	3,85	4,02	4,46	2,81	3,15	3,50	3,84	4,15	4,45	4,74
	11°	2,06	2,37	2,69	2,97	3,26	3,53	3,78	2,31	2,61	2,93	3,21	3,51	3,64	4,02	2,57	2,89	3,20	3,49	3,77	4,03	4,28
	12°	1,87	2,14	2,42	2,67	2,94	3,17	3,40	2,09	2,36	2,64	2,90	3,16	3,27	3,61	2,32	2,60	2,87	3,13	3,39	3,63	3,84
	13°	1,69	1,93	2,14	2,37	2,59	2,80	3,00	1,88	2,12	2,34	2,56	2,78	2,88	3,19	2,09	2,33	2,55	2,77	2,98	3,19	3,39
	14°	1,49	1,70	1,90	2,09	2,27	2,44	2,61	1,67	1,86	2,06	2,25	2,45	2,51	2,77	1,83	2,03	2,23	2,42	2,61	2,77	2,94
	15°	1,25	1,42	1,59	1,75	1,90	2,05	2,19	1,39	1,56	1,72	1,88	2,03	2,11	2,32	1,54	1,71	1,87	2,03	2,18	2,32	2,47
	16°	1,03	1,17	1,30	1,43	1,55	1,67	1,78	1,06	1,27	1,40	1,53	1,65	1,77	1,88	1,25	1,39	1,52	1,65	1,77	1,89	2,00
	17°	0,80	0,90	1,00	1,09	1,17	1,27	1,36	0,87	0,98	1,08	1,17	1,26	1,35	1,44	0,96	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,52
	18°	0,54	0,61	0,68	0,75	0,81	0,86	0,92	0,60	0,66	0,73	0,80	0,85	0,91	0,97	0,66	0,72	0,79	0,86	0,92	0,97	1,03
	19°	0,29	0,33	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,32	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,35	0,38	0,41	0,45	0,48	0,51	0,53
	20°																					
	21°	0,29	0,32	0,35	0,39	0,42	0,45	0,47	0,32	0,35	0,38	0,42	0,45	0,48	0,50	0,34	0,38	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53
	22°	0,57	0,64	0,70	0,76	0,82	0,88	0,93	0,63	0,69	0,75	0,81	0,87	0,93	0,98	0,68	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04
	23°	0,89	0,98	1,08	1,17	1,26	1,34	1,43	0,97	1,06	1,16	1,25	1,34	1,42	1,51	1,06	1,15	1,25	1,34	1,42	1,51	1,59
	24°	1,22	1,34	1,44	1,56	1,68	1,79	1,90	1,32	1,44	1,54	1,66	1,78	1,89	2,00	1,43	1,56	1,65	1,77	1,89	2,00	2,11
	25°	1,61	1,68	1,83	1,98	2,12	2,26	2,40	1,66	1,81	1,96	2,11	2,25	2,39	2,52	1,80	1,94	2,09	2,24	2,39	2,52	2,66
	26°	1,87	2,05	2,22	2,40	2,56	2,71	2,87	2,02	2,20	2,37	2,54	2,70	2,85	3,01	2,18	2,36	2,53	2,71	2,86	3,02	3,17
27°	2,21	2,42	2,60	2,80	3,00	3,18	3,35	2,39	2,59	2,78	2,98	3,17	3,35	3,52	2,58	2,78	2,97	3,17	3,36	3,54	3,71	
28°	2,56	2,80	3,02	3,25	3,47	3,67	3,89	2,75	2,89	3,22	3,44	3,66	3,86	4,07	2,97	3,21	3,44	3,66	3,88	4,09	4,30	
29°	2,93	3,19	3,43	3,66	3,91	4,14	4,37	3,16	3,41	3,65	3,89	4,13	4,36	4,59	3,40	3,66	3,89	4,13	4,38	4,61	4,82	
30°	3,31	3,57	3,86	4,15	4,41	4,66	4,92	3,55	3,81	4,10	4,38	4,66	4,90	5,16	3,82	4,08	4,37	4,65	4,93	5,17	5,42	

		Vino a 19 % volume							Vino a 21 % volume						
		Massa volumica							Massa volumica						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Temperatura in $^\circ\text{C}$	10°	3,14	3,48	3,83	4,17	4,48	4,78	5,07	3,50	3,84	4,19	4,52	4,83	5,12	5,41
	11°	2,87	3,18	3,49	3,78	4,06	4,32	4,57	3,18	3,49	3,80	4,09	4,34	4,63	4,88
	12°	2,58	2,86	3,13	3,39	3,65	3,88	4,10	2,86	3,13	3,41	3,67	3,92	4,15	4,37
	13°	2,31	2,55	2,77	2,99	3,20	3,41	3,61	2,56	2,79	3,01	3,23	3,44	3,65	3,85
	14°	2,03	2,23	2,43	2,61	2,80	2,96	3,13	2,23	2,43	2,63	2,81	3,00	3,16	3,33
	15°	1,69	1,86	2,02	2,18	2,33	2,48	2,62	1,86	2,03	2,19	2,35	2,50	2,65	2,80
	16°	1,38	1,52	1,65	1,78	1,90	2,02	2,13	1,51	1,65	1,78	1,91	2,03	2,15	2,26
	17°	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,53	1,62	1,15	1,25	1,35	1,45	1,54	1,63	1,71
	18°	0,73	0,79	0,85	0,92	0,98	1,03	1,09	0,79	0,85	0,92	0,98	1,05	1,10	1,15
	19°	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,52	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
	20°														
	21°	0,37	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
	22°	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04	1,10	0,81	0,88	0,94	1,00	1,06	1,10	1,17
	23°	1,15	1,30	1,34	1,43	1,51	1,60	1,68	1,25	1,34	1,44	1,63	1,61	1,70	1,78
	24°	1,55	1,67	1,77	1,89	2,00	2,11	2,23	1,68	1,80	1,90	2,02	2,13	2,25	2,36
	25°	1,95	2,09	2,24	2,39	2,53	2,67	2,71	2,11	2,25	2,40	2,55	2,69	2,83	2,97
	26°	2,36	2,54	2,71	2,89	3,04	3,20	3,35	2,55	2,73	2,90	3,07	3,22	3,38	3,54
27°	2,79	2,99	3,18	3,38	3,57	3,75	3,92	3,01	3,20	3,40	3,59	3,78	3,96	4,13	
28°	3,20	3,44	3,66	3,89	4,11	4,32	4,53	3,46	3,69	3,93	4,15	4,36	4,58	4,77	
29°	3,66	3,92	4,15	4,40	4,64	4,87	5,08	3,95	4,20	4,43	4,68	4,92	5,15	5,36	
30°	4,11	4,37	4,66	4,94	5,22	5,46	5,71	4,42	4,68	4,97	5,25	5,53	5,77	6,02	

2. DETERMINAZIONE DEL TENORE ZUCCHERINO DEI MOSTI, DEI MOSTI CONCENTRATI E DEI MOSTI CONCENTRATI RETTIFICATI MEDIANTE RIFRATTOMETRIA

1. PRINCIPIO DEL METODO

Si riporta l'indice di rifrazione a 20 °C, espresso in valore assoluto o in percento in massa di saccarosio, nella tabella corrispondente per ottenere il grado zuccherino in grammi/litro o in grammi per chilogrammo di mosto, di mosto concentrato e di mosto concentrato rettificato.

2. APPARECCHIATURA

2.1. Rifrattometro tipo Abbé

Il rifrattometro deve essere dotato di una scala che indichi:

- la percentuale in massa di saccarosio con l'approssimazione dello 0,1 %
- oppure gli indici di rifrazione con quattro cifre decimali.

Il rifrattometro deve essere provvisto di un termometro con una scala compresa almeno tra + 15 °C e + 25 °C e di un dispositivo di circolazione d'acqua che consenta di effettuare le misurazioni a una temperatura di 20 °C ± 5 °C.

Occorre seguire scrupolosamente le istruzioni per l'impiego dello strumento, in particolare per quanto riguarda la taratura e la sorgente luminosa.

3. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

3.1. Mosti e mosti concentrati

Filtrare eventualmente i mosti con una garza asciutta piegata in quattro e, dopo aver eliminato le prime gocce di filtrato, effettuare la determinazione sul prodotto filtrato.

3.2. Mosto concentrato rettificato

Utilizzare, a seconda della concentrazione, il mosto concentrato rettificato oppure la soluzione ottenuta portando a 500 g, con acqua, 200 g di mosto concentrato rettificato pesato accuratamente.

4. MODO DI OPERARE

Portare il campione ad una temperatura prossima ai 20 °C. Deposare una piccola presa di campione sul prisma inferiore del rifrattometro, avendo cura che, pressando i prismi l'uno contro l'altro, il campione copra uniformemente la superficie del vetro, ed effettuare la misura seguendo le istruzioni per l'uso dell'apparecchio in questione.

Leggere la percentuale in massa di saccarosio con la precisione dello 0,1 % oppure l'indice di rifrazione con 4 cifre decimali.

Effettuare almeno due determinazioni sullo stesso campione preparato. Rilevare la temperatura t °C.

5. CALCOLI

5.1. Correzione di temperatura

5.1.1. Apparecchi graduati in % in massa di saccarosio: per la correzione della temperatura ricorrere alla tabella I.

5.1.2. **Apparecchi graduati in indice di rifrazione:** riportare l'indice misurato a t °C nella tabella II per ottenere (colonna 1) il corrispondente valore della percentuale in massa di saccarosio a t °C. Tale valore viene quindi corretto rispetto alla temperatura ed espresso a 20 °C per mezzo della tabella I.

5.2. **Tenore zuccherino dei mosti e dei mosti concentrati**

Riportare nella tabella II la percentuale in massa di saccarosio a 20 °C per ottenere il tenore zuccherino in grammi/litro e in grammi/chilogrammo. Il tenore zuccherino è espresso in zucchero invertito con una cifra decimale.

5.3. **Tenore zuccherino del mosto concentrato rettificato**

Riportare la percentuale in massa di saccarosio a 20 °C nella tabella III per ottenere il tenore zuccherino in grammi/litro e in grammi/chilogrammo. Il tenore zuccherino è espresso in zucchero invertito con una cifra decimale.

Se la misura è stata effettuata sul mosto concentrato rettificato diluito, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

5.4. **Indice di rifrazione dei mosti, dei mosti concentrati e dei mosti concentrati rettificati**

Riportare nella tabella II la percentuale in massa di saccarosio a 20 °C per ricavare l'indice di rifrazione a 20 °C. Tale valore è espresso con quattro cifre decimali.

TABELLA I

Correzione da apportare nel caso in cui la percentuale in massa di saccarosio sia stata determinata a una temperatura diversa da 20 °C

Temperatura °C	Saccarosio in grammi per 100 g di prodotto									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Sottrarre									
15	0,25	0,27	0,31	0,31	0,34	0,35	0,36	0,37	0,36	0,36
16	0,21	0,23	0,27	0,27	0,29	0,31	0,31	0,32	0,31	0,23
17	0,16	0,18	0,20	0,20	0,22	0,23	0,23	0,23	0,20	0,17
18	0,11	0,12	0,14	0,15	0,16	0,16	0,15	0,12	0,12	0,09
19	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,07	0,05
	Addizionare									
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
22	0,12	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
23	0,18	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22
24	0,24	0,26	0,26	0,27	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29
25	0,30	0,32	0,32	0,34	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37

Nota: Le variazioni di temperatura per riportare a 20 °C non devono superare ± 5 °C.

TABELLA II

La tabella riporta il tenore zuccherino ⁽¹⁾ dei mosti e dei mosti concentrati espresso in grammi/litro e in grammi/chilogrammo, determinato per mezzo di un rifrattometro graduato in percentuale in massa di saccarosio a 20 °C o in indice di rifrazione a 20 °C. È anche riportata la massa volumica a 20 °C.

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
10.0	1.34781	1.0390	82.3	79.2	4,89
10.1	1.34798	1.0394	83.4	80.2	4,95
10.2	1.34814	1.0398	84.5	81.3	5,02
10.3	1.34830	1.0402	85.6	82.2	5,09
10.4	1.34845	1.0406	86.6	83.2	5,14
10.5	1.34860	1.0410	87.6	84.1	5,20
10.6	1.34875	1.0414	88.6	85.1	5,26
10.7	1.34890	1.0419	89.7	86.1	5,33
10.8	1.34906	1.0423	90.8	87.1	5,39
10.9	1.34921	1.0427	91.8	88.1	5,45
11.0	1.34936	1.0431	92.9	89.1	5,52
11.1	1.34952	1.0435	94.0	90.0	5,58
11.2	1.34968	1.0439	95.0	91.0	5,64
11.3	1.34984	1.0443	96.1	92.0	5,71
11.4	1.34999	1.0447	97.1	92.9	5,77
11.5	1.35015	1.0452	98.2	94.0	5,83
11.6	1.35031	1.0456	99.3	95.0	5,90
11.7	1.35046	1.0460	100.3	95.9	5,96
11.8	1.35062	1.0464	101.4	96.9	6,02
11.9	1.35077	1.0468	102.5	97.9	6,09
12.0	1.35092	1.0473	103.6	98.9	6,15
12.1	1.35108	1.0477	104.7	99.9	6,22
12.2	1.35124	1.0481	105.7	100.8	6,28
12.3	1.35140	1.0485	106.8	101.9	6,35
12.4	1.35156	1.0489	107.9	102.9	6,41
12.5	1.35172	1.0494	109.0	103.8	6,47
12.6	1.35187	1.0498	110.0	104.8	6,53
12.7	1.35203	1.0502	111.1	105.8	6,60
12.8	1.35219	1.0506	112.2	106.8	6,66
12.9	1.35234	1.0510	113.2	107.8	6,73
13.0	1.35249	1.0514	114.3	108.7	6,79
13.1	1.35266	1.0519	115.4	109.7	6,86
13.2	1.35282	1.0523	116.5	110.7	6,92
13.3	1.35298	1.0527	117.6	111.7	6,99
13.4	1.35313	1.0531	118.6	112.6	7,05
13.5	1.35329	1.0536	119.7	113.6	7,11
13.6	1.35345	1.0540	120.8	114.6	7,18
13.7	1.35360	1.0544	121.8	115.6	7,24
13.8	1.35376	1.0548	122.9	116.5	7,30
13.9	1.35391	1.0552	124.0	117.5	7,37
14.0	1.35407	1.0557	125.1	118.5	7,43
14.1	1.35424	1.0561	126.2	119.5	7,50
14.2	1.35440	1.0565	127.3	120.5	7,56
14.3	1.35456	1.0569	128.4	121.5	7,63
14.4	1.35472	1.0574	129.5	122.5	7,69
14.5	1.35488	1.0578	130.6	123.4	7,76
14.6	1.35503	1.0582	131.6	124.4	7,82
14.7	1.35519	1.0586	132.7	125.4	7,88
14.8	1.35535	1.0591	133.8	126.3	7,95
14.9	1.35551	1.0595	134.9	127.3	8,01

⁽¹⁾ Il tenore in zucchero è espresso come zucchero invertito.

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
15.0	1.35567	1.0599	136.0	128.3	8,08
15.1	1.35583	1.0603	137.1	129.3	8,15
15.2	1.35599	1.0608	138.2	130.3	8,21
15.3	1.35615	1.0612	139.3	131.3	8,27
15.4	1.35631	1.0616	140.4	132.3	8,34
15.5	1.35648	1.0621	141.5	133.2	8,41
15.6	1.35664	1.0625	142.6	134.2	8,47
15.7	1.35680	1.0629	143.7	135.2	8,54
15.8	1.35696	1.0633	144.8	136.2	8,60
15.9	1.35712	1.0638	145.9	137.2	8,67
16.0	1.35728	1.0642	147.0	138.1	8,73
16.1	1.35744	1.0646	148.1	139.1	8,80
16.2	1.35760	1.0651	149.2	140.1	8,86
16.3	1.35776	1.0655	150.3	141.1	8,93
16.4	1.35793	1.0660	151.5	142.1	9,00
16.5	1.35809	1.0664	152.6	143.1	9,06
16.6	1.35825	1.0668	153.7	144.1	9,13
16.7	1.35842	1.0672	154.8	145.0	9,20
16.8	1.35858	1.0677	155.9	146.0	9,26
16.9	1.35874	1.0681	157.0	147.0	9,33
17.0	1.35890	1.0685	158.1	148.0	9,39
17.1	1.35907	1.0690	159.3	149.0	9,46
17.2	1.35923	1.0694	160.4	150.0	9,53
17.3	1.35939	1.0699	161.5	151.0	9,59
17.4	1.35955	1.0703	162.6	151.9	9,66
17.5	1.35972	1.0707	163.7	152.9	9,73
17.6	1.35988	1.0711	164.8	153.9	9,79
17.7	1.36004	1.0716	165.9	154.8	9,86
17.8	1.36020	1.0720	167.0	155.8	9,92
17.9	1.36036	1.0724	168.1	156.8	9,99
18.0	1.36053	1.0729	169.3	157.8	10,06
18.1	1.36070	1.0733	170.4	158.8	10,12
18.2	1.36086	1.0738	171.5	159.7	10,19
18.3	1.36102	1.0742	172.6	160.7	10,25
18.4	1.36119	1.0746	173.7	161.6	10,32
18.5	1.36136	1.0751	174.9	162.6	10,39
18.6	1.36152	1.0755	176.0	163.6	10,46
18.7	1.36169	1.0760	177.2	164.6	10,53
18.8	1.36185	1.0764	178.3	165.6	10,59
18.9	1.36201	1.0768	179.4	166.6	10,66
19.0	1.36217	1.0773	180.5	167.6	10,72
19.1	1.36234	1.0777	181.7	168.6	10,80
19.2	1.36251	1.0782	182.8	169.5	10,86
19.3	1.36267	1.0786	183.9	170.5	10,93
19.4	1.36284	1.0791	185.1	171.5	11,00
19.5	1.36301	1.0795	186.3	172.5	11,07
19.6	1.36318	1.0800	187.4	173.5	11,13
19.7	1.36335	1.0804	188.6	174.5	11,21
19.8	1.36351	1.0809	189.7	175.5	11,27
19.9	1.36367	1.0813	190.8	176.5	11,34

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
20.0	1.36383	1.0817	191.9	177.4	11,40
20.1	1.36400	1.0822	193.1	178.4	11,47
20.2	1.36417	1.0826	194.2	179.4	11,54
20.3	1.36434	1.0831	195.3	180.4	11,60
20.4	1.36451	1.0835	196.5	181.4	11,67
20.5	1.36468	1.0840	197.7	182.3	11,75
20.6	1.36484	1.0844	198.8	183.3	11,81
20.7	1.36501	1.0849	200.0	184.3	11,88
20.8	1.36518	1.0853	201.1	185.3	11,96
20.9	1.36534	1.0857	202.2	186.2	12,01
21.0	1.36550	1.0862	203.3	187.2	12,08
21.1	1.36568	1.0866	204.5	188.2	12,15
21.2	1.36585	1.0871	205.7	189.2	12,22
21.3	1.36601	1.0875	206.8	190.2	12,29
21.4	1.36618	1.0880	207.9	191.1	12,35
21.5	1.36635	1.0884	209.1	192.1	12,42
21.6	1.36652	1.0889	210.3	193.1	12,49
21.7	1.36669	1.0893	211.4	194.1	12,56
21.8	1.36685	1.0897	212.5	195.0	12,63
21.9	1.36702	1.0902	213.6	196.0	12,69
22.0	1.36719	1.0906	214.8	196.9	12,76
22.1	1.36736	1.0911	216.0	198.0	12,83
22.2	1.36753	1.0916	217.2	199.0	12,90
22.3	1.36770	1.0920	218.3	199.9	12,97
22.4	1.36787	1.0925	219.5	200.9	13,04
22.5	1.36804	1.0929	220.6	201.8	13,11
22.6	1.36820	1.0933	221.7	202.8	13,17
22.7	1.36837	1.0938	222.9	203.8	13,24
22.8	1.36854	1.0943	224.1	204.8	13,31
22.9	1.36871	1.0947	225.2	205.8	13,38
23.0	1.36888	1.0952	226.4	206.7	13,45
23.1	1.36905	1.0956	227.6	207.7	13,52
23.2	1.36922	1.0961	228.7	208.7	13,59
23.3	1.36939	1.0965	229.9	209.7	13,66
23.4	1.36956	1.0970	231.1	210.7	13,73
23.5	1.36973	1.0975	232.3	211.6	13,80
23.6	1.36991	1.0979	233.4	212.6	13,87
23.7	1.37008	1.0984	234.6	213.6	13,94
23.8	1.37025	1.0988	235.8	214.6	14,01
23.9	1.37042	1.0993	237.0	215.6	14,08
24.0	1.37059	1.0998	238.2	216.6	14,15
24.1	1.37076	1.1007	239.3	217.4	14,22
24.2	1.37093	1.1011	240.3	218.2	14,28
24.3	1.37110	1.1016	241.6	219.4	14,35
24.4	1.37128	1.1022	243.0	220.5	14,44
24.5	1.37145	1.1026	244.0	221.3	14,50
24.6	1.37162	1.1030	245.0	222.1	14,56
24.7	1.37180	1.1035	246.4	223.2	14,64
24.8	1.37197	1.1041	247.7	224.4	14,72
24.9	1.37214	1.1045	248.7	225.2	14,78

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
25.0	1.37232	1.1049	249.7	226.0	14,84
25.1	1.37249	1.1053	250.7	226.8	14,90
25.2	1.37266	1.1057	251.7	227.6	14,96
25.3	1.37283	1.1062	253.0	228.7	15,03
25.4	1.37300	1.1068	254.4	229.9	15,11
25.5	1.37317	1.1072	255.4	230.7	15,17
25.6	1.37335	1.1076	256.4	231.5	15,23
25.7	1.37353	1.1081	257.8	232.6	15,32
25.8	1.37370	1.1087	259.1	233.7	15,39
25.9	1.37387	1.1091	260.1	234.5	15,45
26.0	1.37405	1.1095	261.1	235.3	15,51
26.1	1.37423	1.1100	262.5	236.4	15,60
26.2	1.37440	1.1106	263.8	237.5	15,67
26.3	1.37457	1.1110	264.8	238.3	15,73
26.4	1.37475	1.1114	265.8	239.2	15,79
26.5	1.37493	1.1119	267.2	240.3	15,88
26.6	1.37510	1.1125	268.5	241.4	15,95
26.7	1.37528	1.1129	269.5	242.2	16,01
26.8	1.37545	1.1133	270.5	243.0	16,07
26.9	1.37562	1.1138	271.8	244.1	16,15
27.0	1.37580	1.1144	273.2	245.2	16,23
27.1	1.37598	1.1148	274.2	246.0	16,29
27.2	1.37615	1.1152	275.2	246.8	16,35
27.3	1.37632	1.1157	276.5	247.9	16,43
27.4	1.37650	1.1163	277.9	249.0	16,51
27.5	1.37667	1.1167	278.9	249.8	16,57
27.6	1.37685	1.1171	279.9	250.6	16,63
27.7	1.37703	1.1176	281.3	251.6	16,71
27.8	1.37721	1.1182	282.6	252.7	16,79
27.9	1.37739	1.1186	283.6	253.5	16,85
28.0	1.37757	1.1190	284.6	254.3	16,91
28.1	1.37775	1.1195	286.0	255.4	16,99
28.2	1.37793	1.1201	287.3	256.5	17,07
28.3	1.37810	1.1205	288.3	257.3	17,13
28.4	1.37828	1.1209	289.3	258.1	17,19
28.5	1.37846	1.1214	290.7	259.2	17,27
28.6	1.37863	1.1220	292.0	260.3	17,35
28.7	1.37881	1.1224	293.0	261.0	17,41
28.8	1.37899	1.1228	294.0	261.8	17,47
28.9	1.37917	1.1233	295.3	262.9	17,55
29.0	1.37935	1.1239	296.7	264.0	17,63
29.1	1.37953	1.1244	298.1	265.1	17,71
29.2	1.37971	1.1250	299.4	266.1	17,79
29.3	1.37988	1.1254	300.4	266.9	17,85
29.4	1.38006	1.1258	301.4	267.7	17,91
29.5	1.38024	1.1263	302.8	268.8	17,99
29.6	1.38042	1.1269	304.1	269.9	18,07
29.7	1.38060	1.1273	305.1	270.6	18,13
29.8	1.38078	1.1277	306.1	271.4	18,19
29.9	1.38096	1.1282	307.4	272.5	18,26

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
30.0	1.38114	1.1288	308.8	273.6	18,35
30.1	1.38132	1.1293	310.0	274.5	18,42
30.2	1.38150	1.1298	311.2	275.5	18,49
30.3	1.38168	1.1302	312.4	276.4	18,56
30.4	1.38186	1.1307	313.6	277.3	18,63
30.5	1.38204	1.1312	314.8	278.3	18,70
30.6	1.38222	1.1317	316.0	279.2	18,77
30.7	1.38240	1.1322	317.2	280.2	18,85
30.8	1.38258	1.1327	318.4	281.1	18,92
30.9	1.38276	1.1332	319.6	282.0	18,99
31.0	1.38294	1.1336	320.8	283.0	19,06
31.1	1.38312	1.1341	322.0	283.9	19,13
31.2	1.38330	1.1346	323.2	284.9	19,20
31.3	1.38349	1.1351	324.4	285.8	19,27
31.4	1.38367	1.1356	325.6	286.8	19,35
31.5	1.38385	1.1361	326.8	287.7	19,42
31.6	1.38403	1.1366	328.1	288.6	19,49
31.7	1.38421	1.1371	329.3	289.6	19,56
31.8	1.38440	1.1376	330.5	290.5	19,64
31.9	1.38458	1.1380	331.7	291.5	19,71
32.0	1.38476	1.1385	332.9	292.4	19,78
32.1	1.38494	1.1391	334.2	293.4	19,86
32.2	1.38513	1.1396	335.5	294.4	19,93
32.3	1.38531	1.1401	336.7	295.4	20,00
32.4	1.38550	1.1406	338.0	296.4	20,08
32.5	1.38568	1.1411	339.3	297.3	20,16
32.6	1.38586	1.1416	340.6	298.3	20,24
32.7	1.38605	1.1422	341.9	299.3	20,31
32.8	1.38623	1.1427	343.1	300.3	20,38
32.9	1.38642	1.1432	344.4	301.3	20,46
33.0	1.38660	1.1437	345.7	302.3	20,54
33.1	1.38678	1.1442	346.9	303.2	20,61
33.2	1.38697	1.1447	348.1	304.1	20,68
33.3	1.38715	1.1452	349.3	305.0	20,75
33.4	1.38734	1.1457	350.5	305.9	20,82
33.5	1.38753	1.1461	351.7	306.9	20,90
33.6	1.38771	1.1466	352.9	307.8	20,97
33.7	1.38790	1.1471	354.1	308.7	21,04
33.8	1.38808	1.1476	355.3	309.6	21,11
33.9	1.38827	1.1481	356.5	310.5	21,18
34.0	1.38845	1.1486	357.7	311.4	21,25
34.1	1.38864	1.1491	359.0	312.4	21,33
34.2	1.38882	1.1496	360.3	313.4	21,41
34.3	1.38901	1.1501	361.5	314.3	21,48
34.4	1.38919	1.1506	362.8	315.3	21,55
34.5	1.38938	1.1512	364.1	316.3	21,63
34.6	1.38957	1.1517	365.4	317.3	21,71
34.7	1.38975	1.1522	366.7	318.2	21,79
34.8	1.38994	1.1527	367.9	319.2	21,86
34.9	1.39012	1.1532	369.2	320.2	21,94

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
35.0	1.39031	1.1537	370.5	321.1	22,01
35.1	1.39050	1.1543	371.8	322.1	22,09
35.2	1.39069	1.1548	373.0	323.0	22,16
35.3	1.39087	1.1553	374.3	324.0	22,24
35.4	1.39106	1.1558	375.6	325.0	22,32
35.5	1.39125	1.1563	376,9	325.9	22,39
35.6	1.39144	1.1568	378.1	326.9	22,45
35.7	1.39163	1.1573	379.4	327.8	22,54
35.8	1.39181	1.1579	380.7	328.8	22,62
35.9	1.39200	1.1584	381.9	329.7	22,69
36.0	1.39219	1.1589	383.2	330.7	22,77
36.1	1.39238	1.1594	384.5	331.6	22,85
36.2	1.39257	1.1599	385.8	332.6	22,92
36.3	1.39276	1.1604	387.0	333.5	22,99
36.4	1.39295	1.1610	388.3	334.5	23,07
36.5	1.39314	1.1615	389.6	335.4	23,15
36.6	1.39332	1.1620	390.9	336.4	23,22
36.7	1.39351	1.1625	392.2	337.3	23,30
36.8	1.39370	1.1630	393.4	338.3	23,37
36.9	1.39389	1.1635	394.7	339.2	23,45
37.0	1.39408	1.1641	396.0	340.2	23,53
37.1	1.39427	1.1646	397.3	341.1	23,60
37.2	1.39446	1.1651	398.6	342.1	23,68
37.3	1.39465	1.1656	399.8	343.0	23,75
37.4	1.39484	1.1661	401.1	344.0	23,83
37.5	1.39504	1.1666	402.4	344.9	23,91
37.6	1.39523	1.1672	403.7	345.9	23,99
37.7	1.39542	1.1677	405.0	346.8	24,06
37.8	1.39561	1.1682	406.2	347.7	24,13
37.9	1.39580	1.1687	407.5	348.7	24,21
38.0	1.39599	1.1692	408.8	349.6	24,29
38.1	1.39618	1.1698	410.1	350.6	24,37
38.2	1.39637	1.1703	411.3	351.5	24,44
38.3	1.39657	1.1708	412.6	352.4	24,51
38.4	1.39676	1.1713	413.9	353.4	24,59
38.5	1.39695	1.1718	415.2	354.3	24,67
38.6	1.39714	1.1723	416.4	355.2	24,74
38.7	1.39733	1.1728	417.7	356.1	24,82
38.8	1.39753	1.1733	419.0	357.1	24,90
38.9	1.39772	1.1739	420.2	358.0	24,97
39.0	1.39791	1.1744	421.5	358.9	25,04
39.1	1.39810	1.1749	422.8	359.8	25,12
39.2	1.39830	1.1754	424.1	360.8	25,20
39.3	1.39849	1.1759	425.3	361.7	25,27
39.4	1.39869	1.1764	426.6	362.6	25,35
39.5	1.39888	1.1770	427.9	363.6	25,42
39.6	1.39907	1.1775	429.2	364.5	25,50
39.7	1.39927	1.1780	430.5	365.4	25,58
39.8	1.39946	1.1785	431.7	366.3	25,65
39.9	1.39966	1.1790	433.0	367.3	25,73

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
40.0	1.39985	1.1796	434.3	368.2	25,80
40.1	1.40004	1.1801	435.6	369.2	25,88
40.2	1.40024	1.1806	437.0	370.1	25,96
40.3	1.40043	1.1812	438.3	371.1	26,04
40.4	1.40063	1.1817	439.7	372.1	26,12
40.5	1.40083	1.1823	441.0	373.0	26,20
40.6	1.40102	1.1828	442.3	374.0	26,28
40.7	1.40122	1.1833	443.7	374.9	26,36
40.8	1.40141	1.1839	445.0	375.9	26,44
40.9	1.40161	1.1844	446.4	376.9	26,52
41.0	1.40180	1.1850	447.7	377.8	26,60
41.1	1.40200	1.1855	449.0	378.7	26,68
41.2	1.40219	1.1860	450.2	379.6	26,75
41.3	1.40239	1.1865	451.5	380.5	26,83
41.4	1.40259	1.1870	452.8	381.4	26,90
41.5	1.40279	1.1875	454.1	382.3	26,98
41.6	1.40298	1.1881	455.3	383.2	27,05
41.7	1.40318	1.1886	456.6	384.2	27,13
41.8	1.40338	1.1891	457.9	385.1	27,21
41.9	1.40357	1.1896	459.1	386.0	27,28
42.0	1.40377	1.1901	460.4	386.9	27,35
42.1	1.40397	1.1907	461.7	387.8	27,43
42.2	1.40417	1.1912	463.1	388.8	27,52
42.3	1.40436	1.1917	464.4	389.7	27,59
42.4	1.40456	1.1923	465.8	390.7	27,68
42.5	1.40476	1.1928	467.2	391.6	27,76
42.6	1.40496	1.1934	468.5	392.6	27,84
42.7	1.40516	1.1939	469.9	393.5	27,92
42.8	1.40535	1.1945	471.2	394.5	28,00
42.9	1.40555	1.1950	472.6	395.4	28,08
43.0	1.40575	1.1956	473.9	396.4	28,16
43.1	1.40595	1.1961	475.2	397.3	28,23
43.2	1.40615	1.1967	476.6	398.3	28,32
43.3	1.40635	1.1972	477.9	399.2	28,40
43.4	1.40655	1.1977	479.3	400.1	28,48
43.5	1.40675	1.1983	480.6	401.1	28,56
43.6	1.40695	1.1988	481.9	402.0	28,63
43.7	1.40715	1.1994	483.3	402.9	28,72
43.8	1.40735	1.1999	484.6	403.9	28,79
43.9	1.40755	1.2005	486.0	404.8	28,88
44.0	1.40775	1.2010	487.3	405.7	28,95
44.1	1.40795	1.2015	488.6	406.7	29,03
44.2	1.40815	1.2021	490.0	407.6	29,11
44.3	1.40836	1.2026	491.3	408.5	29,19
44.4	1.40856	1.2032	492.7	409.5	29,27
44.5	1.40876	1.2037	494.0	410.4	29,35
44.6	1.40896	1.2042	495.3	411.3	29,43
44.7	1.40916	1.2048	496.7	412.3	29,51
44.8	1.40937	1.2053	498.0	413.2	29,59
44.9	1.40957	1.2059	499.4	414.1	29,67

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
45.0	1.40977	1.2064	500.7	415.0	29,75
45.1	1.40997	1.2070	502.1	416.0	29,83
45.2	1.41018	1.2076	503.5	417.0	29,92
45.3	1.41038	1.2081	504.9	417.9	30,00
45.4	1.41058	1.2087	506.3	418.9	30,08
45.5	1.41079	1.2093	507.8	419.9	30,17
45.6	1.41099	1.2098	509.2	420.9	30,25
45.7	1.41119	1.2104	510.6	421.8	30,34
45.8	1.41139	1.2110	512.0	422.8	30,42
45.9	1.41160	1.2115	513.4	423.7	30,50
46.0	1.41180	1.2121	514.8	424.7	30,59
46.1	1.41200	1.2127	516.1	425.6	30,66
46.2	1.41221	1.2132	517.5	426.5	30,75
46.3	1.41241	1.2137	518.8	427.5	30,82
46.4	1.41262	1.2143	520.2	428.4	30,91
46.5	1.41282	1.2148	521.5	429.3	30,99
46.6	1.41302	1.2154	522.8	430.2	31,06
46.7	1.41323	1.2159	524.2	431.1	31,15
46.8	1.41343	1.2165	525.5	432.0	31,22
46.9	1.41364	1.2170	526.9	432.9	31,31
47.0	1.41384	1.2175	528.2	433.8	31,38
47.1	1.41405	1.2181	529.6	434.8	31,47
47.2	1.41425	1.2187	531.0	435.7	31,55
47.3	1.41446	1.2192	532.4	436.7	31,63
47.4	1.41466	1.2198	533.8	437.6	31,72
47.5	1.41487	1.2204	535.3	438.6	31,81
47.6	1.41508	1.2210	536.7	439.5	31,89
47.7	1.41528	1.2215	538.1	440.5	31,97
47.8	1.41549	1.2221	539.5	441.4	32,05
47.9	1.41569	1.2227	540.9	442.4	32,14
48.0	1.41590	1.2232	542.3	443.3	32,22
48.1	1.41611	1.2238	543.6	444.2	32,30
48.2	1.41632	1.2243	545.0	445.1	32,38
48.3	1.41652	1.2249	546.3	446.0	32,46
48.4	1.41673	1.2254	547.7	446.9	32,59
48.5	1.41694	1.2260	549.1	447.8	32,63
48.6	1.41715	1.2265	550.4	448.7	32,70
48.7	1.41736	1.2271	551.8	449.7	32,79
48.8	1.41756	1.2276	553.1	450.6	32,86
48.9	1.41777	1.2282	554.5	451.4	32,95
49.0	1.41798	1.2287	555.8	452.3	33,02
49.1	1.41819	1.2293	557.2	453.3	33,11
49.2	1.41840	1.2298	558.6	454.2	33,19
49.3	1.41861	1.2304	560.0	455.1	33,27
49.4	1.41882	1.2310	561.4	456.1	33,36
49.5	1.41903	1.2315	562.8	457.0	33,44
49.6	1.41924	1.2321	564.2	457.9	33,52
49.7	1.41945	1.2327	565.6	458.8	33,61
49.8	1.41966	1.2332	567.0	459.8	33,69
49.9	1.41987	1.2338	568.4	460.7	33,77

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
50.0	1.42008	1.2344	569.8	461.6	33,86
50.1	1.42029	1.2349	571.2	462.5	33,94
50.2	1.42050	1.2355	572.6	463.5	34,02
50.3	1.42071	1.2361	574.0	464.4	34,10
50.4	1.42092	1.2366	575.4	465.3	34,19
50.5	1.42114	1.2372	576.9	466.2	34,28
50.6	1.42135	1.2378	578.3	467.2	34,36
50.7	1.42156	1.2384	579.7	468.1	34,44
50.8	1.42177	1.2389	581.1	469.0	34,53
50.9	1.42198	1.2395	582.5	469.9	34,61
51.0	1.42219	1.2401	583.9	470.9	34,69
51.1	1.42240	1.2407	585.4	471.8	34,78
51.2	1.42261	1.2413	586.9	472.8	34,87
51.3	1.42283	1.2419	588.3	473.8	34,95
51.4	1.42304	1.2425	589.8	474.7	35,04
51.5	1.42325	1.2431	591.3	475.7	35,13
51.6	1.42346	1.2437	592.8	476.6	35,22
51.7	1.42367	1.2443	594.3	477.6	35,31
51.8	1.42389	1.2449	595.7	478.6	35,39
51.9	1.42410	1.2455	597.2	479.5	35,48
52.0	1.42431	1.2461	598.7	480.5	35,57
52.1	1.42452	1.2466	600.1	481.4	35,65
52.2	1.42474	1.2472	601.5	482.3	35,74
52.3	1.42495	1.2478	602.9	483.2	35,82
52.4	1.42517	1.2483	604.3	484.1	35,91
52.5	1.42538	1.2489	605.8	485.0	35,99
52.6	1.42559	1.2495	607.2	485.9	36,08
52.7	1.42581	1.2500	608.6	486.8	36,16
52.8	1.42602	1.2506	610.0	487.7	36,24
52.9	1.42624	1.2512	611.4	488.6	36,33
53.0	1.42645	1.2518	612.8	489.6	36,41
53.1	1.42666	1.2524	614.3	490.5	36,50
53.2	1.42686	1.2530	615.8	491.4	36,59
53.3	1.42707	1.2536	617.2	492.4	36,67
53.4	1.42727	1.2542	618.7	493.3	36,76
53.5	1.42748	1.2548	620.2	494.3	36,85
53.6	1.42769	1.2554	621.7	495.2	36,94
53.7	1.42789	1.2560	623.2	496.2	37,03
53.8	1.42810	1.2566	624.6	497.1	37,11
53.9	1.42830	1.2571	626.1	498.0	37,20
54.0	1.42851	1.2577	627.6	499.0	37,29
54.1	1.42874	1.2583	629.0	499.9	37,37
54.2	1.42897	1.2589	630.4	500.8	37,45
54.3	1.42919	1.2595	631.8	501.7	37,54
54.4	1.42942	1.2600	633.2	502.6	37,62
54.5	1.42965	1.2606	634.7	503.5	37,71
54.6	1.42988	1.2612	636.1	504.3	37,79
54.7	1.43011	1.2617	637.5	505.2	37,88
54.8	1.43033	1.2623	638.9	506.1	37,96
54.9	1.43056	1.2629	640.3	507.0	38,04

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
55.0	1.43079	1.2635	641.7	507.9	38,11
55.1	1.43101	1.2640	643.2	508.8	38,22
55.2	1.43123	1.2646	644.6	509.7	38,30
55.3	1.43145	1.2652	646.1	510.7	38,39
55.4	1.43167	1.2658	647.6	511.6	38,48
55.5	1.43189	1.2664	649.1	512.5	38,57
55.6	1.43210	1.2670	650.5	513.4	38,65
55.7	1.43232	1.2676	652.0	514.3	38,74
55.8	1.43254	1.2682	653.5	515.3	38,83
55.9	1.43276	1.2688	654.9	516.2	38,91
56.0	1.43298	1.2694	656.4	517.1	39,00
56.1	1.43320	1.2700	657.9	518.0	39,09
56.2	1.43342	1.2706	659.4	518.9	39,18
56.3	1.43364	1.2712	660.8	519.9	39,26
56.4	1.43386	1.2718	662.3	520.8	39,35
56.5	1.43409	1.2724	663.8	521.7	39,44
56.6	1.43431	1.2730	665.3	522.6	39,53
56.7	1.43453	1.2736	666.8	523.5	39,62
56.8	1.43475	1.2742	668.2	524.4	39,70
56.9	1.43497	1.2748	669.7	525.4	39,79
57.0	1.43519	1.2754	671.2	526.3	39,88
57.1	1.43541	1.2760	672.7	527.2	39,97
57.2	1.43563	1.2766	674.3	528.2	40,06
57.3	1.43586	1.2773	675.8	529.1	40,15
57.4	1.43608	1.2779	677.4	530.1	40,25
57.5	1.43630	1.2785	678.9	531.0	40,34
57.6	1.43652	1.2791	680.4	532.0	40,43
57.7	1.43674	1.2797	682.0	532.9	40,52
57.8	1.43697	1.2804	683.5	533.8	40,61
57.9	1.43719	1.2810	685.1	534.8	40,70
58.0	1.43741	1.2816	686.6	535.7	40,80
58.1	1.43763	1.2822	688.1	536.6	40,88
58.2	1.43786	1.2828	689.6	537.5	40,97
58.3	1.43808	1.2834	691.0	538.4	41,06
58.4	1.43831	1.2840	692.5	539.3	41,14
58.5	1.43854	1.2846	694.0	540.2	41,23
58.6	1.43876	1.2852	695.5	541.1	41,32
58.7	1.43899	1.2858	697.0	542.0	41,41
58.8	1.43921	1.2864	698.4	542.9	41,50
58.9	1.43944	1.2870	699.9	543.8	41,58
59.0	1.43966	1.2876	701.4	544.7	41,67
59.1	1.43989	1.2882	702.9	545.7	41,76
59.2	1.44011	1.2888	704.5	546.6	41,86
59.3	1.44034	1.2895	706.0	547.5	41,95
59.4	1.44056	1.2901	707.6	548.5	42,04
59.5	1.44079	1.2907	709.1	549.4	42,13
59.6	1.44102	1.2913	710.6	550.3	42,22
59.7	1.44124	1.2920	712.2	551.2	42,32
59.8	1.44147	1.2926	713.7	552.2	42,41
59.9	1.44169	1.2932	715.3	553.1	42,50

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
60.0	1.44192	1.2938	716.8	554.0	42,59
60.1	1.44215	1.2944	718.3	554.9	42,68
60.2	1.44237	1.2950	719.8	555.8	42,77
60.3	1.44260	1.2956	721.2	556.7	42,85
60.4	1.44283	1.2962	722.7	557.6	42,94
60.5	1.44306	1.2968	724.2	558.4	43,03
60.6	1.44328	1.2974	725.7	559.3	43,12
60.7	1.44351	1.2980	727.2	560.2	43,21
60.8	1.44374	1.2986	728.6	561.1	43,29
60.9	1.44396	1.2992	730.1	562.0	43,38
61.0	1.44419	1.2998	731.6	562.8	43,47
61.1	1.44442	1.3004	733.1	563.8	43,56
61.2	1.44465	1.3011	734.7	564.7	43,65
61.3	1.44488	1.3017	736.2	565.6	43,74
61.4	1.44511	1.3023	737.8	566.5	43,84
61.5	1.44533	1.3030	739.4	567.4	43,93
61.6	1.44556	1.3036	740.9	568.4	44,02
61.7	1.44579	1.3042	742.5	569.3	44,12
61.8	1.44602	1.3048	744.0	570.2	44,21
61.9	1.44625	1.3055	745.6	571.1	44,30
62.0	1.44648	1.3061	747.1	572.0	44,39
62.1	1.44671	1.3067	748.6	572.9	44,48
62.2	1.44694	1.3073	750.2	573.8	44,57
62.3	1.44717	1.3080	751.7	574.7	44,66
62.4	1.44740	1.3086	753.3	575.6	44,76
62.5	1.44764	1.3092	754.8	576.5	44,85
62.6	1.44787	1.3098	756.3	577.4	44,94
62.7	1.44810	1.3104	757.9	578.3	45,03
62.8	1.44833	1.3111	759.4	579.2	45,12
62.9	1.44856	1.3117	761.0	580.1	45,21
63.0	1.44879	1.3123	762.5	581.0	45,31
63.1	1.44902	1.3130	764.1	582.0	45,40
63.2	1.44926	1.3136	765.7	582.9	45,49
63.3	1.44949	1.3143	767.3	583.8	45,59
63.4	1.44972	1.3149	768.9	584.8	45,69
63.5	1.44996	1.3156	770.6	585.7	45,79
63.6	1.45019	1.3162	772.2	586.6	45,88
63.7	1.45042	1.3169	773.8	587.6	45,98
63.8	1.45065	1.3175	775.4	588.5	46,07
63.9	1.45089	1.3182	777.0	589.4	46,17
64.0	1.45112	1.3188	778.6	590.4	46,26
64.1	1.45135	1.3195	780.1	591.3	46,35
64.2	1.45159	1.3201	781.7	592.1	46,45
64.3	1.45183	1.3207	783.2	593.0	46,53
64.4	1.45206	1.3213	784.8	593.9	46,63
64.5	1.45230	1.3219	786.3	594.8	46,72
64.6	1.45253	1.3226	787.8	595.7	46,81
64.7	1.45276	1.3232	789.4	596.6	46,90
64.8	1.45300	1.3238	790.9	597.5	46,99
64.9	1.45324	1.3244	792.5	598.3	47,09

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
65.0	1.45347	1.3251	794.0	599.2	47,18
65.1	1.45371	1.3257	795.6	600.1	47,27
65.2	1.45394	1.3264	797.2	601.1	47,37
65.3	1.45418	1.3270	798.8	602.0	47,46
65.4	1.45441	1.3277	800.4	602.9	47,56
65.5	1.45465	1.3283	802.1	603.8	47,66
65.6	1.45489	1.3290	803.7	604.7	47,75
65.7	1.45512	1.3296	805.3	605.6	47,85
65.8	1.45536	1.3303	806.9	606.6	47,94
65.9	1.45559	1.3309	808.5	607.5	48,04
66.0	1.45583	1.3316	810.1	608.4	48,13
66.1	1.45607	1.3322	811.6	609.3	48,22
66.2	1.45630	1.3328	813.2	610.1	48,32
66.3	1.45654	1.3335	814.8	611.0	48,41
66.4	1.45678	1.3341	816.3	611.9	48,50
66.5	1.45702	1.3347	817.9	612.8	48,60
66.6	1.45725	1.3353	819.4	613.6	48,69
66.7	1.45749	1.3360	820.9	614.5	48,77
66.8	1.45773	1.3366	822.5	615.4	48,87
66.9	1.45796	1.3372	824.1	616.2	48,97
67.0	1.45820	1.3378	825.6	617.1	49,05
67.1	1.45844	1.3385	827.2	618.0	49,15
67.2	1.45868	1.3391	828.8	618.9	49,24
67.3	1.45892	1.3398	830.4	619.8	49,34
67.4	1.45916	1.3404	832.0	620.7	49,43
67.5	1.45940	1.3411	833.7	621.6	49,53
67.6	1.45964	1.3418	835.3	622.5	49,63
67.7	1.45988	1.3424	836.9	623.4	49,73
67.8	1.46012	1.3431	838.5	624.3	49,82
67.9	1.46036	1.3437	840.1	625.2	49,92
68.0	1.46060	1.3444	841.7	626.1	50,01
68.1	1.46084	1.3450	843.4	627.0	50,11
68.2	1.46108	1.3457	845.1	628.0	50,21
68.3	1.46132	1.3464	846.7	628.9	50,31
68.4	1.46156	1.3471	848.4	629.8	50,41
68.5	1.46181	1.3478	850.1	630.8	50,51
68.6	1.46205	1.3484	851.8	631.7	50,61
68.7	1.46229	1.3491	853.5	632.6	50,71
68.8	1.46253	1.3498	855.1	633.5	50,81
68.9	1.46277	1.3505	856.8	634.5	50,91
69.0	1.46301	1.3512	858.5	635.4	51,01
69.1	1.46325	1.3518	860.1	636.3	51,10
69.2	1.46350	1.3525	861.7	637.2	51,20
69.3	1.46374	1.3531	863.3	638.0	51,29
69.4	1.46398	1.3538	864.9	638.9	51,39
69.5	1.46423	1.3544	866.6	639.8	51,49
69.6	1.46447	1.3551	868.2	640.7	51,58
69.7	1.46471	1.3557	869.8	641.6	51,68
69.8	1.46495	1.3564	871.4	642.4	51,78
69.9	1.46520	1.3570	873.0	643.3	51,87

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
70.0	1.46544	1.3577	874.6	644.2	51,97
70.1	1.46568	1.3583	876.2	645.1	52,06
70.2	1.46593	1.3590	877.8	645.9	52,15
70.3	1.46618	1.3596	879.4	646.8	52,25
70.4	1.46642	1.3603	881.0	647.7	52,35
70.5	1.46667	1.3609	882.7	648.6	52,45
70.6	1.46691	1.3616	884.3	649.4	52,54
70.7	1.46715	1.2622	885.9	650.3	52,64
70.8	1.46740	1.3629	887.5	651.2	52,73
70.9	1.46765	1.3635	889.1	652.1	52,83
71.0	1.46789	1.3642	890.7	652.9	52,92
71.1	1.46814	1.3649	892.4	653.8	53,02
71.2	1.46838	1.3655	894.1	654.7	53,12
71.3	1.46863	1.3662	895.7	655.6	53,22
71.4	1.46888	1.3669	897.4	656.5	53,32
71.5	1.46913	1.3676	899.1	657.4	53,42
71.6	1.46937	1.3683	900.8	658.3	53,52
71.7	1.46962	1.3689	902.5	659.2	53,62
71.8	1.46987	1.3696	904.1	660.1	53,72
71.9	1.47011	1.3703	905.8	661.0	53,82
72.0	1.47036	1.3710	907.5	661.9	53,92
72.1	1.47061	1.3717	909.2	662.8	54,02
72.2	1.47086	1.3723	910.8	663.7	54,12
72.3	1.47110	1.3730	912.5	664.6	54,22
72.4	1.47135	1.3737	914.2	665.5	54,32
72.5	1.47160	1.3744	915.9	666.4	54,42
72.6	1.47185	1.3750	917.5	667.3	54,51
72.7	1.47210	1.3757	919.2	668.2	54,62
72.8	1.47234	1.3764	920.9	669.0	54,72
72.9	1.47259	1.3771	922.5	669.9	54,81
73.0	1.47284	1.3777	924.2	670.8	54,91
73.1	1.47309	1.3784	925.9	671.7	55,01
73.2	1.47334	1.3791	927.6	672.6	55,11
73.3	1.47359	1.3798	929.2	673.5	55,21
73.4	1.47384	1.3804	930.9	674.4	55,31
73.5	1.47409	1.3811	932.6	675.2	55,41
73.6	1.47434	1.3818	934.3	676.1	55,51
73.7	1.47459	1.3825	936.0	677.0	55,61
73.8	1.47484	1.3832	937.6	677.9	55,71
73.9	1.47509	1.3838	939.3	678.8	55,81
74.0	1.47534	1.3845	941.0	679.7	55,91
74.1	1.47559	1.3852	942.7	680.5	56,01
74.2	1.47584	1.3859	944.4	681.4	56,11
74.3	1.47609	1.3866	946.0	682.3	56,21
74.4	1.47634	1.3872	947.7	683.2	56,31
74.5	1.47660	1.3879	949.4	684.0	56,41
74.6	1.47685	1.3886	951.1	684.9	56,51
74.7	1.47710	1.3893	952.8	685.8	56,61
74.8	1.47735	1.3900	954.4	686.7	56,71
74.9	1.47760	1.3906	956.1	687.5	56,81

TABELLA III

La tabella riporta il tenore zuccherino ⁽¹⁾ dei mosti concentrati rettificati in grammi/litro e in grammi/chilogrammo, determinato per mezzo di un rifrattometro graduato in percentuale in massa di saccarosio a 20 °C oppure in indice di rifrazione a 20 °C. È anche riportata la massa volumica a 20 °C.

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
50.0	1.42008	1.2342	627.6	508.5	37,28
50.1	1.42029	1.2348	629.3	509.6	37,38
50.2	1.42050	1.2355	630.9	510.6	37,48
50.3	1.42071	1.2362	632.4	511.6	37,56
50.4	1.42092	1.2367	634.1	512.7	37,66
50.5	1.42113	1.2374	635.7	513.7	37,76
50.6	1.42135	1.2381	637.3	514.7	37,85
50.7	1.42156	1.2386	638.7	515.7	37,94
50.8	1.42177	1.2391	640.4	516.8	38,04
50.9	1.42198	1.2396	641.9	517.8	38,13
51.0	1.42219	1.2401	643.4	518.8	38,22
51.1	1.42240	1.2406	645.0	519.9	38,31
51.2	1.42261	1.2411	646.5	520.9	38,40
51.3	1.42282	1.2416	648.1	522.0	38,50
51.4	1.42304	1.2421	649.6	523.0	38,59
51.5	1.42325	1.2427	651.2	524.0	38,68
51.6	1.42347	1.2434	652.9	525.1	38,78
51.7	1.42368	1.2441	654.5	526.1	38,88
51.8	1.42389	1.2447	656.1	527.1	38,97
51.9	1.42410	1.2454	657.8	528.2	39,07
52.0	1.42432	1.2461	659.4	529.2	39,17
52.1	1.42453	1.2466	661.0	530.2	39,26
52.2	1.42475	1.2470	662.5	531.3	39,35
52.3	1.42496	1.2475	664.1	532.3	39,45
52.4	1.42517	1.2480	665.6	533.3	39,54
52.5	1.42538	1.2486	667.2	534.4	39,63
52.6	1.42560	1.2493	668.9	535.4	39,73
52.7	1.42581	1.2500	670.5	536.4	39,83
52.8	1.42603	1.2506	672.2	537.5	39,93
52.9	1.42624	1.2513	673.8	538.5	40,02
53.0	1.42645	1.2520	675.5	539.5	40,12
53.1	1.42667	1.2525	677.1	540.6	40,22
53.2	1.42689	1.2530	678.5	541.5	40,30
53.3	1.42711	1.2535	680.2	542.6	40,40
53.4	1.42733	1.2540	681.8	543.7	40,50
53.5	1.42754	1.2546	683.4	544.7	40,59
53.6	1.42776	1.2553	685.1	545.8	40,69
53.7	1.42797	1.2560	686.7	546.7	40,79
53.8	1.42819	1.2566	688.4	547.8	40,89
53.9	1.42840	1.2573	690.1	548.9	40,99
54.0	1.42861	1.2580	691.7	549.8	41,09
54.1	1.42884	1.2585	693.3	550.9	41,18
54.2	1.42906	1.2590	694.9	551.9	41,28
54.3	1.42927	1.2595	696.5	553.0	41,37
54.4	1.42949	1.2600	698.1	554.0	41,47
54.5	1.42971	1.2606	699.7	555.1	41,56
54.6	1.42993	1.2613	701.4	556.1	41,66
54.7	1.43014	1.2620	703.1	557.1	41,76
54.8	1.43036	1.2625	704.7	558.2	41,86
54.9	1.43058	1.2630	706.2	559.1	41,95

⁽¹⁾ Il tenore in zucchero è espresso come zucchero invertito.

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
55.0	1.43079	1.2635	707.8	560.2	42,04
55.1	1.43102	1.2639	709.4	561.3	42,14
55.2	1.43124	1.2645	711.0	562.3	42,23
55.3	1.43146	1.2652	712.7	563.3	42,33
55.4	1.43168	1.2659	714.4	564.3	42,44
55.5	1.43189	1.2665	716.1	565.4	42,54
55.6	1.43211	1.2672	717.8	566.4	42,64
55.7	1.43233	1.2679	719.5	567.5	42,74
55.8	1.43255	1.2685	721.1	568.5	42,83
55.9	1.43277	1.2692	722.8	569.5	42,93
56.0	1.43298	1.2699	724.5	570.5	43,04
56.1	1.43321	1.2703	726.1	571.6	43,13
56.2	1.43343	1.2708	727.7	572.6	43,23
56.3	1.43365	1.2713	729.3	573.7	43,32
56.4	1.43387	1.2718	730.9	574.7	43,42
56.5	1.43409	1.2724	732.6	575.8	43,52
56.6	1.43431	1.2731	734.3	576.8	43,62
56.7	1.43454	1.2738	736.0	577.8	43,72
56.8	1.43476	1.2744	737.6	578.8	43,81
56.9	1.43498	1.2751	739.4	579.9	43,92
57.0	1.43519	1.2758	741.1	580.9	44,02
57.1	1.43542	1.2763	742.8	582.0	44,12
57.2	1.43564	1.2768	744.4	583.0	44,22
57.3	1.43586	1.2773	745.9	584.0	44,31
57.4	1.43609	1.2778	747.6	585.1	44,41
57.5	1.43631	1.2784	749.3	586.1	44,51
57.6	1.43653	1.2791	751.0	587.1	44,61
57.7	1.43675	1.2798	752.7	588.1	44,71
57.8	1.43698	1.2804	754.4	589.2	44,81
57.9	1.43720	1.2810	756.1	590.2	44,91
58.0	1.43741	1.2818	757.8	591.2	45,01
58.1	1.43764	1.2822	759.5	592.3	45,11
58.2	1.43784	1.2827	761.1	593.4	45,21
58.3	1.43809	1.2832	762.6	594.3	45,30
58.4	1.43832	1.2837	764.3	595.4	45,40
58.5	1.43854	1.2843	766.0	596.4	45,50
58.6	1.43877	1.2850	767.8	597.5	45,61
58.7	1.43899	1.2857	769.5	598.5	45,71
58.8	1.43922	1.2863	771.1	599.5	45,80
58.9	1.43944	1.2869	772.9	600.6	45,91
59.0	1.43966	1.2876	774.6	601.6	46,01
59.1	1.43988	1.2882	776.3	602.6	46,11
59.2	1.44011	1.2889	778.1	603.7	46,22
59.3	1.44034	1.2896	779.8	604.7	46,32
59.4	1.44057	1.2902	781.6	605.8	46,43
59.5	1.44079	1.2909	783.3	606.8	46,53
59.6	1.44102	1.2916	785.2	607.9	46,64
59.7	1.44124	1.2921	786.8	608.9	46,74
59.8	1.44147	1.2926	788.4	609.9	46,83
59.9	1.44169	1.2931	790.0	610.9	46,93

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
60.0	1.44192	1.2936	791.7	612.0	47,03
60.1	1.44215	1.2942	793.3	613.0	47,12
60.2	1.44238	1.2949	795.2	614.1	47,23
60.3	1.44260	1.2956	796.9	615.1	47,34
60.4	1.44283	1.2962	798.6	616.1	47,44
60.5	1.44305	1.2969	800.5	617.2	47,55
60.6	1.44328	1.2976	802.2	618.2	47,65
60.7	1.44351	1.2981	803.9	619.3	47,75
60.8	1.44374	1.2986	805.5	620.3	47,85
60.9	1.44397	1.2991	807.1	621.3	47,94
61.0	1.44419	1.2996	808.7	622.3	48,04
61.1	1.44442	1.3002	810.5	623.4	48,14
61.2	1.44465	1.3009	812.3	624.4	48,25
61.3	1.44488	1.3016	814.2	625.5	48,36
61.4	1.44511	1.3022	815.8	626.5	48,46
61.5	1.44534	1.3029	817.7	627.6	48,57
61.6	1.44557	1.3036	819.4	628.6	48,67
61.7	1.44580	1.3042	821.3	629.7	48,79
61.8	1.44603	1.3049	823.0	630.7	48,89
61.9	1.44626	1.3056	824.8	631.7	48,99
62.0	1.44648	1.3062	826.6	632.8	49,10
62.1	1.44672	1.3068	828.3	633.8	49,20
62.2	1.44695	1.3075	830.0	634.8	49,30
62.3	1.44718	1.3080	831.8	635.9	49,40
62.4	1.44741	1.3085	833.4	636.9	49,50
62.5	1.44764	1.3090	835.1	638.0	49,60
62.6	1.44787	1.3095	836.8	639.0	49,71
62.7	1.44810	1.3101	838.5	640.0	49,81
62.8	1.44833	1.3108	840.2	641.0	49,91
62.9	1.44856	1.3115	842.1	642.1	50,02
63.0	1.44879	1.3121	843.8	643.1	50,12
63.1	1.44902	1.3128	845.7	644.2	50,23
63.2	1.44926	1.3135	847.5	645.2	50,34
63.3	1.44949	1.3141	849.3	646.3	50,45
63.4	1.44972	1.3148	851.1	647.3	50,56
63.5	1.44995	1.3155	853.0	648.4	50,67
63.6	1.45019	1.3161	854.7	649.4	50,77
63.7	1.45042	1.3168	856.5	650.4	50,88
63.8	1.45065	1.3175	858.4	651.5	50,99
63.9	1.45088	1.3180	860.0	652.5	51,08
64.0	1.45112	1.3185	861.6	653.5	51,18
64.1	1.45135	1.3190	863.4	654.6	51,29
64.2	1.45158	1.3195	865.1	655.6	51,39
64.3	1.45181	1.3201	866.9	656.7	51,49
64.4	1.45205	1.3208	868.7	657.7	51,60
64.5	1.45228	1.3215	870.6	658.8	51,71
64.6	1.45252	1.3221	872.3	659.8	51,81
64.7	1.45275	1.3228	874.1	660.8	51,92
64.8	1.45299	1.3235	876.0	661.9	52,03
64.9	1.45322	1.3241	877.8	662.9	52,14

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
65.0	1.45347	1.3248	879.7	664.0	52,25
65.1	1.45369	1.3255	881.5	665.0	52,36
65.2	1.45393	1.3261	883.2	666.0	52,46
65.3	1.45416	1.3268	885.0	667.0	52,57
65.4	1.45440	1.3275	886.9	668.1	52,68
65.5	1.45463	1.3281	888.8	669.2	52,79
65.6	1.45487	1.3288	890.6	670.2	52,90
65.7	1.45510	1.3295	892.4	671.2	53,01
65.8	1.45534	1.3301	894.2	672.3	53,12
65.9	1.45557	1.3308	896.0	673.3	53,22
66.0	1.45583	1.3315	898.0	674.4	53,34
66.1	1.45605	1.3320	899.6	675.4	53,44
66.2	1.45629	1.3325	901.3	676.4	53,54
66.3	1.45652	1.3330	903.1	677.5	53,64
66.4	1.45676	1.3335	904.8	678.5	53,75
66.5	1.45700	1.3341	906.7	679.6	53,86
66.6	1.45724	1.3348	908.5	680.6	53,96
66.7	1.45747	1.3355	910.4	681.7	54,08
66.8	1.45771	1.3361	912.2	682.7	54,18
66.9	1.45795	1.3367	913.9	683.7	54,29
67.0	1.45820	1.3374	915.9	684.8	54,40
67.1	1.45843	1.3380	917.6	685.8	54,51
67.2	1.45867	1.3387	919.6	686.9	54,62
67.3	1.45890	1.3395	921.4	687.9	54,73
67.4	1.45914	1.3400	923.1	688.9	54,83
67.5	1.45938	1.3407	925.1	690.0	54,95
67.6	1.45962	1.3415	927.0	691.0	55,06
67.7	1.45986	1.3420	928.8	692.1	55,17
67.8	1.46010	1.3427	930.6	693.1	55,28
67.9	1.46034	1.3434	932.6	694.2	55,40
68.0	1.46060	1.3440	934.4	695.2	55,50
68.1	1.46082	1.3447	936.2	696.2	55,61
68.2	1.46106	1.3454	938.0	697.2	55,72
68.3	1.46130	1.3460	939.9	698.3	55,83
68.4	1.46154	1.3466	941.8	699.4	55,94
68.5	1.46178	1.3473	943.7	700.4	56,06
68.6	1.46202	1.3479	945.4	701.4	56,16
68.7	1.46226	1.3486	947.4	702.5	56,28
68.8	1.46251	1.3493	949.2	703.5	56,38
68.9	1.46275	1.3499	951.1	704.6	56,50
69.0	1.46301	1.3506	953.0	705.6	56,61
69.1	1.46323	1.3513	954.8	706.6	56,72
69.2	1.46347	1.3519	956.7	707.7	56,83
69.3	1.46371	1.3526	958.6	708.7	56,94
69.4	1.46396	1.3533	960.6	709.8	57,06
69.5	1.46420	1.3539	962.4	710.8	57,17
69.6	1.46444	1.3546	964.3	711.9	57,28
69.7	1.46468	1.3553	966.2	712.9	57,39
69.8	1.46493	1.3560	968.2	714.0	57,51
69.9	1.46517	1.3566	970.0	715.0	57,62

Saccarosio % (m/m)	Indice di rifrazione a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Zucchero in g/l	Zucchero in g/kg	Titolo alcolometrico % vol. a 20 °C
70.0	1.46544	1.3573	971.8	716.0	57,72
70.1	1.46565	1.3579	973.8	717.1	57,84
70.2	1.46590	1.3586	975.6	718.1	57,95
70.3	1.46614	1.3593	977.6	719.2	58,07
70.4	1.46639	1.3599	979.4	720.2	58,18
70.5	1.46663	1.3606	981.3	721.2	58,29
70.6	1.46688	1.3613	983.3	722.3	58,41
70.7	1.46712	1.3619	985.2	723.4	58,52
70.8	1.46737	1.3626	987.1	724.4	58,63
70.9	1.46761	1.3633	988.9	725.4	58,74
71.0	1.46789	1.3639	990.9	726.5	58,86
71.1	1.46810	1.3646	992.8	727.5	58,97
71.2	1.46835	1.3653	994.8	728.6	59,09
71.3	1.46859	1.3659	996.6	729.6	59,20
71.4	1.46884	1.3665	998.5	730.7	59,31
71.5	1.46908	1.3672	1000.4	731.7	59,42
71.6	1.46933	1.3678	1002.2	732.7	59,53
71.7	1.46957	1.3685	1004.2	733.8	59,65
71.8	1.46982	1.3692	1006.1	734.8	59,76
71.9	1.47007	1.3698	1008.0	735.9	59,88
72.0	1.47036	1.3705	1009.9	736.9	59,99
72.1	1.47056	1.3712	1012.0	738.0	60,11
72.2	1.47081	1.3718	1013.8	739.0	60,22
72.3	1.47106	1.3725	1015.7	740.0	60,33
72.4	1.47131	1.3732	1017.7	741.1	60,45
72.5	1.47155	1.3738	1019.5	742.1	60,56
72.6	1.47180	1.3745	1021.5	743.2	60,68
72.7	1.47205	1.3752	1023.4	744.2	60,79
72.8	1.47230	1.3758	1025.4	745.3	60,91
72.9	1.47254	1.3765	1027.3	746.3	61,02
73.0	1.47284	1.3772	1029.3	747.4	61,14
73.1	1.47304	1.3778	1031.2	748.4	61,25
73.2	1.47329	1.3785	1033.2	749.5	61,37
73.3	1.47354	1.3792	1035.1	750.5	61,48
73.4	1.47379	1.3798	1037.1	751.6	61,60
73.5	1.47404	1.3805	1039.0	752.6	61,72
73.6	1.47429	1.3812	1040.9	753.6	61,83
73.7	1.47454	1.3818	1042.8	754.7	61,94
73.8	1.47479	1.3825	1044.8	755.7	62,06
73.9	1.47504	1.3832	1046.8	756.8	62,18
74.0	1.47534	1.3838	1048.6	757.8	62,28
74.1	1.47554	1.3845	1050.7	758.9	62,41
74.2	1.47579	1.3852	1052.6	759.9	62,52
74.3	1.47604	1.3858	1054.6	761.0	62,64
74.4	1.47629	1.3865	1056.5	762.0	62,76
74.5	1.47654	1.3871	1058.5	763.1	62,87
74.6	1.47679	1.3878	1060.4	764.1	62,99
74.7	1.47704	1.3885	1062.3	765.1	63,10
74.8	1.47730	1.3892	1064.4	766.2	63,23
74.9	1.47755	1.3898	1066.3	767.2	63,33
75.0	1.47785	1.3905	1068.3	768.3	63,46

3. TITOLO ALCOLOMETRICO VOLUMICO

1. DEFINIZIONE

Il titolo alcolometrico volumico è uguale al numero di litri di etanolo contenuti in 100 l di vino. Detti volumi si intendono misurati alla temperatura di 20 °C. Il simbolo è «% vol».

Osservazione:

Nel titolo alcolometrico oltre all'etanolo sono compresi i suoi omologhi e gli esteri etilici che passano nel distillato.

2. PRINCIPIO DEI METODI

2.1. Distillazione del vino alcalinizzato con una sospensione di idrossido di calcio

Determinazione del titolo alcolometrico del distillato.

2.2. Metodo di riferimento: determinazione della massa volumica del distillato mediante picnometria.

2.3. Metodi usuali

2.3.1. Determinazione del titolo alcolometrico del distillato per aerometria

2.3.2. Determinazione del titolo alcolometrico del distillato per densimetria mediante bilancia idrostatica

2.3.3. Determinazione del titolo alcolometrico del distillato mediante rifrattometria

Nota:

Per esprimere il titolo alcolometrico partendo dalla massa volumica del distillato, utilizzare le tabelle pratiche I, II e III riportate nell'allegato II del presente capitolo. Queste sono state calcolate a partire dalla tabella alcolometrica internazionale pubblicata nel 1972 dall'Organizzazione internazionale di metrologia legale nella raccomandazione n. 22 ed adottata dall'OIV (assemblea generale del 1974). Nella tabella I è riportata l'equazione generale che correla il titolo alcolometrico volumico e la massa volumica delle miscele idroalcoliche in funzione della temperatura.

3. DISTILLAZIONE

3.1. Apparecchiatura

3.1.1. Apparecchio di distillazione costituito da:

- un pallone da 1 litro a smerigliatura normalizzata;
- una colonna di rettifica alta circa 20 cm o qualsiasi altro dispositivo atto ad impedire il trascinamento;
- una sorgente di calore; occorre prevedere un opportuno dispositivo che impedisca la pirogenazione delle sostanze che compongono l'estratto;
- un refrigerante terminante con un tubo affilato che porti il distillato nel fondo del pallone di raccolta tarato contenente alcuni millilitri di acqua.

3.1.2. Dispositivo per l'estrazione in corrente di vapore costituita da:

1. un generatore di vapore d'acqua;
2. un gorgogliatore;
3. una colonna di rettifica;
4. un refrigerante.

Si può utilizzare qualunque modello di apparecchio di distillazione o di apparecchio di estrazione in corrente di vapore d'acqua a condizione che rispondano al saggio seguente:

distillare 5 volte di seguito una miscela idroalcolica a 10 % vol. Dopo l'ultima distillazione, il distillato deve presentare un titolo alcolometrico di almeno 9,9 % vol, vale a dire che nel corso di ciascuna distillazione non si deve perdere una quantità di alcool superiore a 0,02 % vol.

3.2. Reattivi

3.2.1. Sospensione di idrossido di calcio 2 M

Si ottiene versando con cautela 1 l di acqua calda (60-70 °C) su 120 g di calce viva CaO.

3.3. Preparazione del campione

I vini giovani o i vini spumanti devono essere preliminarmente privati della maggior parte del biossido di carbonio agitando 250-300 ml di vino in un pallone di 500 ml.

3.4. Modo di operare

Prelevare mediante un pallone tarato 200 ml di vino.

Annotare la sua temperatura.

Versarli nel pallone dell'apparecchiatura di distillazione o nel gorgogliatore dell'apparecchio di estrazione in corrente di vapore d'acqua. Risciacquare quattro volte il pallone tarato con 5 ml di acqua che si aggiunge nel pallone o nel gorgogliatore. Aggiungere 10 ml di idrossido di calcio (3.2.1) ed alcuni frammenti di materiale poroso inerte (pietra pomice) nel caso della distillazione.

Raccogliere il distillato nel pallone tarato da 200 ml che è stato utilizzato per misurare il vino.

Raccogliere, nel caso della distillazione, un volume uguale ai tre quarti circa del volume iniziale mentre, nel caso dell'estrazione in vapore d'acqua, raccogliere 198-199 ml di distillato. Portare a 200 millilitri con acqua distillata a una temperatura uguale a quella iniziale, con l'approssimazione di ± 2 °C.

Mescolare con cautela.

Avvertenza

Nel caso di vini particolarmente ricchi di ioni ammoniacali, ridistillare eventualmente il distillato nelle condizioni descritte precedentemente sostituendo la sospensione di idrossido di calcio con 1 ml di acido solforico al 10 % (v/v).

4. METODO DI RIFERIMENTO:

Determinazione del titolo alcolometrico del distillato per picnometria.

4.1. Apparecchiatura

4.1.1. Utilizzare il picnometro tarato come riportato al capitolo «massa volumica».

4.2. Modo di operare

Effettuare la determinazione della massa volumica apparente del distillato (3.4) a t °C come indicato nel capitolo 1 «Massa volumica» ai punti 4.3.1 e 4.3.2; sia $\rho_{t^{\circ}\text{C}}$ tale massa volumica.

4.3. Espressione dei risultati

4.3.1. Modo di calcolare

Esprimere il titolo alcolometrico a 20 °C mediante la tabella I. Nella tabella cercare sulla linea orizzontale corrispondente alla temperatura T intera immediatamente inferiore a t°

la più piccola massa volumica superiore a ρ_t . Utilizzare la differenza tabulare letta sotto tale massa volumica per calcolare la massa volumica ρ alla temperatura intera considerata T.

Sulla riga di detta temperatura T, dalla massa volumica ρ' della tabella immediatamente superiore a ρ si sottrae la massa volumica calcolata. Questa differenza va divisa per la differenza tabulare letta a destra della massa volumica ρ' . Il quoziente dà la parte decimale del titolo alcolometrico, mentre la parte del grado stesso è indicata in testa alla colonna ove figura la massa volumica ρ' .

Nell'allegato del presente capitolo è illustrato un esempio di calcolo del titolo alcolometrico.

Avvertenza

Per tale correzione di temperatura, è stato elaborato un programma di calcolo che consente eventualmente di effettuarla automaticamente.

4.3.2. *Ripetibilità (r):*

$r = 0,10 \% \text{ vol}$

4.3.3. *Riproducibilità (R):*

$R = 0,19 \% \text{ vol}$

5. METODI USUALI

5.1. **Areometria**

5.1.1. *Apparecchiatura*

5.1.1.1. Alcolometro

L'alcolometro deve rispondere alle specifiche per gli apparecchi della classe I o della classe II definite nella raccomandazione internazionale n. 44 «Alcolometri e areometri per l'alcole» dell'OIML (Organizzazione internazionale di metrologia legale).

5.1.1.2. Termometro graduato in gradi e decimi di grado da 0 a 40 °C, controllato con l'approssimazione di 1/20 di grado.

5.1.1.3. Cilindro di 36 mm di diametro e 320 mm di altezza tenuto verticalmente mediante un supporto con viti calanti.

5.1.2. *Modo di operare*

Versare il distillato (3.4) nel cilindro che va tenuto bene in posizione verticale. Introdurre il termometro e l'alcolometro. Effettuare la lettura della temperatura un minuto dopo aver agitato per ottenere uniformità di temperatura tra il cilindro, il termometro, l'alcolometro e il distillato.

Estrarre il termometro e leggere il titolo alcolometrico apparente dopo un minuto di riposo. Effettuare almeno tre letture con l'ausilio di una lente d'ingrandimento. Il titolo apparente misurato a $t^\circ\text{C}$ sarà corretto dell'influenza della temperatura mediante la tabella II.

È necessario che la temperatura del liquido sia poco diversa dalla temperatura ambiente (al massimo 5 °C di differenza).

5.2. **Densimetria mediante bilancia idrostatica**

5.2.1. *Apparecchiatura*

Utilizzare la bilancia idrostatica come indicato al capitolo «Massa volumica».

5.2.2. *Modo di operare*

Procedere alla determinazione della massa volumica apparente a $t^{\circ}\text{C}$ del distillato come indicato al capitolo 1 «Massa volumica» al punto 5.2.2.

5.2.3. *Espressione dei risultati*

Esprimere il titolo alcolometrico a 20°C seguendo le indicazioni riportate al punto 4.3.1 per mezzo della tabella I, se il galleggiante è di pirex, o della tabella III se il galleggiante è di vetro ordinario.

5.3. **Rifrattometria**5.3.1. *Apparecchiatura*

5.3.1.1. Rifrattometro atto a misurare gli indici di rifrazione compresi tra 1,330 e 1,346.

A seconda del tipo di apparecchio, le misure vanno fatte:

- a 20°C , mediante l'uso di un dispositivo appropriato;
- oppure alla temperatura ambiente $t^{\circ}\text{C}$ misurata per mezzo di un termometro con precisione di almeno $0,05^{\circ}\text{C}$. L'apparecchio deve essere corredato di una tabella di correzione della temperatura.

5.3.2. *Modo di operare*

Effettuare la misura dell'indice di rifrazione sul distillato di vino (3.4) seguendo il modo di operare previsto per il tipo di apparecchio utilizzato.

5.3.3. *Espressione dei risultati*

La tabella IV riporta il titolo alcolometrico corrispondente all'indice di rifrazione a 20°C .

Osservazione

La tabella IV dà la corrispondenza tra gli indici di rifrazione delle miscele idroalcoliche pure e quelle dei distillati di vino. Nel caso dei distillati di vino essa tiene conto delle impurezze del distillato (in prevalenza alcoli superiori). La presenza di metanolo provoca una diminuzione dell'indice di rifrazione e quindi del titolo alcolometrico.

6. **ESEMPIO DI CALCOLO DEL TITOLO ALCOLOMETRICO DI UN VINO**6.1. **Picnometria su bilancia a due piatti**

6.1.1. Le costanti del picnometro sono state determinate e calcolate come indicato al capitolo 1 «Massa volumica e densità relativa» (6.1.1).

6.1.2. *Pesata del picnometro pieno di distillato*

Esempio numerico

$$\text{Tara} = \text{picnometro} + \text{distillato a } t^{\circ}\text{C} + p'' \begin{cases} t^{\circ}\text{C} & = 18,90^{\circ}\text{C} \\ t^{\circ}\text{C} \text{ corretto} & = 18,70^{\circ}\text{C} \\ p'' & = 2,8074 \text{ g} \end{cases}$$

$$p + m - p'' = \text{massa del distillato a } t^{\circ}\text{C} \quad 105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$$

Massa volumica apparente a $t^{\circ}\text{C}$

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{\text{volume del picnometro a } 20^{\circ}\text{C}} \left\{ \rho_{18,70^{\circ}\text{C}} = \frac{102,2624}{104,0229} = 0,983076 \right.$$

6.1.3. *Calcolo del titolo alcolometrico*

Riferirsi alla tabella delle masse volumiche apparenti delle miscele idro-alcoliche a diverse temperature, come indicato precedentemente

Sulla riga 18 °C della tabella delle masse volumiche apparenti, la più piccola massa superiore alla massa osservata 0,983076 è 0,98398, nella colonna 11 %.

La massa volumica a 18 °C è:
 $(98307,6 + 0,7 \times 22) 10^{-5} = 0,98323$
 $0,98398 - 0,98323 = 0,00075$.

La parte decimale del titolo alcolometrico è $75/114 = 0,65$.

Il titolo alcolometrico è:
 11,65 % vol.

6.2. **Picnometria su bilancia monopiatto**

6.2.1. Le costanti del picnometro sono state determinate e calcolate al capitolo 1 «Massa volumica e densità relativa» (6.2.1).

6.2.2. *Pesata del picnometro pieno di distillato*

Peso del pallone tara al momento della determinazione (in grammi):

$$T_1 = 171,9178$$

Picnometro pieno di distillato a 20,50 °C (in grammi):

$$P_2 = 167,8438$$

Variazione della spinta dell'aria:

$$dT = 171,9178 - 171,9160 \\ = + 0,0018$$

Massa del distillato a 20,50 °C:

$$L_1 = 167,8438 - (67,6695 + 0,0018) \\ = 100,1725$$

Massa volumica apparente del distillato

$$\rho_{20,50\text{ °C}} = \frac{100,1725}{101,8194} = 0,983825$$

6.2.3. *Calcolo del titolo alcolometrico*

Riferirsi alla tabella delle masse volumiche apparenti delle miscele idro-alcoliche a diverse temperature, come indicato precedentemente

Sulla riga 20 °C della tabella delle masse volumiche apparenti, la più piccola massa superiore alla massa osservata 0,983825 è 0,98471, nella colonna 10 %.

La massa volumica a 20 °C è:
 $(98382,5 + 0,50 \times 24) 10^{-5} = 0,983945$
 $0,98471 - 0,983945 = 0,000765$.

La parte decimale del titolo alcolometrico è $76,5/119 = 0,64$.

Il titolo alcolometrico è:
 10,64 % vol.

**FORMULA PER IL CALCOLO DELLE TABELLE ALCOLOMETRICHE DELLE MISCELE
DI ALCOLE ETILICO ED ACQUA**

La massa volumica « ρ », espressa in chilogrammi per metro cubo (kg/m³), di una miscela di alcole etilico e di acqua alla temperatura t , espressa in gradi Celsius, è data dalla formula seguente in funzione:

- del titolo massico p espresso con un numero decimale ⁽¹⁾;
- della temperatura t espressa in gradi Celsius (E.I.P.T. 68);
- dei coefficienti numerici riportati di seguito.

La formula è valida per le temperature comprese tra -20 °C e $+40\text{ °C}$.

$$\rho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k p^{k-1} + \sum_{k=1}^6 B_k (t - 20\text{ °C})^k + \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^m C_{i,k} p^k (t - 20\text{ °C})^i$$

$n = 5$ $m_3 = 9$
 $m_1 = 11$ $m_4 = 4$
 $m_2 = 10$ $m_5 = 2$

Coefficienti numerici della formula

k	A_k kg/m ³	B_k
1	$9,982\ 012\ 300 \cdot 10^2$	$-2,061\ 851\ 3 \cdot 10^{-1}$ kg/(m ³ · °C)
2	$-1,929\ 769\ 495 \cdot 10^2$	$-5,268\ 254\ 2 \cdot 10^{-3}$ kg/(m ³ · °C ²)
3	$3,891\ 238\ 958 \cdot 10^2$	$3,613\ 001\ 3 \cdot 10^{-5}$ kg/(m ³ · °C ³)
4	$-1,668\ 103\ 923 \cdot 10^3$	$-3,895\ 770\ 2 \cdot 10^{-7}$ kg/(m ³ · °C ⁴)
5	$1,352\ 215\ 441 \cdot 10^4$	$7,169\ 354\ 0 \cdot 10^{-9}$ kg/(m ³ · °C ⁵)
6	$-8,829\ 278\ 388 \cdot 10^4$	$-9,973\ 923\ 1 \cdot 10^{-11}$ kg/(m ³ · °C ⁶)
7	$3,062\ 874\ 042 \cdot 10^5$	
8	$-6,138\ 381\ 234 \cdot 10^5$	
9	$7,470\ 172\ 998 \cdot 10^5$	
10	$-5,478\ 461\ 354 \cdot 10^5$	
11	$2,234\ 460\ 334 \cdot 10^5$	
12	$-3,903\ 285\ 426 \cdot 10^4$	

k	$C_{1,k}$ kg/(m ³ · °C)	$C_{2,k}$ kg/(m ³ · °C ²)
1	$1,693\ 443\ 461\ 530\ 087 \cdot 10^{-1}$	$-1,193\ 013\ 005\ 057\ 010 \cdot 10^{-2}$
2	$-1,046\ 914\ 743\ 455\ 169 \cdot 10^1$	$2,517\ 399\ 633\ 803\ 461 \cdot 10^{-1}$
3	$7,196\ 353\ 469\ 546\ 523 \cdot 10^1$	$-2,170\ 575\ 700\ 536\ 993$
4	$-7,047\ 478\ 054\ 272\ 792 \cdot 10^2$	$1,353\ 034\ 988\ 843\ 029 \cdot 10^1$
5	$3,924\ 090\ 430\ 035\ 045 \cdot 10^3$	$-5,029\ 988\ 758\ 547\ 014 \cdot 10^1$
6	$-1,210\ 164\ 659\ 068\ 747 \cdot 10^4$	$1,096\ 355\ 666\ 577\ 570 \cdot 10^2$
7	$2,248\ 646\ 550\ 400\ 788 \cdot 10^4$	$-1,422\ 753\ 946\ 421\ 155 \cdot 10^2$
8	$-2,605\ 562\ 982\ 188\ 164 \cdot 10^4$	$1,080\ 435\ 942\ 856\ 230 \cdot 10^2$
9	$1,852\ 373\ 922\ 069\ 467 \cdot 10^4$	$-4,414\ 153\ 236\ 817\ 392 \cdot 10^1$
10	$-7,420\ 201\ 433\ 430\ 137 \cdot 10^3$	$7,442\ 971\ 530\ 188\ 783$
11	$1,285\ 617\ 841\ 998\ 974 \cdot 10^3$	

k	$C_{3,k}$ kg/(m ³ · °C ³)	$C_{4,k}$ kg/(m ³ · °C ⁴)	$C_{5,k}$ kg/(m ³ · °C ⁵)
1	$-6,802\ 995\ 733\ 503\ 803 \cdot 10^{-4}$	$4,075\ 376\ 675\ 622\ 027 \cdot 10^{-6}$	$-2,788\ 074\ 354\ 782\ 409 \cdot 10^{-8}$
2	$1,876\ 837\ 790\ 289\ 664 \cdot 10^{-2}$	$-8,763\ 058\ 573\ 471\ 110 \cdot 10^{-6}$	$1,345\ 612\ 883\ 493\ 354 \cdot 10^{-8}$
3	$-2,002\ 561\ 813\ 734\ 156 \cdot 10^{-1}$	$6,515\ 031\ 360\ 099\ 368 \cdot 10^{-6}$	
4	$1,022\ 992\ 966\ 719\ 220$	$-1,515\ 784\ 836\ 987\ 210 \cdot 10^{-6}$	
5	$-2,895\ 696\ 483\ 903\ 638$		
6	$4,810\ 060\ 584\ 300\ 675$		
7	$-4,672\ 147\ 440\ 794\ 683$		
8	$2,458\ 043\ 105\ 903\ 461$		
9	$-5,411\ 227\ 621\ 436\ 812 \cdot 10^{-1}$		

⁽¹⁾ Esempio: per un titolo massico del 12%: $p = 0,12$.

TABELLA II

TITOLO ALCOLOMETRICO INTERNAZIONALE A 20 °C

Tabella delle correzioni da apportare al titolo alcolometrico apparente per correggere l'influenza della temperatura

Aggiungere o sottrarre al titolo alcolometrico apparente a t°C (alcolometro in vetro ordinario) la correzione qui sotto indicata.

		Titolo alcolometrico apparente a t°C																	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Temperatura	Aggiungere	0°	0,76	0,77	0,82	0,87	0,95	1,04	1,16	1,31	1,49	1,70	1,95	2,26	2,62	3,03	3,49	4,02	4,56
		1°	0,81	0,83	0,87	0,92	1,00	1,09	1,20	1,35	1,52	1,73	1,97	2,26	2,59	2,97	3,40	3,87	4,36
		2°	0,85	0,87	0,92	0,97	1,04	1,13	1,24	1,38	1,54	1,74	1,97	2,24	2,54	2,89	3,29	3,72	4,17
		3°	0,88	0,91	0,95	1,00	1,07	1,15	1,26	1,39	1,55	1,73	1,95	2,20	2,48	2,80	3,16	3,55	3,95
		4°	0,90	0,92	0,97	1,02	1,09	1,17	1,27	1,40	1,55	1,72	1,92	2,15	2,41	2,71	3,03	3,38	3,75
		5°	0,91	0,93	0,98	1,03	1,10	1,17	1,27	1,39	1,53	1,69	1,87	2,08	2,33	2,60	2,89	3,21	3,54
		6°	0,92	0,94	0,98	1,02	1,09	1,16	1,25	1,37	1,50	1,65	1,82	2,01	2,23	2,47	2,74	3,02	3,32
		7°	0,91	0,93	0,97	1,01	1,07	1,14	1,23	1,33	1,45	1,59	1,75	1,92	2,12	2,34	2,58	2,83	3,10
		8°	0,89	0,91	0,94	0,98	1,04	1,11	1,19	1,28	1,39	1,52	1,66	1,82	2,00	2,20	2,42	2,65	2,88
		9°	0,86	0,88	0,91	0,95	1,01	1,07	1,14	1,23	1,33	1,44	1,57	1,71	1,87	2,05	2,24	2,44	2,65
		10°	0,82	0,84	0,87	0,91	0,96	1,01	1,08	1,16	1,25	1,35	1,47	1,60	1,74	1,89	2,06	2,24	2,43
		11°	0,78	0,79	0,82	0,86	0,90	0,95	1,01	1,08	1,16	1,25	1,36	1,47	1,60	1,73	1,88	2,03	2,20
		12°	0,72	0,74	0,76	0,79	0,83	0,88	0,93	0,99	1,07	1,15	1,24	1,34	1,44	1,56	1,69	1,82	1,96
		13°	0,66	0,67	0,69	0,72	0,76	0,80	0,84	0,90	0,96	1,03	1,11	1,19	1,28	1,38	1,49	1,61	1,73
		14°	0,59	0,60	0,62	0,64	0,67	0,71	0,74	0,79	0,85	0,91	0,97	1,04	1,12	1,20	1,29	1,39	1,49
		15°	0,51	0,52	0,53	0,55	0,58	0,61	0,64	0,68	0,73	0,77	0,83	0,89	0,95	1,02	1,09	1,16	1,24
		16°	0,42	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,60	0,63	0,67	0,72	0,77	0,82	0,88	0,94	1,00
		17°	0,33	0,33	0,34	0,35	0,37	0,39	0,41	0,43	0,46	0,48	0,51	0,55	0,59	0,62	0,67	0,71	0,75
		18°	0,23	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,29	0,31	0,33	0,35	0,37	0,40	0,42	0,45	0,48	0,51
19°	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,23	0,24	0,25		

		Titolo alcolometrico apparente a t°C																	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Temperatura	Sottrarre	21°		0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,19	0,20	0,22	0,23	0,25	0,26
		22°		0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,44	0,47	0,49	0,52
		23°		0,40	0,41	0,42	0,44	0,45	0,47	0,49	0,51	0,54	0,57	0,60	0,63	0,66	0,70	0,74	0,78
		24°		0,55	0,56	0,58	0,60	0,62	0,64	0,67	0,70	0,73	0,77	0,81	0,85	0,89	0,94	0,99	1,04
		25°		0,69	0,71	0,73	0,76	0,79	0,82	0,85	0,89	0,93	0,97	1,02	1,07	1,13	1,19	1,25	1,31
		26°		0,85	0,87	0,90	0,93	0,96	1,00	1,04	1,08	1,13	1,18	1,24	1,30	1,36	1,43	1,50	1,57
		27°			1,03	1,07	1,11	1,15	1,19	1,23	1,28	1,34	1,40	1,46	1,53	1,60	1,68	1,76	1,84
		28°			1,21	1,25	1,29	1,33	1,38	1,43	1,49	1,55	1,62	1,69	1,77	1,85	1,93	2,02	2,11
		29°			1,39	1,43	1,47	1,52	1,58	1,63	1,70	1,76	1,84	1,92	2,01	2,10	2,19	2,29	2,39
		30°			1,57	1,61	1,66	1,72	1,78	1,84	1,91	1,98	2,07	2,15	2,25	2,35	2,45	2,56	2,67
		31°			1,75	1,80	1,86	1,92	1,98	2,05	2,13	2,21	2,30	2,39	2,49	2,60	2,71	2,83	2,94
		32°			1,94	2,00	2,06	2,13	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22
		33°				2,20	2,27	2,34	2,42	2,50	2,58	2,67	2,77	2,88	2,99	3,12	3,24	3,37	3,51
		34°				2,41	2,48	2,56	2,64	2,72	2,81	2,91	3,02	3,13	3,25	3,38	3,51	3,65	3,79
		35°				2,62	2,70	2,78	2,86	2,95	3,05	3,16	3,27	3,39	3,51	3,64	3,78	3,93	4,08
		36°				2,83	2,91	3,00	3,09	3,19	3,29	3,41	3,53	3,65	3,78	3,91	4,05	4,21	4,37
		37°					3,13	3,23	3,33	3,43	3,54	3,65	3,78	3,91	4,04	4,18	4,33	4,49	4,65
		38°					3,36	3,47	3,57	3,68	3,79	3,91	4,03	4,17	4,31	4,46	4,61	4,77	4,94
		39°					3,59	3,70	3,81	3,93	4,05	4,17	4,30	4,44	4,58	4,74	4,90	5,06	5,23
		40°					3,82	3,94	4,06	4,18	4,31	4,44	4,57	4,71	4,86	5,02	5,19	5,36	5,53

		Titolo alcolometrico apparente a $t^{\circ}\text{C}$																	
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Temperatura	Aggiungere	0°	3,49	4,02	4,56	5,11	5,65	6,16	6,63	7,05	7,39	7,67	7,91	8,07	8,20	8,30	8,36	8,39	8,40
		1°	3,40	3,87	4,36	4,86	5,35	5,82	6,26	6,64	6,96	7,23	7,45	7,62	7,75	7,85	7,91	7,95	7,96
		2°	3,29	3,72	4,17	4,61	5,05	5,49	5,89	6,25	6,55	6,81	7,02	7,18	7,31	7,40	7,47	7,51	7,53
		3°	3,16	3,55	3,95	4,36	4,77	5,17	5,53	5,85	6,14	6,39	6,59	6,74	6,86	6,97	7,03	7,07	7,09
		4°	3,03	3,38	3,75	4,11	4,48	4,84	5,17	5,48	5,74	5,97	6,16	6,31	6,43	6,53	6,59	6,63	6,66
		5°	2,89	3,21	3,54	3,86	4,20	4,52	4,83	5,11	5,35	5,56	5,74	5,89	6,00	6,10	6,16	6,20	6,23
		6°	2,74	3,02	3,32	3,61	3,91	4,21	4,49	4,74	4,96	5,16	5,33	5,47	5,58	5,67	5,73	5,77	5,80
		7°	2,58	2,83	3,10	3,36	3,63	3,90	4,15	4,38	4,58	4,77	4,92	5,05	5,15	5,24	5,30	5,34	5,37
		8°	2,42	2,65	2,88	3,11	3,35	3,59	3,81	4,02	4,21	4,38	4,52	4,64	4,74	4,81	4,87	4,92	4,95
		9°	2,24	2,44	2,65	2,86	3,07	3,28	3,48	3,67	3,84	3,99	4,12	4,23	4,32	4,39	4,45	4,50	4,53
		10°	2,06	2,24	2,43	2,61	2,80	2,98	3,16	3,33	3,48	3,61	3,73	3,83	3,91	3,98	4,03	4,08	4,11
		11°	1,88	2,03	2,20	2,36	2,52	2,68	2,83	2,98	3,12	3,24	3,34	3,43	3,50	3,57	3,62	3,66	3,69
		12°	1,69	1,82	1,96	2,10	2,24	2,38	2,51	2,64	2,76	2,87	2,96	3,04	3,10	3,16	3,21	3,25	3,27
		13°	1,49	1,61	1,73	1,84	1,96	2,08	2,20	2,31	2,41	2,50	2,58	2,65	2,71	2,76	2,80	2,83	2,85
		14°	1,29	1,39	1,49	1,58	1,68	1,78	1,88	1,97	2,06	2,13	2,20	2,26	2,31	2,36	2,39	2,42	2,44
		15°	1,09	1,16	1,24	1,32	1,40	1,48	1,56	1,64	1,71	1,77	1,83	1,88	1,92	1,96	1,98	2,01	2,03
		16°	0,88	0,94	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,36	1,41	1,46	1,50	1,53	1,56	1,58	1,60	1,62
		17°	0,67	0,71	0,75	0,80	0,84	0,89	0,94	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,14	1,17	1,18	1,20	1,21
		18°	0,45	0,48	0,51	0,53	0,56	0,59	0,62	0,65	0,68	0,70	0,72	0,74	0,76	0,78	0,79	0,80	0,81
19°	0,23	0,24	0,25	0,27	0,28	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,40	0,40	0,41		

		Titolo alcolometrico apparente a $t^{\circ}\text{C}$																	
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Temperatura	Sottrarre	21°	0,23	0,25	0,26	0,28	0,29	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,35	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40
		22°	0,47	0,49	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,72	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79	0,80
		23°	0,70	0,74	0,78	0,82	0,86	0,90	0,93	0,97	1,01	1,04	1,07	1,10	1,12	1,15	1,17	1,18	1,19
		24°	0,94	0,99	1,04	1,10	1,15	1,20	1,25	1,29	1,34	1,39	1,43	1,46	1,50	1,53	1,55	1,57	1,59
		25°	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,56	1,62	1,68	1,73	1,78	1,83	1,87	1,90	1,94	1,97	1,99
		26°	1,43	1,50	1,57	1,65	1,73	1,80	1,87	1,94	2,01	2,07	2,13	2,19	2,24	2,28	2,32	2,35	2,38
		27°	1,68	1,76	1,84	1,93	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,41	2,48	2,55	2,61	2,66	2,70	2,74	2,77
		28°	1,93	2,02	2,11	2,21	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,76	2,83	2,90	2,98	3,03	3,08	3,13	3,17
		29°	2,19	2,29	2,39	2,50	2,60	2,70	2,81	2,91	3,00	3,09	3,18	3,26	3,34	3,40	3,46	3,51	3,55
		30°	2,45	2,56	2,67	2,78	2,90	3,01	3,12	3,23	3,34	3,44	3,53	3,62	3,70	3,77	3,84	3,90	3,95
		31°	2,71	2,83	2,94	3,07	3,19	3,31	3,43	3,55	3,67	3,78	3,88	3,98	4,07	4,15	4,22	4,28	4,33
		32°	2,97	3,09	3,22	3,36	3,49	3,62	3,74	3,87	4,00	4,11	4,22	4,33	4,43	4,51	4,59	4,66	4,72
		33°	3,24	3,37	3,51	3,65	3,79	3,92	4,06	4,20	4,33	4,45	4,57	4,68	4,79	4,88	4,97	5,04	5,10
		34°	3,51	3,65	3,79	3,94	4,09	4,23	4,37	4,52	4,66	4,79	4,91	5,03	5,15	5,25	5,34	5,42	5,49
		35°	3,78	3,93	4,08	4,23	4,38	4,53	4,69	4,84	4,98	5,12	5,26	5,38	5,50	5,61	5,71	5,80	5,87
		36°	4,05	4,21	4,37	4,52	4,68	4,84	5,00	5,16	5,31	5,46	5,60	5,73	5,86	5,97	6,08	6,17	6,25
		37°	4,33	4,49	4,65	4,82	4,98	5,15	5,31	5,48	5,64	5,80	5,95	6,09	6,22	6,33	6,44	6,54	6,63
		38°	4,61	4,77	4,94	5,12	5,29	5,46	5,63	5,80	5,97	6,13	6,29	6,43	6,57	6,69	6,81	6,92	7,01
		39°	4,90	5,06	5,23	5,41	5,59	5,77	5,94	6,12	6,30	6,47	6,63	6,78	6,93	7,06	7,18	7,29	7,39
		40°	5,19	5,36	5,53	5,71	5,90	6,08	6,26	6,44	6,62	6,80	6,97	7,13	7,28	7,41	7,54	7,66	7,76

TABELLA IV

Tabella di corrispondenza tra gli indici di rifrazione a 20 °C e i titoli alcolometrici a 20 °C delle miscele idroalcoliche pure e dei distillati

Indice di rifrazione a 20 °C	Titolo alcolometrico a 20 °C				Indice di rifrazione a 20 °C	Titolo alcolometrico a 20 °C			
	Miscele idroalcoliche		Distillato			Miscele idroalcoliche		Distillato	
1,33628	6,54	0,25	6,48	0,26	1,34222	16,76	0,23	16,65	0,23
1,33642	6,79	0,26	6,74	0,26	1,34236	16,99	0,23	16,88	0,24
1,33656	7,05	0,25	7,00	0,26	1,34250	17,22	0,22	17,12	0,22
1,33670	7,30	0,25	7,27	0,27	1,34264	17,44	0,22	17,34	0,22
1,33685	7,58	0,28	7,54	0,27	1,34278	17,68	0,24	17,56	0,22
1,33699	7,83	0,25	7,79	0,25	1,34291	17,89	0,21	17,78	0,22
1,33713	8,09	0,26	8,05	0,26	1,34305	18,12	0,23	18,01	0,23
1,33727	8,34	0,25	8,30	0,25	1,34319	18,36	0,24	18,23	0,22
1,33742	8,62	0,28	8,56	0,26	1,34333	18,59	0,23	18,46	0,23
1,33756	8,87	0,25	8,81	0,25	1,34347	18,82	0,23	18,70	0,24
1,33770	9,12	0,25	9,06	0,25	1,34361	19,05	0,23	18,92	0,22
1,33784	9,36	0,24	9,30	0,24	1,34375	19,28	0,23	19,17	0,25
1,33799	9,63	0,27	9,55	0,25	1,34389	19,51	0,23	19,40	0,23
1,33813	9,87	0,24	9,81	0,26	1,34399	19,75	0,24	19,62	0,22
1,33827	10,12	0,25	10,05	0,24	1,34403	19,75	0,23	19,62	0,24
1,33841	10,35	0,23	10,29	0,24	1,34417	19,98	0,23	19,86	0,23
1,33856	10,61	0,26	10,54	0,25	1,34431	20,22	0,24	20,09	0,23
1,33870	10,86	0,25	10,78	0,24	1,34445	20,44	0,22	20,33	0,24
1,33884	11,10	0,24	11,02	0,24	1,34458	20,65	0,21	20,54	0,21
1,33898	11,33	0,23	11,26	0,24	1,34472	20,89	0,24	20,76	0,22
1,33912	11,47	0,24	11,50	0,24	1,34486	21,11	0,22	20,99	0,23
1,33926	11,81	0,24	11,74	0,24	1,34500	21,34	0,23	21,21	0,22
1,33940	12,05	0,24	11,98	0,24	1,34513	21,55	0,21	21,44	0,23
1,33955	12,30	0,25	12,22	0,24	1,34527	21,78	0,23	21,65	0,21
1,33969	12,53	0,23	12,46	0,24	1,34541	22,00	0,22	21,87	0,22
1,33983	12,76	0,23	12,69	0,23	1,34555	22,23	0,23	22,10	0,23
1,33997	13,00	0,24	12,92	0,23	1,34568	22,44	0,21	22,31	0,21
1,34011	13,23	0,23	13,15	0,23	1,34582	22,67	0,23	22,54	0,23
1,34025	13,47	0,24	13,40	0,23	1,34596	22,90	0,23	22,75	0,21
1,34039	13,70	0,23	13,62	0,25	1,34610	23,13	0,23	22,96	0,21
1,34053	13,93	0,23	13,86	0,22	1,34623	23,33	0,20	23,17	0,21
1,34067	14,16	0,23	14,09	0,24	1,34637	23,57	0,24	23,40	0,23
1,34081	14,41	0,25	14,32	0,23	1,34651	23,81	0,24	23,61	0,21
1,34096	14,66	0,25	14,57	0,23	1,34665	24,04	0,23	23,85	0,24
1,34110	14,89	0,23	14,81	0,22	1,34678	24,26	0,22	24,09	0,24
1,34124	15,13	0,24	15,06	0,22	1,34692	24,48	0,22	24,31	0,22
1,34138	15,36	0,23	15,28	0,25	1,34692	24,48	0,24	24,31	0,25
1,34152	15,59	0,23	15,50	0,22	1,34706	24,72	0,23	24,56	0,22
1,34166	15,83	0,24	15,74	0,22	1,34720	24,95	0,23	24,78	0,22
1,34180	16,06	0,23	15,96	0,21	1,34733	25,16	0,21	25,00	0,22
1,34194	16,29	0,24	16,19	0,24	1,34747	25,40	0,24	25,23	0,23
1,34208	16,52	0,23	16,41	0,22	1,34760	25,62	0,22	25,45	0,22
		0,24		0,24	1,34774	25,86	0,24	25,70	0,25
					1,34788	26,10	0,24	25,93	0,23
							0,22		0,22

4. ESTRATTO SECCO TOTALE

Sostanze secche totali

1. DEFINIZIONE

L'estratto secco totale o sostanze secche totali è costituito dall'insieme di tutte le sostanze che, in condizioni fisiche determinate, non volatilizzano. Queste condizioni fisiche debbono essere fissate in modo tale che le sostanze componenti tale estratto subiscano il minimo di alterazione possibile.

L'estratto non riduttore è l'estratto secco totale dal quale sono stati detratti gli zuccheri totali.

L'estratto ridotto è l'estratto secco dal quale sono stati detratti gli zuccheri totali eccedenti 1 g/l, il solfato di potassio eccedente 1 g/l, il mannitolo, se presente, e tutte le sostanze chimiche eventualmente aggiunte al vino.

Il resto di estratto è l'estratto non riduttore dal quale è stata detratta l'acidità fissa, espressa in acido tartarico.

L'estratto è espresso in grammi per litro e dev'essere determinato con l'approssimazione di 0,5 g.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Metodo unico: metodo densimetrico.

L'estratto secco totale è calcolato indirettamente in base al valore della densità del mosto e, nel caso del vino, in base alla densità del vino dealcolizzato.

Questo estratto secco è espresso dalla quantità di saccarosio che, disciolta in una quantità d'acqua sufficiente ad avere un litro, dà una soluzione avente la stessa densità del mosto o del vino dealcolizzato. Questa quantità è fornita dalla tabella I.

3. MODO DI OPERARE

La densità relativa d_{20}^{20} del «vino dealcolizzato» (d_r) è calcolata con la formula:

$$d_r = d_v - d_a + 1,000$$

dove d_v = densità relativa del vino a 20 °C (corretta per l'acidità volatile) ⁽¹⁾

d_a = densità relativa a 20 °C della miscela idroalcolica avente lo stesso titolo alcolometrico del vino

Il valore di d_r può anche essere calcolato in base alle masse volumiche a 20 °C, ρ_v del vino e ρ_a della miscela idroalcolica allo stesso titolo alcolometrico, mediante la formula:

$$d_r = 1,0018 (\rho_v - \rho_a) + 1,000$$

dove il coefficiente 1,0018 può praticamente essere assimilato ad 1 allorché ρ_v è inferiore ad 1,05, come avviene nella maggioranza dei casi.

4. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Riportare la densità $d_{r,20}^{20}$ del vino dealcolizzato o la densità d_{20}^{20} del mosto nella tabella I per ricavare il peso dell'estratto secco totale in grammi per litro.

Il peso dell'estratto secco totale è espresso in g/l con una cifra decimale.

⁽¹⁾ Prima di effettuare questo calcolo, la densità relativa (o la massa volumica) del vino, misurata nel modo sopra indicato, dev'essere corretta dall'azione dell'acidità volatile secondo la formula:

$$d_v = d_{20}^{20} - 0,0000086 a \text{ oppure } \rho_v = \rho_{20} - 0,0000086 a$$

nella quale a rappresenta la quantità di acidità volatile espressa in milliequivalenti per litro.

TABELLA I
per il calcolo del tenore in estratto secco totale (grammi per litro)

Densità relativa con 2 cifre decimali	Terza cifra decimale della densità relativa									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Grammi di estratto per litro									
1,00	0	2,6	5,1	7,7	10,3	12,9	15,4	18,0	20,6	23,2
1,01	25,8	28,4	31,0	33,6	36,2	38,8	41,3	43,9	46,5	49,1
1,02	51,7	54,3	56,9	59,5	62,1	64,7	67,3	69,9	72,5	75,1
1,03	77,7	80,3	82,9	85,5	88,1	90,7	93,3	95,9	98,5	101,1
1,04	103,7	106,3	109,0	111,6	114,2	116,8	119,4	122,0	124,6	127,2
1,05	129,8	132,4	135,0	137,6	140,3	142,9	145,5	148,1	150,7	153,3
1,06	155,9	158,6	161,2	163,8	166,4	169,0	171,6	174,3	176,9	179,5
1,07	182,1	184,8	187,4	190,0	192,6	195,2	197,8	200,5	203,1	205,8
1,08	208,4	211,0	213,6	216,2	218,9	221,5	224,1	226,8	229,4	232,0
1,09	234,7	237,3	239,9	242,5	245,2	247,8	250,4	253,1	255,7	258,4
1,10	261,0	263,6	266,3	268,9	271,5	274,2	276,8	279,5	282,1	284,8
1,11	287,4	290,0	292,7	295,3	298,0	300,6	303,3	305,9	308,6	311,2
1,12	313,9	316,5	319,2	321,8	324,5	327,1	329,8	332,4	335,1	337,8
1,13	340,4	343,0	345,7	348,3	351,0	353,7	356,3	359,0	361,6	364,3
1,14	366,9	369,6	372,3	375,0	377,6	380,3	382,9	385,6	388,3	390,9
1,15	393,6	396,2	398,9	401,6	404,3	406,9	409,6	412,3	415,0	417,6
1,16	420,3	423,0	425,7	428,3	431,0	433,7	436,4	439,0	441,7	444,4
1,17	447,1	449,8	452,4	455,2	457,8	460,5	463,2	465,9	468,6	471,3
1,18	473,9	476,6	479,3	482,0	484,7	487,4	490,1	492,8	495,5	498,2
1,19	500,9	503,5	506,2	508,9	511,6	514,3	517,0	519,7	522,4	525,1
1,20	527,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabella di interpolazione

Quarta cifra decimale della densità relativa	grammi di estratto per litro	Quarta cifra decimale della densità relativa	grammi di estratto per litro	Quarta cifra decimale della densità relativa	grammi di estratto per litro
1	0,3	4	1,0	7	1,8
2	0,5	5	1,3	8	2,1
3	0,8	6	1,6	9	2,3

5. ZUCCHERI RIDUTTORI

1. DEFINIZIONE

Gli zuccheri riduttori sono costituiti dall'insieme degli zuccheri a funzione chetonica o aldeidica dosati in base alla loro azione riducente sulla soluzione cupro-alcalina.

2. PRINCIPIO DEI METODI

2.1. Defecazione

2.1.1. Metodo di riferimento: passaggio del vino neutralizzato e dealcolizzato su una colonna scambiatrice di anioni sotto forma di acetato, dove i suoi anioni vengono scambiati con ioni acetici, e successiva defecazione con acetato neutro di piombo.

2.1.2. Metodi usuali: il vino viene trattato con uno dei seguenti reattivi:

2.1.2.1. Acetato neutro di piombo

2.1.2.2. Ferrocianuro II di zinco

2.2. Dosaggio

2.2.1. Metodo unico: dopo aver fatto reagire il vino o il mosto defecati con una quantità determinata di soluzione cupro-alcalina, l'eccesso di ioni rameici viene dosato per iodometria.

3. DEFECAZIONE

Il liquido nel quale vanno dosati gli zuccheri deve avere un contenuto in zuccheri compreso tra 0,5 e 5 g/l.

Se il vino è secco, bisogna evitare di diluirlo durante la defecazione; se è dolce, esso va diluito nel corso della defecazione, in modo da portare il contenuto in zuccheri entro i limiti indicati secondo la tabella seguente.

Denominazione	Contenuto in zuccheri, in grammi per litro, compreso fra	Massa volumica compresa fra	Diluizione da prevedere (%)
Mosti e mistelle	> 125	> 1,038	1
Vini dolci, alcolizzati o meno	25 e 125	1,005 e 1,038	4
Vini amabili	5 e 25	0,997 e 1,005	20
Vini secchi	< 5	< 0,997	nessuna diluizione

3.1. Metodo di riferimento

3.1.1. Reattivi

3.1.1.1. Soluzione di acido cloridrico (HCl), 1 M

3.1.1.2. Soluzione di idrossido di sodio (NaOH), 1 M

3.1.1.3. Soluzione di acido acetico (CH₃COOH), 4 M

3.1.1.4. Soluzione di idrossido di sodio (NaOH), 2 M

3.1.1.5. Resina scambiatrice di anioni [tipo Dowex 3 (20–50 mesh) o resina equivalente] preparata nel modo seguente:

In fondo ad una buretta collocare un piccolo tampone di lana di vetro e 15 ml di resina scambiatrice di anioni (3.1.1.5).

Al momento della messa in funzione, sottoporre la resina a 2 cicli completi di rigenerazione con passaggi alternati di soluzioni M di acido cloridrico (3.1.1.1) e di idrossido di sodio (3.1.1.2). Dopo il lavaggio con 50 ml di acqua distillata, travasare la resina in un becher, aggiungere 50 ml di una soluzione 4 M di acido acetico (3.1.1.3) ed agitare per 5 minuti. Riempire nuovamente la buretta e far passare attraverso la colonna 100 ml di soluzione di acido acetico 4 M (3.1.1.3) (è preferibile disporre di una riserva di resina conservata in un recipiente riempito con la soluzione 4 M di acido acetico). Lavare la colonna con acqua distillata sino a neutralità dell'effluente.

Rigenerazione della resina. Far passare 150 ml di una soluzione 2 M di idrossido di sodio per eliminare gli acidi e gran parte delle sostanze coloranti fissate sulla resina. Lavare con 100 ml d'acqua. Far passare 100 ml di soluzione 4 M di acido acetico. Lavare la colonna sino a neutralità dell'effluente.

3.1.1.6. Soluzione di acetato neutro di piombo (approssimativamente satura):

Acetato neutro di piombo $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	250 g
Acqua molto calda q.b.a:	500 ml

Agitare sino a dissoluzione.

3.1.1.7. Carbonato di calcio, $CaCO_3$.

3.1.2. *Modo di operare*

3.1.2.1. Vini secchi

Introdurre 50 ml di vino in un recipiente cilindrico del diametro di 10-12 cm circa ed aggiungere $\frac{1}{2}$ (n - 0,5) ml di una soluzione M di idrossido di sodio (3.1.1.2) (dove n è il volume di una soluzione 0,1 M di idrossido di sodio impiegato per il dosaggio dell'acidità totale su 10 ml di vino); evaporare su bagnomaria bollente con l'aiuto di un getto di aria calda sino a ridurre la quantità di liquido a circa 20 ml.

Fare defluire 3 ml di tale liquido ogni 2 minuti attraverso la colonna scambiatrice di anioni in forma di acetato (3.1.1.5). Raccogliere l'effluente in un matraccio tarato da 100 ml. Lavare sei volte il recipiente e la colonna con 10 ml di acqua distillata, aggiungere agitando 2,5 ml di soluzione satura di acetato di piombo (3.1.1.6) e 0,5 g di carbonato di calcio (3.1.1.7); agitare a più riprese e lasciare riposare almeno 15 minuti; portare a volume con acqua. Filtrare.

1 ml di questo filtrato corrisponde a 0,5 ml di vino.

3.1.2.2. Mosti, mistelle, vini dolci e vini amabili

Si riportano a titolo indicativo alcune diluizioni.

1. *Mosti e mistelle*

Diluire al 10 % il liquido da analizzare e prelevare 10 ml di tale diluizione.

2. *Vini dolci, alcolizzati o meno*, di massa volumica compresa tra 1,005 e 1,038. Prelevare 20 ml di liquido da analizzare previamente diluito al 20 %.

3. *Vini amabili*, di massa volumica compresa tra 0,997 e 1,005. Prelevare 20 ml di vino non diluito.

Fare defluire il volume di vino o di mosto sopra indicato attraverso la colonna scambiatrice di anioni sotto forma di acetato nella misura di 3 ml ogni due minuti. Raccogliere l'effluente in un pallone tarato da 100 ml, lavare la colonna con acqua fino ad ottenere 90 ml circa di effluente. Aggiungere 0,5 g di carbonato di calcio, 1 ml di una soluzione satura di acetato di piombo; agitare e lasciare riposare per almeno 15 minuti agitando di tanto in tanto; portare a volume con acqua. Filtrare.

In questi casi:

- 1) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,01 ml di mosto o di mistella,
- 2) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,04 ml di vino dolce,
- 3) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,20 ml di vino amabile.

3.2. **Metodi usuali**3.2.1. *Defecazione con acetato neutro di piombo*

3.2.1.1. Reattivi

Soluzione di acetato neutro di piombo (approssimativamente satura) (vedi 3.1.1.6)

Carbonato di calcio

3.2.1.2. **Modo di operare**3.2.1.2.1. *Vini secchi*

Introdurre 50 ml di vino in un pallone tarato da 100 ml; aggiungere $\frac{1}{2}$ (n - 0,5) ml di soluzione M di idrossido di sodio (3.1.1.2), dove n è il volume di soluzione 0,1 M utilizzato per dosare l'acidità totale di 10 ml di vino. Aggiungere agitando 2,5 ml di soluzione satura di acetato di piombo (3.1.1.6) e 0,5 g di carbonato di calcio (3.1.1.7); agitare a più riprese e lasciare riposare per almeno 15 minuti; portare a volume con acqua. Filtrare.

1 ml di filtrato corrisponde a 0,5 ml di vino.

3.2.1.2.2. *Mosti, mistelle, vini dolci e vini amabili*

In un pallone tarato da 100 ml, introdurre un volume di vino o di mosto o di mistella definito come segue (le diluizioni sono riportate a titolo indicativo):

1. *Mosti e mistelle.*

Diluire al 10 % il liquido da analizzare; prelevare 10 ml di tale diluizione.

2. *Vini dolci, alcolizzati o meno, di massa volumica compresa tra 1,005 e 1,038. Prelevare 20 ml del liquido da analizzare, previamente diluito al 20 %.*3. *Vini amabili, di massa volumica compresa fra 0,997 e 1,005. Prelevare 20 ml di vino non diluito.*

Aggiungere 0,5 g di carbonato di calcio, circa 60 ml di acqua e 0,5 oppure 1 o 2 ml di soluzione satura di acetato di piombo; agitare e lasciare riposare per almeno 15 minuti agitando di tanto in tanto. Portare a volume con acqua. Filtrare.

In questi casi:

- 1) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,01 ml di mosto o di mistella,
- 2) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,004 ml di vino dolce,
- 3) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,20 ml di vino pastoso.

3.2.2. *Defecazione con ferrocianuro di zinco*

Questo procedimento di defecazione dovrà essere utilizzato soltanto per i vini bianchi, i vini dolci poco colorati e i mosti.

3.2.2.1. Reattivi

3.2.2.1.1. *Soluzione I di ferrocianuro (II) di potassio:*

ferrocianuro di potassio [$K_4 Fe (CN)_6 \cdot 3 H_2O$]:	150 g
Acqua q. b. a:	1 000 ml

3.2.2.1.2. *Soluzione II di solfato di zinco:*

solfo di zinco ($Zn SO_4 \cdot 7 H_2O$):	300 g
acqua q. b. a:	1 000 ml

3.2.2.2. Modo di operare

Introdurre in un pallone tarato da 100 ml un volume di vino (o di mosto o di mistella) definito come segue, le diluizioni vengono date a titolo indicativo:

1) *Mosti e mistelle.*

Diluire al 10 % il liquido da analizzare, prelevare 10 ml di tale diluizione.

2) *Vini dolci, alcolizzati o meno*, la cui massa volumica è compresa fra 1,005 e 1,038. Prelevare 20 ml di liquido da analizzare previamente diluito al 20 %.3) *Vini amabili*, la cui massa volumica è compresa fra 0,997 e 1,005. Prelevare 20 ml di vino non diluito.4) *Vini secchi*, prelevare 50 ml di vino non diluito

Aggiungere 5 ml di soluzione I di ferrocianuro di potassio (3.2.2.1.1) e 5 ml di soluzione II di solfato di zinco (3.2.2.1.2). Mescolare. Portare a volume con acqua. Attendere 10 minuti e filtrare.

In questi casi:

1) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,01 ml di mosto o di mistella,

2) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,004 ml di vino dolce,

3) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,20 ml di vino amabile,

4) 1 ml di filtrato corrisponde a 0,50 ml di vino secco.

4. DOSAGGIO

4.1. Reattivi

4.1.1. *Soluzione cupro-alcalina:*

Solfato di rame puro ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$):	25 g
Acido citrico ($\text{C}_6 \text{H}_8 \text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$):	50 g
Carbonato di sodio cristallizzato ($\text{Na}_2 \text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$):	388 g
Acqua q.b. a:	1 000 ml

Sciogliere il solfato di rame in 100 ml di acqua, l'acido citrico in 300 ml di acqua e il carbonato di sodio in 300-400 ml di acqua calda. Mescolare la soluzione di acido citrico e la soluzione di carbonato di sodio. Aggiungere quindi la soluzione di solfato di rame e portare a 1 l.

4.1.2. *Soluzione di ioduro di potassio al 30 %:*

ioduro di potassio (KI):	30 g
acqua q.b. a:	100 ml

Conservare in bottiglia di vetro scuro.

4.1.3. *Acido solforico al 25 %:*

Acido solforico (H_2SO_4) $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$:	25 g
acqua q.b. a:	100 ml

Versare l'acido nell'acqua, lasciare raffreddare e portare a 100 ml.

4.1.4. *Salda d'amido a 5 g/l:*

Disperdere 5 g di amido in circa 500 ml di acqua. Portare a ebollizione agitando e mantenere l'ebollizione per 10 minuti; aggiungere 200 g di cloruro di sodio (NaCl) e, dopo il raffreddamento, portare a 1 l.

— Tiosolfato di sodio, soluzione 0,1 M

— Soluzione di zucchero invertito di 5 g/l:
soluzione da utilizzare per verificare la tecnica di dosaggio.

In un pallone tarato da 200 ml introdurre:

saccarosio ($C_{12}H_{22}O_{11}$):	4,75 g
acqua, circa:	100 ml
acido cloridrico (HCl) ($p_{20} = 1,16 - 1,19$ g/ml):	5 ml

Immergere il pallone in bagnomaria a 60 °C per il tempo sufficiente affinché la soluzione raggiunga la temperatura di 50 °C, da mantenere per 15 minuti. Lasciare quindi raffreddare il pallone spontaneamente per 30 minuti immergendolo poi in un bagno di acqua fredda. Travasare quindi in un pallone tarato da 1 l e portare a volume; questa soluzione si mantiene per un mese. Al momento dell'impiego neutralizzare la quantità prelevata (tale soluzione è approssimativamente 0,06 M acida), con una soluzione di idrossido di sodio.

4.2. Modo di operare

In un pallone da 300 ml, introdurre 25 ml di soluzione cupro-alcalina, 15 ml di acqua e 10 ml di soluzione defecante. Questo volume di soluzione zuccherina non deve contenere più di 60 mg di zucchero invertito.

Aggiungere alcuni granuli di pietra pomice. Adattare al pallone un refrigerante a ricadere e portare ad ebollizione entro 2 minuti. Mantenere l'ebollizione per 10 minuti esatti.

Raffreddare immediatamente in corrente d'acqua fredda. Completato il raffreddamento aggiungere 10 ml di soluzione di ioduro di potassio al 30 % (4.1.2), 25 ml di acido solforico al 25 % (4.1.3) e 2 ml di salda d'amido (4.1.4).

Titolare con la soluzione 0,1 M di tiosolfato di sodio (4.1.5). Sia n il numero di millilitri utilizzati.

Effettuare a parte una prova in bianco, sostituendo i 25 ml di soluzione zuccherina con 25 ml di acqua distillata. Sia n' il volume di tiosolfato impiegato.

4.3. Espressione dei risultati

4.3.1. Calcoli

La quantità di zucchero del rino, espressa in zucchero invertito, contenuta nel campione in esame, è riportata nella tabella seguente in funzione del numero ($n' - n$) di millilitri di tiosolfato utilizzati.

Esprimere il tenore di zucchero in grammi di zucchero invertito per litro con una cifra decimale, tenendo conto delle diluizioni effettuate nel corso della defecazione e del volume del campione.

4.3.2. Ripetibilità

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = concentrazione di zucchero invertito in g/l del campione

4.3.3. Riproducibilità

$$R = 0,058 x_i$$

x_i = concentrazione di zucchero invertito in g/l del campione

Tabella di corrispondenza tra il volume di soluzione 0,1 M di tiosolfato di sodio = (n' - n) ml e la quantità di zuccheri riduttori in mg					
Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Zuccheri riduttori (mg)	Diff.	Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Zuccheri riduttori (mg)	Diff.
1	2,4	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,6	18	47,2	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	
12	30,3	2,7			

6. SACCAROSIO

1. PRINCIPIO DEI METODI

- I. Metodo di ricerca qualitativa per cromatografia su strato sottile. Il saccarosio è separato dagli altri zuccheri per cromatografia su strato sottile di cellulosa e rivelato per mezzo del reattivo urea-acido cloridrico in stufa a 105 °C.
- II. Metodo di ricerca e di dosaggio per cromatografia liquida ad alta risoluzione. Il saccarosio viene separato su colonna di silice addizionata di alchilammina e rivelato per rifrattometria. Il dosaggio viene effettuato rispetto ad uno standard esterno analizzato nelle stesse condizioni.

Osservazione:

La genuinità di un mosto o di un vino può essere controllata con il metodo della RMN del deuterio descritta per la rivelazione dello zuccheraggio dei mosti, dei mosti concentrati, dei mosti concentrati rettificati e dei vini.

Per la ricerca ed il dosaggio del saccarosio può essere impiegato il metodo gascromatografico descritto nel capitolo 42, lettera f).

2. METODO DI RICERCA QUALITATIVA PER CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE

2.1. Materiale

- 2.1.1. *Lastre per cromatografia ricoperte di uno strato sottile di cellulosa.*
- 2.1.2. *Vasca cromatografica*
- 2.1.3. *Siringa micrometrica o micropipetta*
- 2.1.4. *Stufa termostabile a 105 ± 2 °C*

2.2. Reattivi

- 2.2.1. *Carbone decolorante*
- 2.2.2. *Fase mobile: cloruro di metilene – acido acetico (d₂₀° – 1,05 g/ml) – etanolo – metanolo – acqua (50 : 25 : 9 : 6 : 10)*
- 2.2.3. *Rivelatore*
- | | |
|-----------------------|--------|
| Urea: | 5 g |
| Acido cloridrico 2 M: | 20 ml |
| Etanolo: | 100 ml |

2.2.4. *Soluzione di riferimento*

Glucosio:	35 g
Fruttosio:	35 g
Saccarosio:	0,5 g
Acqua q.b. a:	1 000 ml

2.3. Modo di operare

2.3.1. *Preparazione del campione*

Se il mosto o il vino è fortemente colorato, decolorarlo trattandolo con carbone attivo.

Nel caso di mosto concentrato rettificato, usare la soluzione avente un tenore zuccherino del 25 % (m/m) (25° Brix) preparata come indicato al capitolo «Determinazione del pH» al punto 4.1.2 e diluirla a un quarto portando da 25 ml a 100 ml con acqua in pallone tarato.

2.3.2. Cromatogramma

A 2,5 cm dal bordo inferiore della lastra cromatografica deporre:

- 10 µl del campione;
- 10 µl della soluzione di riferimento.

Porre la lastra nella vasca per cromatografia satura dei vapori della fase mobile e lasciar migrare il solvente fino ad un centimetro dal bordo superiore. Togliere la lastra e asciugarla in corrente di aria calda. Ripetere due volte la migrazione asciugando ogni volta la lastra. Polverizzare uniformemente sulla lastra 15 ml del rivelatore e porla in stufa a 105 °C per 5 minuti.

2.4. Risultati

Il saccarosio ed il fruttosio danno macchie di colore blu intenso su fondo bianco; il glucosio dà una macchia verdastra meno intensa.

3. METODO DI RICERCA E DI DETERMINAZIONE PER CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ALTA RISOLUZIONE

Le condizioni cromatografiche sono date a titolo indicativo.

3.1. Apparecchiatura**3.1.1. Cromatografo in fase liquida ad alta risoluzione corredato di:**

- 1) un iniettore (loop) da 10 µl,
- 2) un rivelatore, rifrattometro differenziale o rifrattometro interferometro,
- 3) una colonna di silice con alchilammina legata (lunghezza 250 mm e diametro interno 4 mm),
- 4) una precolonna riempita con la stessa fase,
- 5) un dispositivo per isolare o termostatare (30 °C) l'insieme precolonna-colonna,
- 6) un registratore ed eventualmente un integratore,
- 7) flusso della fase mobile: 1 ml/minuto.

3.1.2. Dispositivo di filtrazione su membrana (0,45 µm)**3.2. Reattivi****3.2.1. Acqua bidistillata****3.2.2. Acetonitrile (CH₃ CN) di qualità HPLC****3.2.3. Fase mobile: acetonitrile-acqua, previamente filtrati su membrana (0,45 µm), (80 – 20 v/v)**

Detta fase mobile deve essere degassificata prima dell'uso.

3.2.4. Soluzione di riferimento: soluzione acquosa di saccarosio di 1,2 g/l. Filtrarla su membrana (0,45 µm).

3.3. **Modo di operare**

3.3.1. *Preparazione del campione*

- Per i vini e i mosti, filtrare su membrana (0,45 µm).
- Per i mosti concentrati rettificati, utilizzare la soluzione che si ottiene diluendo il mosto concentrato rettificato al 40 % m/v come indicato al capitolo «acidità totale» (5.1.2) e filtrarla su membrana (0,45 µm).

3.3.2. *Determinazione cromatografica*

Iniettare in fasi successive nel cromatografo 10 µl della soluzione di riferimento e 10 µl del campione preparato come indicato al punto 3.3.1.

Ripetere le iniezioni nello stesso ordine.

Registrare il cromatogramma.

Il tempo di ritenzione del saccarosio è di circa 10 minuti.

3.4. **Calcoli**

Utilizzare per il calcolo la media delle due risposte ottenute per la soluzione di riferimento e per il campione.

3.4.1. *Per i vini e i mosti*

Calcolare il tenore in g/l.

3.4.2. *Per i mosti concentrati ed i mosti concentrati rettificati*

Sia $C = \text{g/l}$ il tenore in saccarosio della soluzione del mosto concentrato rettificato al 40 % (m/v).

Tenore zuccherino in grammi per chilogrammo di mosto concentrato rettificato: $2,5 \cdot C$

3.5. **Espressione dei risultati**

Il tenore in saccarosio si esprime con una cifra decimale in g/l nel caso dei vini, dei mosti e dei mosti concentrati rettificati nel caso dei mosti concentrati rettificati, in g/kg.

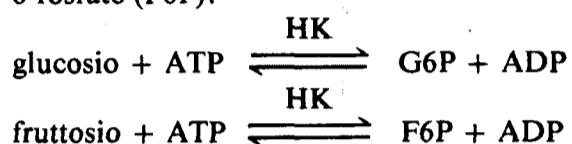
7. GLUCOSIO E FRUTTOSIO

1. DEFINIZIONE

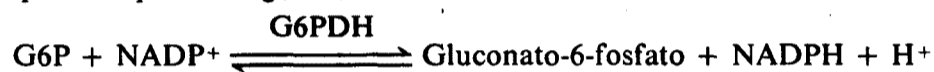
Il glucosio ed il fruttosio possono essere determinati singolarmente con un metodo enzimatico, al solo scopo di calcolare il rapporto glucosio/fruttosio.

2. PRINCIPIO

Il glucosio e il fruttosio sono fosforilati con adenosina-trifosfato (ATP) con una reazione enzimatica catalizzata dall'esochinasi (HK) e danno glucosio-6-fosfato (G6P) e fruttosio-6-fosfato (F6P):

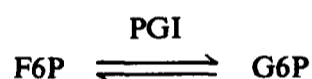


In un primo tempo il glucosio-6-fosfato viene ossidato a gluconato-6-fosfato dal nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato (NADP) in presenza dell'enzima glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G6PDH). La quantità di nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato ridotto (NADPH) che si forma corrisponde alla quantità di glucosio-6-fosfato e quindi a quella del glucosio.



Il nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato ridotto si dosa per assorbimento a 340 nm.

Al termine di questa reazione, il fruttosio-6-fosfato viene trasformato dall'azione della fosfoglucoisomerasi (PGI) in glucosio-6-fosfato



Il glucosio-6-fosfato reagisce di nuovo con il nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato per dare gluconato-6-fosfato e nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato ridotto; questo viene quindi dosato.

3. APPARECCHIATURA

— Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni a 340 nm, valore massimo di assorbimento del NADPH. Trattandosi di misure assolute (senza curva di taratura, ma con riferimento al coefficiente di estinzione del NADPH) le scale delle lunghezze d'onda e delle assorbanze dell'apparecchio devono essere controllate.

In mancanza di quest'apparecchiatura, utilizzare uno spettrofotometro a spettro discontinuo che consenta di effettuare le misure a 334 nm o a 365 nm.

— Celle di vetro avente un cammino ottico di 1 cm o celle monouso.

— Pipette per prova enzimatica da 0,02- 0,05- 0,01- 0,2 ml.

4. REATTIVI

4.1. **Soluzione 1:** tampone (trietanolammina 0,3 M; pH = 7,6; $4 \cdot 10^{-3}$ M in Mg^{++}) sciogliere 11,2 g di cloridrato di trietanolammina ($\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N} \cdot \text{HCl}$) e 0,2 g di $\text{Mg SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ in 150 ml di acqua bidistillata, aggiungere circa 4 ml di soluzione 5 M di idrossido di sodio (NaOH) per ottenere un pH uguale a 7,6 e portare a 200 ml.

Questa soluzione tampone può essere conservata a + 4 °C per quattro settimane.

4.2. **Soluzione 2:** soluzione di nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato (circa $11,5 \cdot 10^{-3}$ M): sciogliere 50 mg di nicotinammide-adenina-dinucleotide-fosfato bisodico in 5 ml di acqua bidistillata.

La soluzione si conserva a + 4 °C per quattro settimane.

- 4.3. **Soluzione 3:** soluzione di adenosina-5'-trifosfato (circa $81 \cdot 10^{-3}M$): sciogliere 250 mg di adenosina-5'-trifosfato disodico e 250 mg di bicarbonato di sodio $NaHCO_3$ in 5 ml di acqua bidistillata.

Questa soluzione si mantiene a + 4 °C per quattro settimane.

- 4.4. **Soluzione 4:** Esochinasi/glucosio-6-fosfato-deidrogenasi: miscelare 0,5 ml di esochinasi (2 mg di proteina/ml, cioè 280 U/ml) e 0,5 ml di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (1 mg di proteina per ml).

A + 4 °C la soluzione si conserva per un anno.

- 4.5. **Soluzione 5:** fosfoglucosio-isomerasi (2 mg di proteina per ml, cioè 700 U/ml). La sospensione viene utilizzata senza diluizione.

A + 4 °C circa la soluzione si conserva per un anno.

Nota:

l'insieme dei reattivi per il dosaggio si trova pronto in commercio.

5. MODO DI OPERARE

5.1. Preparazione del campione

Effettuare le seguenti diluizioni in funzione della quantità presunta di glucosio + fruttosio per litro:

Misura a 340 e 334 nm	365 nm	Diluizione con acqua	Fattore F di diluizione
fino a 0,4 g/l	0,8 g/l	—	—
fino a 4,0 g/l	8,0 g/l	1 + 9	10
fino a 10,0 g/l	20,0 g/l	1 + 24	25
fino a 20,0 g/l	40,0 g/l	1 + 49	50
fino a 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 99	100
al di sopra di 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1 000

5.2. Dosaggio

Regolato lo spettrofotometro sulla lunghezza d'onda di 340 nm, effettuare le misure rispetto all'aria (senza la cella sul percorso ottico) o rispetto all'acqua.

Temperatura 20—25 °C.

In 2 celle aventi un cammino ottico di 1 cm, introdurre:

	Prova in bianco	Campione
Soluzione 1 (4.1) (portata a 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Soluzione 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Soluzione 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Campione da determinare		0,20 ml
Acqua bidistillata	0,20 ml	

Mescolare e dopo circa 3 minuti leggere l'assorbanza delle soluzioni (A_1). Provocare la reazione aggiungendo:

Soluzione 4 (4.4)	0,02 ml	0,02 ml
-------------------	---------	---------

Mescolare; aspettare 15 minuti; effettuare la misura dell'assorbanza e verificare dopo 2 minuti che la reazione sia terminata (A_2).

Aggiungere immediatamente:

Soluzione 5 (4.5)	0,02 ml	0,02 ml
-------------------	---------	---------

Mescolare; effettuare la lettura dopo 10 minuti; verificare l'arresto della reazione dopo 2 minuti (A_3).

Determinare le differenze di assorbanza:

$A_2 - A_1$ che corrisponde al glucosio,

$A_3 - A_2$ che corrisponde al fruttosio,

per la prova in bianco e per il campione.

Determinare la differenza di assorbanza tra la prova in bianco (ΔA_T) ed il campione (ΔA_D) e fissare:

per il glucosio: $\Delta A_G = \Delta A_C - \Delta A_B$

per il fruttosio: $\Delta A_F = \Delta A_C - \Delta A_B$

Osservazione:

il tempo necessario per l'azione degli enzimi può variare da un lotto all'altro. Qui sopra è riportato soltanto a titolo indicativo. Si raccomanda di determinarlo per ciascun lotto.

5.3. Espressione dei risultati

5.3.1. Calcolo

La formula generale per il calcolo delle concentrazioni è la seguente:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \Delta A \text{ (g/l)}$$

V = volume della soluzione impiegata per la prova (ml)

v = volume del campione (ml)

PM = massa molecolare della sostanza da dosare

d = cammino ottico della cella (cm)

ϵ = coefficiente di assorbimento dell'NADPH a 340 nm = $6,3 \text{ (m mole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$

V = 2,92 ml per la determinazione del glucosio

V = 2,94 ml per la determinazione del fruttosio

v = 0,20 ml

PM = 180

d = 1

Si ottiene:

Per il glucosio: $C_{g/l} = 0,417 \cdot \Delta A_G$

Per il fruttosio: $C_{g/l} = 0,420 \cdot \Delta A_F$

Se per preparare il campione, è stata effettuata una diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore F.

Osservazione:

Per misure effettuate alle lunghezze d'onda 334 o 365 nm si ottiene:

— misura a 334 nm: $\epsilon = 6,2 \text{ (m mole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$

per il glucosio: $C_{g/l} = 0,425 \cdot \Delta A_G$

per il fruttosio: $C_{g/l} = 0,428 \cdot \Delta A_F$

— misura a 365 nm: $\epsilon = 3,4 \text{ (m mole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$

per il glucosio: $C_{g/l} = 0,773 \cdot \Delta A_G$

per il fruttosio: $C_{g/l} = 0,778 \cdot \Delta A_F$

5.3.2. Ripetibilità (r)

$$r = 0,056 x_i$$

5.3.3. Riproducibilità (R)

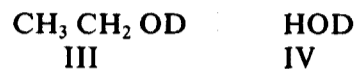
$$R = 0,12 + 0,076 x_i$$

x_i = tenore in glucosio o fruttosio in grammi per litro

8. RIVELAZIONE DELL'AUMENTO DEL TITOLO ALCOLOMETRICO NATURALE DEI MOSTI DI UVE, DEI MOSTI DI UVE CONCENTRATI, DEI MOSTI DI UVE CONCENTRATI RETTIFICATI E DEI VINI MEDIANTE LA RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE DEL DEUTERIO (RMN-FINS/SNIF-NMR)

1. **DEFINIZIONE**

Gli atomi di deuterio contenuti negli zuccheri e nell'acqua di un mosto di uva si ridistribuiscono dopo la fermentazione nelle molecole I, II, III e IV del vino:



L'aggiunta di zuccheri esogeni (zuccheraggio a secco) prima della fermentazione del mosto si ripercuoterà sulla redistribuzione del deuterio.

Rispetto ai valori dei parametri relativi ad un vino campione naturale della stessa regione, lo zuccheraggio con zucchero esogeno provocherà le seguenti variazioni:

Vino	Parametri	(D/H) _I	(D/H) _{II}	(D/H) _W ⁰	R
— Naturale		→	→	→	→
— Arricchito		→	→	→	→
— zucchero di barbabietola	}	→	→	→	→
— zucchero di canna		→	→	→	→
— zucchero di mais		→	→	→	→

(D/H)_I : rapporto isotopico nella molecola I

(D/H)_{II} : rapporto isotopico nella molecola II

(D/H)_W⁰ : rapporto isotopico dell'acqua e del vino

$R = 2(D/H)_{II}/(D/H)_I$, esprime la distribuzione relativa del deuterio nelle molecole I e II; R viene direttamente misurato a partire dalle intensità h dei segnali e quindi $R = 3h_{II}/h_I$.

(D/H)_I caratterizza soprattutto la specie vegetale che ha sintetizzato lo zucchero ed in misura minore la geografia del luogo di raccolta (natura dell'acqua impiegata per la fotosintesi).

(D/H)_{II} rappresenta la climatologia del luogo di produzione delle uve (qualità dell'acqua piovana e condizioni meteorologiche) ed in misura minore, la concentrazione zuccherina del mosto iniziale.

(D/H)_W⁰ rappresenta la climatologia del luogo di produzione e la ricchezza in zucchero del mosto iniziale.

2. **PRINCIPIO**

La determinazione dei parametri sopra definiti [(R, (D/H)_I, (D/H)_{II}], è effettuata per RMN del deuterio sull'etanolo estratto dal vino o dai prodotti di fermentazione del mosto, del mosto concentrato, del mosto concentrato rettificato ottenuti in determinate condizioni. Essa è eventualmente completata con la determinazione del rapporto isotopico dell'acqua estratta dal vino, (D/H)_W⁰ e del rapporto isotopico ¹³C/¹²C dell'etanolo.

In attesa della costituzione di una banca dati comunitaria:

- nel caso dei vini i campioni prelevati per il controllo nelle zone di produzione devono essere accompagnati dal prelevamento di campioni testimoni naturali (almeno tre) della stessa origine (luogo geografico e annata); tali prelevamenti vanno effettuati in tre esemplari;
- nel caso dei mosti, dei mosti concentrati e dei mosti concentrati rettificati, i campioni testimoni (almeno 3) sono costituiti da mosti naturali della stessa origine (luogo geografico e annata);

Per i controlli dei prodotti elaborati nel proprio territorio, in attesa della costituzione di una banca dati comunitaria, gli Stati membri possono in via transitoria utilizzare una banca dati nazionale.

3. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI

3.1. Estrazione dell'etanolo e dell'acqua dal vino

Osservazione: Può essere utilizzata qualsiasi apparecchiatura per l'estrazione dell'etanolo a condizione che permetta di recuperare il 98-98,5 % dell'alcol del vino ottenendo un distillato che abbia un titolo compreso tra il 92 e il 93 % mas. (95 % vol).

3.1.1. *Apparecchiature e reattivi*

- Dispositivo per l'estrazione dell'etanolo (figura 1) comprendente:
 - riscaldatore semisferico elettrico con variatore di tensione
 - matraccio sferico da un litro con collo smerigliato
 - colonna Cadiot con asta rotante (mobile in teflon)
 - matracci conici con collo smerigliato da 125 ml
 - bottiglie con tappodi di plastica da 125 e 60 ml
- Reattivi per il dosaggio dell'acqua con la tecnica di Karl Fischer (ad esempio Merck 9241 e 9243)

3.1.2. *Modo di operare*

3.1.2.1. Determinare il titolo alcolometrico del vino con l'approssimazione di 0,05 % vol. Sia t_v .

3.1.2.2. Estrazione dell'etanolo

Versare una presa di campione omogeneo di 500 ml di vino avente titolo alcolometrico t_v nel pallone dell'apparecchiatura per la distillazione che abbia un tasso di riflusso costante di circa 0,9. Collocare un matraccio con smerigliatura da 125 ml, preventivamente tarato, per la raccolta del distillato. Raccogliere il liquido che distilla tra 78,0 e 78,2 °C pari a circa 40-60 ml. Interrompere l'operazione per 5 minuti quando la temperatura supera i 78,5 °C.

Non appena la temperatura raggiunge nuovamente i 78 °C tornare a prelevare il distillato sino a 78,5 °C e ripetere tale operazione fino a quando la temperatura, dopo aver interrotto il prelievo ed aver fatto continuare l'operazione in circuito chiuso, non decresce più. La distillazione completa dura circa 5 ore. Questo procedimento consente di recuperare il 98-98,5 % dell'alcol totale del vino, in un distillato al 92-93 % in massa (95 % vol), titolo per il quale sono state fissate le condizioni RMN descritte al paragrafo 4.

Pesare l'etanolo estratto.

In un flacone da 60 ml conservare una parte (60 ml) omogenea delle code di distillazione, che rappresenta l'acqua del vino. Determinare eventualmente il suo rapporto isotopico.

Osservazione: se si dispone di uno spettrometro con sonda da 10 mm (vedi paragrafo 4), saranno sufficienti 300 ml di vino.

3.1.2.3. Determinazione del titolo alcolometrico dell'alcol estratto

Su un campione di circa 0,5 ml di alcol, di massa p esattamente nota, determinare il tenore in acqua con il metodo Karl Fischer e sia esso $p'g$.

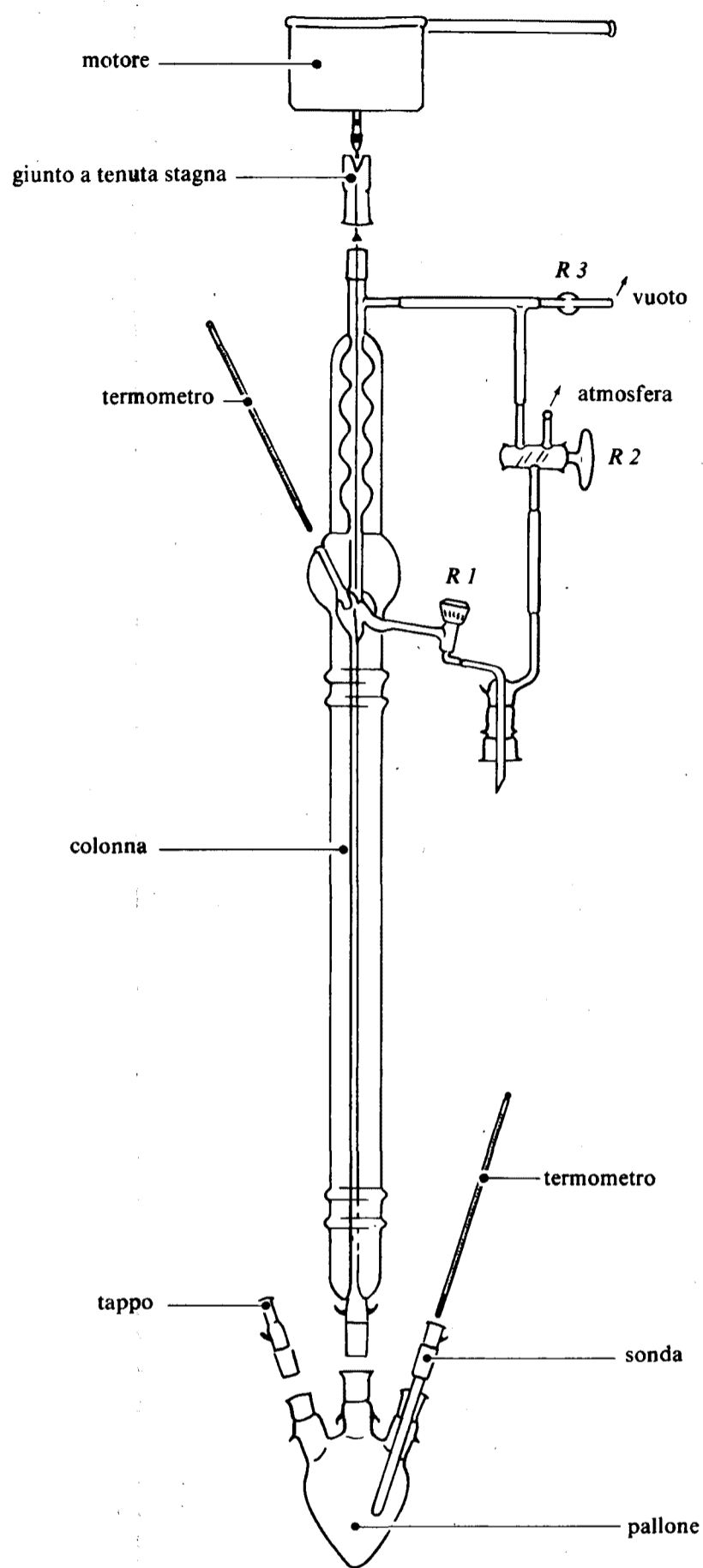


Figura 1 — Dispositivo per l'estrazione dell'etanolo

Il titolo massico dell'etanolo è dato da

$$t_m^D = \frac{p - p'}{p} \times 100$$

3.2. Fermentazione dei mosti, dei mosti concentrati e dei mosti concentrati rettificati

3.2.1. Materiali e reattivi

- Acido tartarico
- Bacto Yeast Nitrogen (Base without amino acids) DIFCO
- Lieviti secchi attivi (*Saccharomyces cerevisiae*)

Se si conosce il rapporto isotopico dell'acqua del mosto, i lieviti possono essere preventivamente riattivati insemensandoli per 5 minuti in una piccola quantità di acqua tiepida non distillata (1 g in 50 ml), avente un rapporto isotopico vicino a quello dell'acqua del mosto.

Quando non si conosce il rapporto isotopico dell'acqua del mosto, è preferibile insemensare direttamente.

La quantità di lieviti secchi da utilizzare è dell'ordine di 1 g, cioè circa 10^{10} cellule per 1 l di mosto.

Recipiente per la fermentazione da 1,5 l munito di un dispositivo che consenta di operare senza contatto con l'aria e di condensare i vapori di alcol in modo che durante la fermentazione non si abbia alcuna perdita di etanolo. La percentuale di conversione degli zuccheri fermentescibili in etanolo deve essere superiore al 98 %.

3.2.2. *Modo di operare*

3.2.2.1. Mosti

— Mosti freschi

Versare un litro di mosto di cui sia stata previamente determinata la concentrazione in zuccheri fermentescibili, nel recipiente destinato alla fermentazione. Aggiungere 1 g di lieviti secchi precedentemente riattivati. Collocare il dispositivo che consente di operare fuori dal contatto con l'aria. Effettuare la fermentazione ad una temperatura prossima a 20 °C sino all'esaurimento degli zuccheri. Dopo aver determinato il titolo alcolometrico del prodotto della fermentazione e calcolato la percentuale di conversione degli zuccheri in alcol, centrifugare il liquido fermentato ottenuto e distillarlo per estrarre l'etanolo.

— Mosti mutizzati con anidride solforosa

Desolfitare un volume di mosto di poco superiore ad un litro (1,2 l) per gorgogliamento di una corrente di azoto nel mosto riscaldato in bagnomaria a 70-80 °C in riflusso sino a quando il tenore di anidride solforosa totale sia inferiore a 200 mg/l. Aver cura di non provocare alcuna concentrazione del mosto per evaporazione dell'acqua utilizzando un refrigerante efficace.

Versare un litro di mosto desolfitato nel recipiente da fermentazione e continuare come indicato per i mosti freschi.

Osservazione: Se per solfitare il mosto è stato impiegato del metabisolfito di potassio, prima del desolfitaggio occorre aggiungere a quest'ultimo dell'acido solforico nella misura di 0,25 ml di acido solforico concentrato ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) per grammo di metabisolfito impiegato in un litro di mosto.

3.2.2.2. Mosti concentrati

Nel recipiente di fermentazione versare un volume V ml di mosto concentrato contenente circa 170 g di zucchero. Completare il volume ad 1 l con (1 000 - V) ml di acqua avente lo stesso rapporto isotopico dell'acqua del mosto naturale testimone. Insemensare come indicato al punto 3.2.1. Aggiungere 3 grammi di Bacto Yeast Nitrogen (Base without amino acids DIFCO). Omogeneizzare e continuare come prima.

3.2.2.3. Mosti concentrati rettificati

Procedere come descritto al punto 3.2.2.2 portando al volume di un litro con (1 000 - V) ml di acqua avente lo stesso rapporto isotopico dell'acqua del mosto naturale testimone in cui sono stati sciolti 3 grammi di acido tartarico.

Osservazione: Conservare 50 ml di campione di mosto, di mosto desolfitato, di mosto concentrato o di mosto concentrato rettificato per l'eventuale estrazione dell'acqua e la determinazione del suo rapporto isotopico (D/H)₀.

L'estrazione dell'acqua dai mosti potrà essere effettuata molto semplicemente per distillazione azeotropica con toluene.

3.3. Preparazione del campione di alcol per la misura RMN

3.3.1. Reattivi

N,N-tetrametilurea (TMU): utilizzare un campione di riferimento di TMU avente rapporto isotopico D/H conosciuto e controllato. Tale campione può essere fornito da:

Direction générale Science, recherche et développement
Bureau communautaire de référence
Rue de la Loi 200
B-1049 Bruxelles

3.3.2. Modo di operare

— Sonda RMN con diametro da 15 mm:

Introdurre in una bottiglia preventivamente tarata, 7 ml dell'alcol ottenuto al punto 3.1.2 e pesarli con l'approssimazione di 0,1 mg, sia m_A la massa; introdurre quindi 3 ml dello standard interno (TMU) e pesare nuovamente con l'approssimazione di 0,1 mg, sia m_{st} la massa. Omogeneizzare la miscela per agitazione.

— Sonda RMN, diametro 10 mm:

3,2 ml di alcol e 1,3 ml di TMU sono sufficienti.

A seconda del tipo di spettrometro e di sonda utilizzati (vedi paragrafo 4), aggiungere come sostanza di stabilizzazione del campo frequenza (lock) una quantità sufficiente di esafluorobenzene.

Spettrometro	Sonda	
	10 mm	15 mm
7,05 T	150 μ l	200 μ l
9,4 T	35 μ l	50 μ l

3.4. Preparazione del campione di acqua per la misurazione RMN, che servirà eventualmente a determinarne il suo rapporto isotopico.

3.4.1. Reattivi

N,N-tetrametilurea (TMU): vedi 3.3.1

3.4.2. Modo di operare

Introdurre in una bottiglia preventivamente tarata 3 ml di acqua ottenuta come al punto 3.1.2 o al punto 3.2 (Osservazione); pesare con l'approssimazione di 0,1 mg (m'_E); aggiungere quindi 4 ml dello standard interno (TMU) e pesarlo con l'approssimazione di 0,1 mg (m'_{st}); omogeneizzare la miscela per agitazione.

Osservazione: Se il laboratorio dispone di uno spettrometro di massa di rapporti isotopici, tale misura potrà essere effettuata su detto strumento in modo da alleggerire il carico dello spettrometro RMN. È in effetti necessario verificare il rapporto T_{IV} (5.2) per ciascuna serie di vini studiata.

4. REGISTRAZIONE DEGLI SPETTRI RMN 2H DELL'ALCOL E DELL'ACQUA

Determinazione dei parametri isotopici

4.1. Apparecchiatura

— Spettrometro RMN corredato di una sonda specifica «deuterio» regolata alla frequenza caratteristica ν_0 del campo (B_0) (ad esempio, per $B_0 = 7,05$ T, $\nu_0 = 46,05$ MHz e per $B_0 = 9,4$ T, $\nu_0 = 61,4$ MHz), avente un canale di disaccoppiamento del protone (B_2) e un canale di stabilizzazione del campo frequenza (lock), alla frequenza del fluoro.

La risoluzione, misurata sullo spettro, trasformato senza moltiplicazione esponenziale (cioè $LB = 0$) (figura 2b) e espressa dall'ampiezza a metà altezza dei picchi metile e metilene dell'etanolo e del picco metile del TMU, deve essere inferiore a 0,5 Hz. La sensibilità, misurata con un fattore di moltiplicazione esponenziale LB uguale a 2 (figura 2a), deve essere maggiore o uguale a 150 per il picco metile dell'etanolo al 95 % in vol (93,5 % mas). In queste condizioni, l'intervallo fiduciale della misura dell'altezza del segnale, calcolato per una probabilità del 97,5 % (prova a un'ala) e per 10 ripetizioni dello spettro, è di 0,35 %.

- Campionatore automatico eventuale.
- Software per l'elaborazione dei dati.
- Tubi portacampione da 15 mm o da 10 mm a seconda del potere risolutivo dello spettrometro.

4.2. Regolazione dello spettrometro e verifiche

4.2.1. Regolazione

Procedere alle normali regolazioni di omogeneità e di sensibilità seguendo le indicazioni del costruttore.

4.2.2. Verifica della validità delle regolazioni

Utilizzare etanoli di riferimento, contrassegnati con le lettere C, V e B, che presentino una composizione isotopica diversa ma tarata con precisione. Siano C = alcol di canna da zucchero o di mais, V = alcol di vino e B = alcol di barbabietola. Tali campioni sono forniti dal BCR (3.3.1).

Seguendo il procedimento di cui al punto 4.3, determinare i valori isotopici di questi alcol e trascriverli C_{mis} , V_{mis} , B_{mis} . (Vedi 5.3).

Confrontarli con i rispettivi valori di riferimento dati, contrassegnati da C_{st} , B_{st} , V_{st} (vedi 5.3).

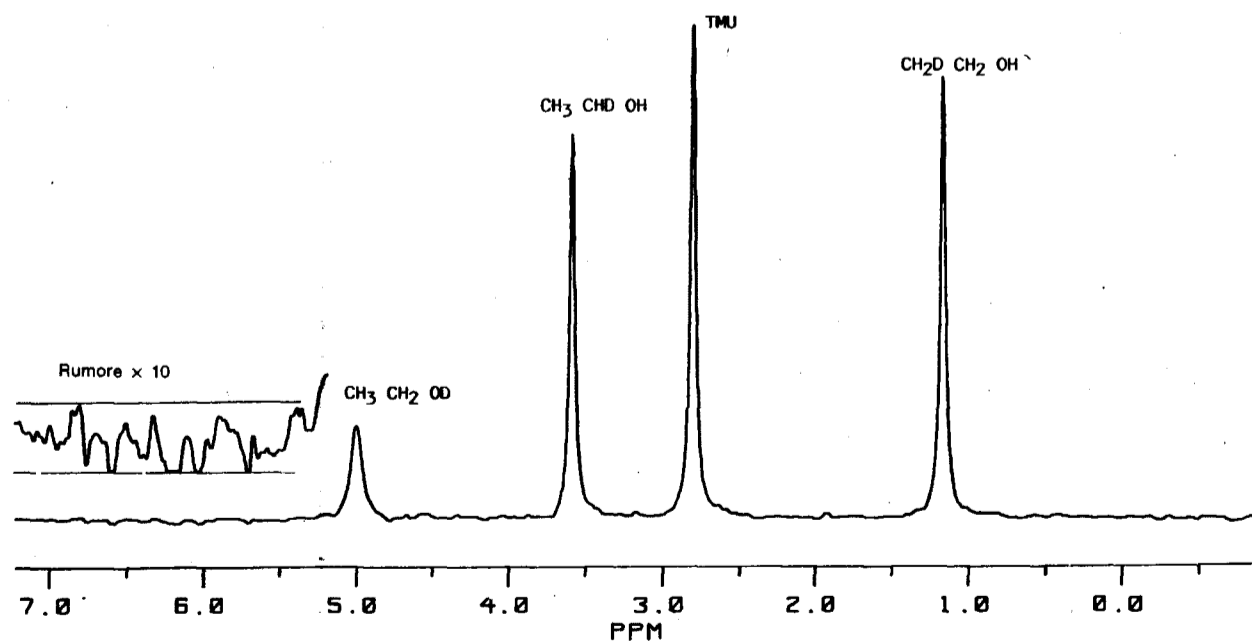


Figura 2a

Spettro RMN 2H di un etanolo di vino con uno standard interno
(TMU: N,N tetrametilurea)

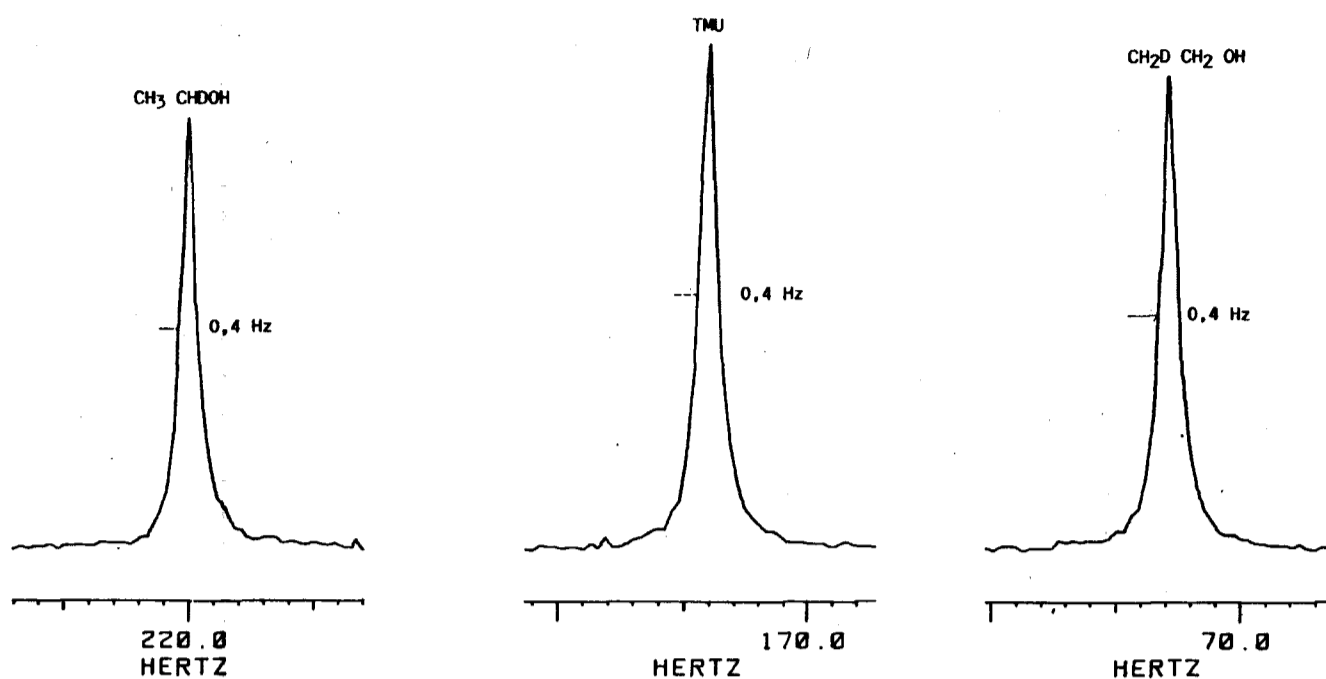


Figura 2b

Spettro ^2H dell'etanolo realizzato nelle stesse condizioni della figura 2a senza moltiplicazione esponenziale ($\text{LB} = 0$)

Lo scarto tipo di ripetibilità ottenuto sulla media di 10 ripetizioni di ciascuno spettro deve essere inferiore a 0,01 per il rapporto R ed inferiore a 0,3 ppm per $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$ e per $(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$.

I valori medi ottenuti per i vari parametri isotopici $[(\text{R}, (\text{D}/\text{H})_{\text{I}}, (\text{D}/\text{H})_{\text{II}})]$ devono cadere nel corrispondente scarto tipo di ripetibilità dato, per tali parametri, per i tre alcol di riferimento, del BCR in caso contrario occorre effettuare nuovamente la regolazione.

4.3. Registrazione degli spettri RMN

Porre il campione di alcol preparato come in 3.3 (o quello di acqua preparato come in 3.4) in un tubo da 15 o da 10 mm e introdurlo nella sonda.

Gli spettri RMN devono essere ottenuti nelle seguenti condizioni:

- la temperatura della sonda: (ad esempio 302 K) deve essere costante;
- tempo di acquisizione di almeno 6,8 secondi per 1200 Hz di ampiezza spettrale (Memoria 16 K, cioè circa 20 ppm a 61,4 MHz, oppure circa 27 ppm a 46,1 MHz.);
- impulso: 90° ;
- regolare il termine di acquisizione; il suo valore deve essere dello stesso ordine di grandezza dei tempi di campionamento («dwell time»);
- rivelazione in quadratura: fissare l'«offset» 01 tra i segnali — OD — CHD per l'etanolo e tra i segnali HOD e TMU per l'acqua;
- determinare il valore dell'«offset» di disaccoppiamento 02 utilizzando lo spettro protonico misurato dalla bobina di disaccoppiamento sullo stesso tubo. Si ottiene un buon disaccoppiamento quando O_2 si trova al centro dell'intervallo di frequenza esistente tra i gruppi CH_3 - e $-\text{CH}_2$ -. Utilizzare il disaccoppiamento a banda larga.

Effettuare per ciascuno spettro un numero di accumulazioni NS sufficiente ad ottenere il rapporto segnale/rumore dato al punto 4-1 e ripetere $\text{NE} = 10$ volte tale serie di NS accumulazioni. I valori di NS dipendono dal tipo di spettrometro e di sonda utilizzati (vedi 4) e si sceglierà ad esempio:

Spettrometro	Sonda	
	10 mm	15 mm
7,05 T	NS = 304	NS = 200
9,04 T	NS = 200	NS = 128

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. Caso dell'etanolo

Per ciascuno dei 10 spettri determinare (vedi spettro RMN dell'etanolo, figura 2a):

$$- R = 3 \frac{h_{II}}{h_I} = 3 \cdot \frac{\text{altezza del picco II (CH}_3\text{ CHD OH)}}{\text{altezza del picco I (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}$$

$$- (D/H)_I = 1,5866 \cdot T_I \cdot \frac{m_{st}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$$

$$- (D/H)_{II} = 2,3799 \cdot T_{II} \cdot \frac{m_{st}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$$

dove

$$- T_I = \frac{\text{altezza del picco I (CH}_2\text{D CH}_2\text{ OH)}}{\text{altezza del picco dello standard interno (TMU)}}$$

$$- T_{II} = \frac{\text{altezza del picco II (CH}_3\text{D CHD OH)}}{\text{altezza del picco dello standard interno (TMU)}}$$

— $\text{CH}_3\text{CHDO } H_{m_{st}}$ e m_A (vedi 3.3.2)

— t_m^D (vedi 3.1.2.3)

— $(D/H)_{st}$ = rapporto isotopico dello standard interno (TMU) indicato sulla confezione fornita dal BCR.

L'utilizzazione dell'altezza dei segnali al posto delle superfici misurabili con minore precisione suppone larghezze uguali a metà altezza e questa è un'approssimazione ragionevole (figura 2 b).

5.2. Caso dell'acqua

Quando il rapporto isotopico dell'acqua è determinato con l'RMN, partendo dalla miscela acqua-TMU, si usa la seguente relazione:

$$- (D/H)_W^0 = 0,9306 \cdot T_{IV} \cdot \frac{m'_{st}}{m'_E} \cdot (D/H)_{st}$$

dove

$$- T_{IV} = \frac{\text{Superficie del picco (HOD) dell'acqua estratta dal vino}}{\text{Superficie del picco dello standard interno (TMU)}}$$

— m'_{st} et m'_E vedi 3.4.2

— $(D/H)_{st}$ = rapporto isotopico dello standard interno (TMU) indicato sulla confezione fornita dal BCR

5.3. Per ciascuno dei parametri isotopici, calcolare la media di 10 determinazioni e l'intervallo fiduciale.

Un software opzionale (ad esempio RMN-FINS) adattabile all'elaboratore dello spettrometro consente di effettuare in linea tali calcoli.

Osservazione: Se, dopo la regolazione dello spettrometro, si ha uno scarto sistematico tra i valori medi ottenuti per le caratteristiche isotopiche degli alcoli di riferimento (4.2.2) e i valori indicati dal BCR, a meno dello scarto-tipo, si potrà applicare la seguente correzione per ottenere il valore reale di un campione X qualsiasi.

L'interpolazione si effettuerà prendendo i valori dei campioni di riferimento immediatamente superiore e inferiore a quello del campione X.

Sia $(D/H)_i^{X_{\text{mis}}}$ il valore misurato e $(D/H)_i^{X_{\text{corr}}}$ il valore corretto; si avrà:

$$(D/H)_i^{X_{\text{corr}}} = (D/H)_i^{B_{\text{st}}} + \alpha \left[(D/H)_i^{X_{\text{mis}}} - (D/H)_i^{B_{\text{mis}}} \right]$$

$$\text{dove } \alpha = \frac{(D/H)_i^{V_{\text{st}}} - (D/H)_i^{B_{\text{st}}}}{(D/H)_i^{V_{\text{mis}}} - (D/H)_i^{B_{\text{mis}}}}$$

Esempio:

Campioni di riferimento forniti e tarati dal BCR:

$$(D/H)_i^{V_{\text{st}}} = 102,0 \text{ ppm} \quad (D/H)_i^{B_{\text{st}}} = 91,95 \text{ ppm}$$

Campioni di riferimento misurati dal laboratorio:

$$(D/H)_i^{V_{\text{mis}}} = 102,8 \text{ ppm} \quad (D/H)_i^{B_{\text{mis}}} = 93,0 \text{ ppm}$$

Campione sospetto non corretto:

$$(D/H)_i^{X_{\text{mis}}} = 100,2 \text{ ppm}$$

$$\text{Si calcola } \alpha = 1,0255 \text{ e } (D/H)_i^{X_{\text{corr}}} = 99,3 \text{ ppm}$$

6. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Confrontare il valore R^X ottenuto per il rapporto R del campione sospetto con i rapporti ottenuti per i vini testimoni. Se il valore di R^X si discosta di più di 2 scarti tipo dal valore medio R^T ottenuto per i vini testimoni, vi è presunzione di adulterazione.

6.1. Aumento del titolo alcolometrico naturale con aggiunta di zucchero di barbabietola o di canna o con glucosio di mais

6.1.1. Vini

R^X maggiore di R^T : presunzione di addizione di zucchero di barbabietola.

R^X inferiore a R^T : presunzione di addizione di zucchero da canna o di zucchero da mais.

Notare che $(D/H)_{II}^X$ e $(D/H)_{W}^X$ sono aumentati.

Esaminare $(D/H)_I^X$. Vi è presunzione di:

— arricchimento con zucchero da barbabietola:

$(D/H)_{II}^X$ del campione sospetto è inferiore a $(D/H)_I^T$, valore medio ottenuto con i campioni di riferimento, di oltre uno scarto tipo;

— arricchimento con zucchero da canna o da mais:

$(D/H)_I^X$ è maggiore di $(D/H)_I^T$, di oltre uno scarto tipo sulla misura.

— Calcolo dell'arricchimento E, espresso in % in volume di etanolo:

— Caso di arricchimento con zucchero di barbabietola:

$$E \% \text{ vol} = t^v \frac{(D/H)_I^T - (D/H)_I^X}{(D/H)_I^T - (D/H)_I^B}$$

$(D/H)_I^B$ = rapporto isotopico per il sito I dell'alcol d barbabietola:

$$(D/H)_I^B = 92,5 \text{ (}^1\text{)}$$

t^v = titolo alcolometrico del vino analizzato (X)

— Caso di arricchimento con zucchero di canna o di mais:

$$E \% \text{ vol} = t^v \frac{(D/H)_I^X - (D/H)_I^T}{(D/H)_I^C - (D/H)_I^T}$$

(1) Questi valori sono dati in attesa della costituzione di una banca dati comunitaria.

$(D/H)_f^c$ = rapporto isotopico per il sito I dell'alcol di canna da zucchero o di mais:

$(D/H)_f^c = 110,5$ (1)

t^v = titolo alcolometrico del vino analizzato (X)

6.1.2. *Mosti, mosti concentrati e mosti concentrati rettificati*

I valori dei parametri isotopici dell'alcol estratto, come indicato al punto 3.1 del prodotto fermentato ottenuto (3.2) dal mosto, dal mosto concentrato e dal mosto concentrato rettificato, vengono esaminati secondo quanto prescritto in 6 «interpretazione dei risultati» (6.1.1) confrontandoli con l'alcol estratto dal prodotto di fermentazione dei mosti naturali testimoni.

L'arricchimento, E % vol, esprime il volume di alcol apportato al prodotto fermentato. Conoscendo l'eventuale diluizione effettuata prima della fermentazione (mosti concentrati e mosti concentrati rettificati) ammettendo che 16,83 g di zucchero danno l'1 % vol di alcol, calcolare la quantità in massa di zucchero aggiunto per litro di mosto, di mosto concentrato o di mosto concentrato rettificato.

6.2. **Aumento del titolo alcolometrico naturale con l'aggiunta di una miscela di zucchero di barbabietola e di zucchero di canna o di glucosio di mais**

I rapporti isotopici $(D/H)_l$ e R risultano meno modificati che nel caso di arricchimento con un solo tipo di zucchero.

$(D/H)_{ll}$ e $(D/H)_{ll}^g$ risultano aumentati.

La conferma di queste aggiunte può aversi determinando il rapporto $^{13}C/^{12}C$ dell'etanolo con lo spettrometria di massa; questo rapporto risulterà in tale caso aumentato.

(1) Questi relazi sono dati in ottese della costituzione di una banca dati comunitaria.

9. CENERI

1. DEFINIZIONE

Con il termine ceneri si intende l'insieme dei prodotti ottenuti per incenerimento del residuo dell'evaporazione del vino, condotto in modo da ottenere la totalità dei cationi (ad esclusione dello ione ammonio) sotto forma di carbonati o di altri sali minerali anidri.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Incenerimento dell'estratto del vino, effettuato fra 500 e 550 °C fino a combustione completa del carbonio.

3. APPARECCHIATURA

3.1. Bagnomaria a 100 °C

3.2. Bilancia con sensibilità di un decimo di milligrammo

3.3. Piastra riscaldante o evaporatore all'infrarosso

3.4. Forno elettrico con termoregolatore

3.5. Essiccatore

3.6. Capsula in platino a fondo piano del diametro di 70 mm ed altezza di 25 mm

4. MODO DI OPERARE

Versare 20 ml di vino nella capsula in platino previamente tarata (P_0 g). Fare evaporare su bagnomaria a 100 °C, scaldare il residuo sulla piastra riscaldante a 200 °C o sotto l'evaporatore all'infrarosso, fino a carbonizzazione. Quando non si ha più emissione di vapore, porre la capsula nel forno elettrico portato alla temperatura di 525 ± 25 °C. Dopo 15 minuti di carbonizzazione, ritirare la capsula dal forno, aggiungere 5 ml di acqua distillata che vengono successivamente fatti evaporare sul bagnomaria o sotto l'evaporatore all'infrarosso e riscaldare di nuovo a 525 °C per una decina di minuti.

Se la combustione delle particelle carboniose non è completa, ricominciare le operazioni di lavaggio delle particelle carboniose, di evaporazione dell'acqua e di incenerimento.

Per i vini ricchi di zucchero, conviene, precedentemente alla prima calcinazione, aggiungere all'estratto alcune gocce di olio vegetale puro per impedire che il contenuto trabocchi.

Dopo raffreddamento in essiccatore, pesare la capsula; sia P_1 g il peso.

Il peso delle ceneri corrispondente al campione prelevato per la prova (20 ml) è $p = (P_1 - P_0)$ g.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. Metodo di calcolo

Il peso P delle ceneri espresso in grammi per litro con due cifre decimali sarà:

$$P = 50 \cdot p$$

10. ALCALINITÀ DELLE CENERI

1. DEFINIZIONE

Si denomina l'alcalinità delle ceneri la somma dei cationi, diversi dall'ammonio, combinati agli acidi organici del vino.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Titolazione in presenza di metilarancio delle ceneri solubilizzate a caldo con un eccesso noto di acido titolato.

3. REATTIVI E MATERIALE

- 3.1. Soluzione 0,05 M di acido solforico (H_2SO_4)
- 3.2. Soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (NaOH)
- 3.3. Soluzioni in acqua distillata di metilarancio allo 0,1 %
- 3.4. Bagnomaria a 100 °C

4. MODO DI OPERARE

Aggiungere nella capsula di platino contenente le ceneri di 20 ml di vino 10 ml di soluzione 0,05 M di acido solforico (3.1); porre la capsula su bagnomaria a 100 °C per 15 minuti circa, rompendo il residuo con l'aiuto di una bacchetta di vetro per agevolare la dissoluzione. Aggiungere quindi due gocce di soluzione di metilarancio e titolare l'eccesso di acido solforico con la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2) fino a viraggio al giallo dell'indicatore.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Metodo di calcolo

L'alcalinità delle ceneri espressa in milliequivalenti per litro, con una cifra decimale sarà:

$$A = 5 (10 - n)$$

n = numero di millilitri di idrossido di sodio 0,1 M

11. CLORURI

1. PRINCIPIO DEL METODO

I cloruri vengono dosati direttamente nel vino mediante potenziometria facendo uso dell'elettrodo Ag/AgCl.

2. APPARECCHIATURA

- 2.1. pH metro millivoltmetro graduato almeno di 2 in 2 mV
- 2.2. Agitatore magnetico
- 2.3. Elettrodo Ag/AgCl, con una soluzione satura di nitrato di potassio come elettrolita
- 2.4. Microburetta graduata a 1/100 di ml
- 2.5. Cronometro

3. REATTIVI

- 3.1. Soluzione standard di cloruri: 2,1027 g di cloruro di potassio, KCl (massimo 0,005 % guadi Brix), essiccati prima dell'uso mediante conservazione per qualche giorno in un essiccatore, vengono sciolti in acqua distillata e portati al volume di 1 litro. 1 ml di questa soluzione contiene 1 mg di Cl⁻.
- 3.2. Soluzione titolata di nitrato di argento: 4,7912 g di nitrato di argento, AgNO₃, vengono sciolti e portati al volume di 1 litro in una soluzione alcolica al 10 % (v/v) : 1 ml di questa soluzione corrisponde a 1 mg di Cl⁻.
- 3.3. Acido nitrico almeno al 65 % ($\rho_{20} = 1,40$ g/ml).

4. MODO DI OPERARE

- 4.1. 5,0 ml di soluzione standard di cloruri vengono introdotti in un recipiente cilindrico di 150 ml sistemato su un agitatore magnetico, diluiti a 100 ml circa con acqua distillata ed acidificati con 1,0 ml di acido nitrico al 65 % minimo. Dopo l'immersione dell'elettrodo, titolare aggiungendo con la microburetta la soluzione titolata di nitrato di argento, agitando moderatamente. Le aggiunte effettuate sono, all'inizio di 1,00 ml per i primi 4 ml, leggere i valori corrispondenti in millivolt. Aggiungere poi i 2 ml successivi suddivisi in frazioni di 0,20 ml. Riprendere infine le aggiunte di 1 ml per volta, finché non saranno stati aggiunti in totale 10 ml. Dopo ciascuna aggiunta aspettare circa 30 secondi prima di effettuare la lettura dei millivolt corrispondenti. Portare i valori ottenuti su carta millimetrata, in funzione dei millilitri di soluzione titolata corrispondenti e determinare il potenziale del punto di equivalenza in base al punto singolo della curva ottenuta.
- 4.2. In un recipiente cilindrico da 150 ml vengono introdotti 5 ml della soluzione standard di cloruri, nonché 95 ml di acqua distillata e 1 ml di acido nitrico al 65 % minimo. Immergere l'elettrodo e titolare agitando fino a ottenimento del potenziale del punto di equivalenza. Questa determinazione viene ripetuta fino al raggiungimento di una buona concordanza tra i risultati. È necessario effettuare questo controllo prima di ciascuna serie di dosaggi dei cloruri nei campioni.
- 4.3. 50 ml di vino da analizzare vengono introdotti in un recipiente cilindrico da 150 ml. Aggiungere 50 ml di acqua distillata e 1 ml di acido nitrico di concentrazione non inferiore al 65 % e titolare secondo il procedimento indicato al punto 4.2.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. Calcoli

Se n rappresenta il numero dei millilitri di soluzione titolata di nitrato d'argento, il tenore in cloruri del prodotto in esame è:

- $20 \times n$ espresso in milligrammi di Cl per litro,
 $0,5633 \times n$ espresso in milliequivalenti per litro,
 $32,9 \times n$ espresso in milligrammi di cloruro di sodio per litro.

5.2. **Ripetibilità (r)**

$r = 1,2$ mg di Cl per litro

$r = 0,03$ meq/l

$r = 2,0$ mg NaCl/l

5.3. **Riproducibilità (R)**

$R = 4,1$ mg di Cl per litro

$R = 0,12$ meq/l

$R = 6,8$ mg NaCl/l

6. **Osservazioni: Dosaggio molto preciso.**

Si fa riferimento alla curva di titolazione completa ottenuta durante il dosaggio del prodotto in esame mediante la soluzione di nitrato di argento.

- a) Versare 50 ml di vino da analizzare in un recipiente cilindrico da 150 ml. Aggiungere 50 ml di acqua distillata e 1 ml di acido nitrico ad una concentrazione non inferiore al 65 %. Titolare per mezzo della soluzione di nitrato di argento, procedendo ad aggiunte di 0,5 ml per le quali si rileva il corrispondente potenziale in millivolt. Dedurre da questa prima titolazione il volume approssimativo di soluzione di nitrato di argento necessario.
- b) Ricominciare il dosaggio nelle stesse condizioni. Procedere all'inizio ad aggiunte di 0,5 ml di soluzione titolante fino a che il volume aggiunto è inferiore di 1,5-2 ml al volume determinato in a). Procedere quindi ad aggiunte di 0,2 ml; continuare le aggiunte al di là del punto di equivalenza approssimativamente individuato, in modo simmetrico, mediante aggiunta di 0,2 e poi di 0,5 ml.

Il punto finale del dosaggio ed il volume di soluzione di nitrato di argento esattamente consumato viene ottenuto:

- tracciando la curva e determinando il punto di equivalenza, oppure
- con il calcolo:

$$V = V' + \Delta V_i \frac{\Delta \Delta E_1}{\Delta \Delta E_1 + \Delta \Delta E_2}$$

dove:

V = volume di soluzione titolata al punto di equivalenza

V' = volume di soluzione titolata prima del più grande salto di potenziale

ΔV_i = volume costante delle frazioni di soluzione titolata aggiunte, ovvero 0,2 ml

$\Delta \Delta E_1$ = differenza di potenziale prima della più grande variazione di potenziale

$\Delta \Delta E_2$ = seconda differenza di potenziale dopo la più grande variazione di potenziale

Esempio:

Volume di soluzione titolata di AgNO ₃	Potenziale E in mV	Differenza ΔE	Differenza seconda ΔΔE
0	204		
0,2	208	4	0
0,4	212	4	2
0,6	218	6	0
0,8	224	6	0
1,0	230	6	2
1,2	238	8	4
1,4	250	12	10
1,6	272	22	22
1,8	316	44	10
2,0	350	34	8
2,2	376	26	6
2,4	396	20	

In questo esempio il punto finale della titolazione è situato tra 1,6 e 1,8 ml: perché è in questo intervallo che appare il più grande salto di potenziale ($\Delta E = 44$ mV). Il volume di soluzione titolata di nitrato di argento consumato per dosare i cloruri nella aliquota di sostanza da analizzare è il seguente:

$$V = 1,6 + 0,2 \frac{22}{22 + 10} = 1,74 \text{ ml}$$

12. SOLFATI

1. PRINCIPIO DEI METODI

1.1. Metodo di riferimento

Precipitazione del solfato di bario e pesata. Il fosfato di bario precipitato nelle stesse condizioni viene eliminato mediante lavaggio del precipitato con acido cloridrico.

Nel caso dei mosti o dei vini ricchi di anidride solforosa, è necessaria una desolfitazione preliminare mediante ebollizione al riparo dall'aria.

1.2. Metodo rapido di prova

Classificazione dei vini in diverse categorie mediante un metodo detto dei limiti, basato sulla precipitazione del solfato di bario mediante una soluzione titolata di ione bario.

2. METODO DI RIFERIMENTO

2.1. Reattivi

2.1.1. Acido cloridrico in soluzione 2 M.

2.1.2. Cloruro di bario in soluzione di 200 g/l di $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

2.2. Modo di operare

2.2.1. Caso generale

In una provetta da centrifuga da 50 ml introdurre 40 ml di campione da analizzare; aggiungere 2 ml di acido cloridrico 2 M e 2 ml di soluzione di cloruro di bario di 200 g/l; agitare con una bacchetta di vetro; lavare la bacchetta con poca acqua distillata e lasciare a riposo per 5 minuti. Centrifugare per 5 minuti, poi decantare con precauzione il liquido surnatante.

Lavare quindi il precipitato di solfato di bario procedendo come segue: aggiungere 10 ml di acido cloridrico 2 M, mettere il precipitato in sospensione e centrifugare per 5 minuti. Separare con precauzione il liquido surnatante. Ripetere due volte il lavaggio del precipitato nelle stesse condizioni con 15 ml di acqua distillata ogni volta.

Travasare quantitativamente lavando con acqua distillata il precipitato in una capsula di platino tarata e sistemarla su un bagnomaria a 100 °C fino a evaporazione a secco. Il precipitato essiccato viene calcinato parecchie volte brevemente su fiamma fino a ottenimento di un residuo bianco. Lasciar raffreddare in un essiccatore e pesare.

Sia m la massa in milligrammi di solfato di bario ottenuta.

2.2.2. Caso particolare: mosti solfitati e vino a elevato tenore di anidride solforosa

Procedere in primo luogo all'eliminazione dell'anidride solforosa.

In una beuta da 500 ml munita di imbuto separatore e di tubo di scarico introdurre 25 ml d'acqua e 1 ml di acido cloridrico ($\rho_{20} = 1,15 - 1,18 \text{ g/ml}$). Far bollire questa soluzione per eliminare l'aria e introdurre 100 ml di vino attraverso l'imbuto separatore, mantenendo l'ebollizione. Continuare l'ebollizione finché il volume del liquido contenuto nella beuta viene ridotto a circa 75 ml e travasarlo quantitativamente, previo raffreddamento, in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con acqua. Procedere al dosaggio dei solfati su un'aliquota di 40 ml, come indicato al punto 2.2.1.

2.3. **Espressione dei risultati**2.3.1. *Calcoli*

Il tenore in solfati, espresso in milligrammi per litro di solfato di potassio, K_2SO_4 è di:

$$18,67 \times m$$

Il tenore del mosto o del vino in solfati viene espresso in milligrammi per litro di solfato di potassio, senza decimali.

2.3.2. *Ripetibilità (r)*

Fino a 1 000 mg/l: $r = 27$ mg/l

Attorno a 1 500 mg/l: $r = 41$ mg/l

2.3.3. *Riproducibilità (R)*

Fino a 1 000 mg/l: $R = 51$ mg/l

Attorno a 1 500 mg/l: $R = 81$ mg/l

3. **SAGGIO RAPIDO**3.1. **Reattivi**

3.1.1. Soluzione titolata di cloruro di bario

2,804 g di cloruro di bario, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ e 10 ml di acido cloridrico ($\rho_{20} = 1,15 - 1,18$ g/ml) vengono sciolti in una quantità d'acqua sufficiente a ottenere 1 l di soluzione, 1 ml di questa soluzione precipita un quantitativo di ioni solfato equivalente a 2 mg di solfato di potassio.

3.1.2. Acido solforico ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) in soluzione diluita 1/10 (m/v)3.2. **Modo di operare**

In tre provette porre 10 ml di mosto o di vino; aggiungere al n. 1 : 3,5 ml, al n. 2 : 5 ml e al n. 3 : 10 ml della soluzione di cloruro di bario. Agitare e portare a ebollizione; lasciar riposare 1-2 h. Il liquido di ogni provetta, decantato, viene filtrato e diviso in due porzioni. In una aggiungere qualche goccia della soluzione diluita di acido solforico, nell'altra aggiungere qualche goccia della soluzione di cloruro di bario. Esaminare ogni provetta e osservare la sua limpidezza o la sua torbidità. L'interpretazione viene data nella tabella seguente.

	Vino (ml)	Cloruro di bario (ml)	Vino filtrato +	
			acido solforico diluito torbido	soluzione di cloruro di bario limpido
1 ^a prova	10	3,5	(meno di 0,7 g di K_2SO_4/l) limpido	(oltre 0,7 g di K_2SO_4/l) torbido
2 ^a prova	10	5	torbido	limpido
			(meno di 1 g di K_2SO_4/l) limpido	(oltre 1 g di K_2SO_4/l) torbido
3 ^a prova	10	10	torbido	limpido
			(meno di 2 g di K_2SO_4/l) limpido	(oltre 2 g di K_2SO_4/l) torbido

13. ACIDITÀ TOTALE

1. DEFINIZIONE

L'acidità totale è la somma delle acidità titolabili allorché si porta il pH a 7 per addizione di una soluzione alcalina titolata.

Il biossido di carbonio non è compreso nell'acidità totale.

2. PRINCIPIO DI METODO

Titolazione potenziometrica o titolazione in presenza di blu di bromotimolo, come indicatore di fine reazione, per confronto con un campione colorato.

3. REATTIVI

3.1. Soluzione tampone a pH 7,0:

fosfato monopotassico KH_2PO_4 : 107,3 g
soluzione M di idrossido di sodio (NaOH): 500 ml
acqua q.b. a: 1 000 ml

Le soluzioni tampone reperibili in commercio possono essere utilizzate.

3.2. Soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (NaOH).

3.3. Soluzione di blu di bromotimolo a 4 g/l.

Blu di bromotimolo ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$):	4 g
Alcool neutro a 96 % vol:	200 ml
Dopo aver solubilizzato aggiungere:	
Acqua esente da CO_2 :	200 ml
Soluzione M di idrossido di sodio	
q.b. a colorazione blu-verde (pH = 7):	7,5 ml
Acqua q.b. a:	1 000 ml

4. APPARECCHIATURA

4.1. Pompa per vuoto ad acqua.

4.2. Beuta da vuoto da 500 ml.

4.3. Potenzimetro con scala tarata in unità di pH e relativi elettrodi. L'elettrodo di vetro deve essere conservato in acqua distillata. L'elettrodo al calomelano-cloruro di potassio saturo deve essere conservato in una soluzione satura di cloruro di potassio. Nella maggior parte dei casi si usa un elettrodo combinato; conservarlo in acqua distillata.

4.4. Recipiente cilindrico da 50 ml per i vini e da 100 ml per i mosti concentrati rettificati.

5. MODO DI OPERARE

5.1. Preparazione del campione

5.1.1. Vini

Eliminazione del biossido di carbonio. Porre in una beuta da vuoto 50 ml di vino; agitare e fare contemporaneamente il vuoto mediante la pompa ad acqua. L'agitazione deve durare 1-2 minuti.

5.1.2. *Mosti concentrati rettificati*

Introdurre 200 g di mosto concentrato rettificato pesato esattamente, in un pallone tarato da 500 ml. Portare a volume con acqua. Omogeneizzare.

5.2. **Titolazione potenziometrica**

5.2.1. *Taratura del pHmetro*

Si effettua a 20 °C seguendo le istruzioni date per l'apparecchio utilizzato con la soluzione tampone a pH 7 a 20 °C.

5.2.2. *Modo di operare*

In un recipiente cilindrico (4.4) versare una quantità del campione preparato come descritto al punto 5.1 pari a 10 ml nel caso del vino ed a 50 ml nel caso del mosto concentrato rettificato. Aggiungere 10 ml circa di acqua distillata e aggiungere con la buretta la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2) sino a portare il pH a 7 a 20 °C. L'aggiunta della soluzione alcalina deve essere effettuata lentamente sotto costante agitazione. Sia n il numero di ml di NaOH 0,1 M utilizzati.

5.3. **Titolazione con indicatore (blu di bromotimolo)**

5.3.1. *Prova preliminare: fissazione dello standard di colorazione*

Versare in un recipiente cilindrico (4.4) 25 ml di acqua distillata bollita, 1 ml di soluzione di blu di bromotimolo (3.3) e una quantità di campione preparato come descritto al punto 5.1 pari a 10 ml nel caso del vino ed a 50 ml nel caso del mosto concentrato rettificato. Aggiungere la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2) sino ad ottenere una colorazione blu-verde. Aggiungere 5 ml della soluzione tampone a pH 7 (3.1).

5.3.2. *Dosaggio*

Versare in un recipiente cilindrico (4.4) 30 ml di acqua distillata bollita, 1 ml di soluzione di blu di bromotimolo (3.3), un volume di campione, preparato come indicato al punto 5.1, da 10 ml nel caso del vino e da 50 ml nel caso di mosto concentrato rettificato. Aggiungere la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2) sino ad ottenere una colorazione identica a quella ottenuta con il saggio preliminare (5.3.1). Sia n il numero di ml di soluzione di idrossido di sodio 0,1 M versati.

6. **ESPRESSIONE DEL RISULTATI**

6.1. **Metodo di calcolo**

6.1.1. *Vini*

L'acidità totale, espressa in milliequivalenti per litro, sarà:

$$A = 10 n,$$

il valore è dato con una cifra decimale.

L'acidità totale, espressa in grammi di acido tartarico per litro, sarà:

$$A' = 0,075 \cdot A,$$

il valore è dato con una cifra decimale.

6.1.2. *Mosti concentrati rettificati*

— Acidità totale espressa in milliequivalenti per chilogrammo di mosto concentrato rettificato: $a = 5 \cdot n$

— Acidità totale espressa in milliequivalenti per chilogrammo di zuccheri totali:

$$A = \frac{500 \cdot n}{P}$$

dove P = tenore percentuale (m/m) in zuccheri totali.
Il valore è dato con una cifra decimale.

6.2. Ripetibilità (r): per la titolazione con l'indicatore

$$r = 0,9 \text{ meq/l}$$

$$r = 0,07 \text{ g di acido tartarico/l}$$

6.3. Riproducibilità (R): per la titolazione con l'indicatore (5.3)

Per i vini bianchi e rosati:

$$R = 3,6 \text{ meq/l}$$

$$R = 0,3 \text{ g di acido tartarico/l}$$

Per i vini rossi:

$$R = 5,1 \text{ meq/l}$$

$$R = 0,4 \text{ g di acido tartarico/l}$$

14. ACIDITÀ VOLATILE

1. DEFINIZIONE

L'acidità volatile è costituita dagli acidi appartenenti alla serie acetica che si trovano nel vino allo stato libero o come sali.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Titolazione degli acidi volatili separati dal vino per trascinamento in corrente di vapore d'acqua e rettifica dei vapori.

Il vino viene prima liberato dal biossido di carbonio.

In queste condizioni occorre sottrarre dall'acidità del distillato l'acidità del biossido di zolfo libero e combinato che è stato distillato.

Occorre anche detrarre l'acidità dovuta all'acido sorbico eventualmente aggiunto al vino.

Nota: L'acido salicilico utilizzato in taluni paesi prima dell'analisi per stabilizzare i vini, si ritrova in parte nel distillato. È quindi necessario dosarlo e detrarre dall'acidità volatile. Il metodo di dosaggio è riportato nel punto 7 al presente capitolo.

3. REATTIVI

3.1. Acido tartarico cristallizzato ($C_4H_6O_6$)

3.2. Soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (NaOH)

3.3. Soluzione di fenolftaleina all'1 % in alcol neutro al 96 % vol

3.4. Acido cloridrico ($\rho_{20} = 1,18 - 1,19$ g/ml) diluito $\frac{1}{4}$ (v/v)

3.5. Soluzione 0,005 M di iodio (I_2)

3.6. Ioduro di potassio cristallizzato (KI)

3.7. Salda di amido a 5 g/l

Disperdere 5 g di amido in circa 500 ml di acqua. Portare all'ebollizione agitando e mantenerla per 10 minuti; aggiungere 200 g di cloruro di sodio. Dopo aver lasciato raffreddare portare a 1 l.

3.8. Soluzione satura di tetraborato di sodio ($Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$), cioè circa 55 g/l a 20 °C.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Apparecchio di distillazione in corrente di vapore di acqua composto da:

1. un generatore di vapore d'acqua; il vapore d'acqua prodotto deve essere esente da biossido di carbonio;
2. un gorgogliatore;
3. una colonna di rettifica;
4. un refrigerante.

L'apparecchio deve soddisfare alle condizioni definite dai seguenti tre saggi:

- a) Versare nel gorgogliatore 20 ml di acqua bollita; raccogliere 250 ml di distillato ed addizionarvi 0,1 ml di soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2) e 2 gocce della soluzione di fenolftaleina (3.3); la colorazione rosa deve mantenersi stabile per almeno 10 secondi (vapore d'acqua esente da biossido di carbonio).
- b) Versare nel gorgogliatore 20 ml di una soluzione 0,1 M di acido acetico. Raccogliere 250 ml di distillato. Titolare con la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio

(3.2). Il volume impiegato deve essere almeno pari a 19,9 ml (acido acetico trascinato $\geq 99,5\%$).

- c) Versare nel gorgogliatore 20 ml di una soluzione M di acido lattico. Raccogliere 250 ml di distillato e titolarne l'acidità con la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2).

Il volume impiegato deve essere inferiore o uguale a 1,0 ml (acido lattico distillato $\leq 0,5\%$).

Gli apparecchi o le tecniche che soddisfano a questi saggi sono da considerare apparecchi o tecniche ufficiali internazionali.

4.2. Pompa per vuoto a caduta d'acqua.

4.3. Beuta da vuoto.

5. MODO DI OPERARE

5.1. **Preparazione del campione:** eliminazione del biossido di carbonio.

Versare circa 50 ml di vino in una beuta da vuoto; agitare e creare contemporaneamente il vuoto per mezzo della pompa per vuoto a caduta d'acqua. L'agitazione deve durare 1 o 2 minuti.

5.2. **Trascinamento in corrente di vapore d'acqua**

Versare nel gorgogliatore 20 ml di vino privato, come descritto al punto 5.1, del biossido di carbonio. Aggiungere circa 0,5 g di acido tartarico (3.1). Raccogliere almeno 250 ml di distillato.

5.3. **Titolazione**

Titolare con la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (3.2) in presenza di due gocce di soluzione di fenolftaleina (3.3), sia n il volume in ml impiegato.

Aggiungere 4 gocce di acido cloridrico diluito $\frac{1}{4}$ (3.4), 2 ml di salda di amido (3.7) ed alcuni cristalli di ioduro di potassio (3.6). Titolare il biossido di zolfo libero con la soluzione 0,005 M di iodio (3.5). Sia n' il volume in ml impiegato.

Aggiungere la soluzione satura di tetraborato di sodio (3.8) sino al ritorno del colore rosa. Titolare il biossido di zolfo combinato con la soluzione 0,005 M di iodio (3.5). Sia n'' il volume in ml impiegato.

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

6.1. **Procedimento di calcolo**

L'acidità volatile espressa in milliequivalenti per litro, con una cifra decimale, sarà:

$$A = 5 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

L'acidità volatile espressa in grammi di acido acetico per litro con due cifre decimali, sarà:

$$0,300 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

6.2. **Ripetibilità (r)**

$$r = 0,7 \text{ meq/l}$$

$$r = 0,04 \text{ g di acido acetico/l}$$

6.3. **Riproducibilità (R)**

$$R = 1,3 \text{ meq/l}$$

$$R = 0,08 \text{ g di acido acetico/l}$$

6.4. Vini addizionati di acido sorbico

Poiché con i primi 250 ml di distillato viene trascinato il 96 % dell'acido sorbico, occorre detrarre la sua acidità dall'acidità volatile tenendo conto che 100 mg di acido sorbico, corrispondono ad una acidità di 0,89 milliequivalenti o di 0,053 g di acido acetico e conoscendo il tenore di acido sorbico (mg/l) determinato a parte.

7. DETERMINAZIONE DELL'ACIDO SALICILICO TRASCINATO NEL DISTILLATO DELL'ACIDITÀ VOLATILE**7.1. Principio**

Una volta determinata l'acidità volatile ed effettuata la correzione per il biossido di zolfo, la presenza di acido salicilico è caratterizzata, dopo acidificazione, dalla colorazione violetta che si forma per addizione di un sale di ferro III.

La determinazione dell'acido salicilico trascinato nel distillato con l'acidità volatile, è effettuata su un secondo distillato avente lo stesso volume di quello su cui è stato effettuato il dosaggio dell'acidità volatile. In tale distillato, si determina l'acido salicilico con un metodo colorimetrico per confronto. Lo si detrae quindi dall'acidità del distillato.

7.2. Reattivi

7.2.1. Acido cloridrico (HCl) ($\rho_{20} = 1,18 - 1,19$ g/ml)

7.2.2. Tiosolfato di sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) in soluzione 0,1 M.

7.2.3. Soluzione di solfato ferrico ammonico [$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \cdot 24 \text{H}_2\text{O}$] al 10 % (m/v).

7.2.4. Soluzione di salicilato di sodio 0,01 M

Soluzione contenente 1,60 g/l di salicilato di sodio ($\text{Na C}_7 \text{H}_5 \text{O}_3$).

7.3. Modo di operare**7.3.1. Caratterizzazione dell'acido salicilico nel distillato dell'acidità volatile**

Subito dopo avere determinato l'acidità volatile ed averla corretta per il biossido di zolfo libero e combinato, aggiungere nella beuta 0,5 ml di acido cloridrico (7.2.1), 3 ml della soluzione 0,1 M di tiosolfato di sodio (7.2.2) ed 1 ml della soluzione di solfato ferrico ammonico (7.2.3).

In presenza di acido salicilico si ha la formazione di una colorazione violetta.

7.3.2. Dosaggio dell'acido salicilico

Nella beuta conica di cui al punto precedente segnare con un trattino di riferimento il volume del distillato. Svotare e quindi lavare la beuta.

Sottoporre a distillazione in corrente di vapori d'acqua una nuova presa di campione da 20 ml di vino e raccogliere il distillato nella beuta riempiendola sino al trattino di riferimento. Aggiungere 0,3 ml di acido cloridrico (7.2.1) e 1 ml della soluzione di solfato ferrico ammonico (7.2.3). Il contenuto della beuta assume una colorazione violetta.

Versare, in una beuta identica a quella recante la tacca di riferimento, acqua distillata sino a raggiungere lo stesso livello del distillato. Aggiungere 0,3 ml di acido cloridrico (7.2.1) e 1 ml di soluzione di solfato ferrico ammonico (7.2.3). Aggiungere con una buretta la soluzione di salicilato di sodio 0,01 M (7.2.4) sino ad ottenere una colorazione violetta della stessa intensità di quella della beuta contenente il distillato di vino.

Sia n''' il numero di millilitri utilizzati.

7.4. Correzione dell'acidità volatile

Detrarre $0,1 \cdot n''$ ml dal volume di n ml di soluzione di idrossido di sodio 0,1 M impiegato per titolare l'acidità del distillato in sede di dosaggio dell'acidità volatile.

15. ACIDITÀ FISSA

1. PRINCIPIO

L'acidità fissa è determinata per differenza tra l'acidità totale e l'acidità volatile.

2. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

L'acidità fissa si esprime:

- in milliequivalenti per litro,
- in grammi di acido tartarico per litro.

16. ACIDO TARTARICO

1. PRINCIPIO DEI METODI

1.1. Metodo di riferimento

L'acido tartarico, precipitato sotto forma di racemato di calcio, viene dosato per via ponderale. Tale dosaggio può essere completato da un dosaggio volumetrico di confronto. Le condizioni di precipitazione (pH, volume totale impiegato, concentrazioni degli ioni precipitanti) sono tali che il racemato di calcio precipita completamente, mentre il tartrato di calcio levogiro D(-) rimane in soluzione.

Il vino, quando è stato addizionato di acido metatartarico che rende incompleta la precipitazione del racemato di calcio, dovrà essere previamente idrolizzato.

1.2. Metodo usuale

L'acido tartarico, isolato mediante una colonna scambiatrice di anioni, è dosato colorimetricamente nell'eluato grazie alla colorazione rossa che dà con l'acido vanadico. Questo eluato contiene anche gli acidi lattico e malico, che non interferiscono nell'analisi.

2. METODO DI RIFERIMENTO

2.1. Metodo ponderale

2.1.1. Reattivi

2.1.1.1. Soluzione di acetato di calcio, contenente 10 g/l di calcio:

Carbonato di calcio (CaCO ₃):	25 g
Acido acetico glaciale (CH ₃ COOH) (ρ ₂₀ = 1,05 g/ml):	40 ml
Acqua q.b. a.:	1 000 l

2.1.1.2. Racemato di calcio cristallizzato: Ca C₄O₆H₄: 4H₂O

In un becher da 400 ml introdurre 20 ml di una soluzione di acido L(+) tartarico contenente 5 g/l, 20 ml di una soluzione di D(-) tartrato di ammonio a 6, 126 g/l e 6 ml della soluzione di acetato di calcio contenente 10 g/l di calcio (2.1.1.1).

Lasciar precipitare per due ore. Raccogliere il precipitato su un crogiuolo filtrante di porosità n. 4 e lavarlo in tre riprese con 30 ml circa di acqua distillata. Essiccare in stufa a 70 °C fino a peso costante. Con le quantità di reattivo adoperate si ottengono circa 340 mg di racemato di calcio cristallizzato.

Conservare in recipiente chiuso.

2.1.1.3. Soluzione precipitante (pH 4,75):

— acido D(-)tartarico:	122 mg
— idrossido di ammonio ($\rho_{20} = 0,97$ g/ml) diluata al 25% (v/v):	0,3 ml
— soluzione di acetato di calcio contenente 10 g/l di calcio:	8,8 ml
— acqua q.b. a:	1 000 ml

Sciogliere l'acido D(-) tartarico e aggiungere l'idrossido di ammonio; portare il volume a 900 ml con acqua; aggiungere 8,8 ml di soluzione di acetato di calcio (2.1.1.1), agitare, aggiustare il pH a 4,75 con l'acido acetico. Portare a 1 litro.

Poiché il racemato di calcio è leggermente solubile in questo liquido, è opportuno aggiungere 5 mg/l di racemato di calcio, agitare per 12 ore e filtrare.

2.1.2. *Modo di operare*

2.1.2.1. Vini non addizionati di acido metatartarico

In un becher da 600 ml, porre 500 ml di soluzione precipitante e 10 ml di vino. Mescolare e favorire la precipitazione sfregando le pareti del becher con l'estremità di una bacchetta di vetro. Lasciar precipitare per 12 ore (una notte).

Filtrare su crogiuolo filtrante di porosità n. 4, tarato e collocato su una beuta a vuoto pulita, facendo in modo che il liquido porti con sé il precipitato. Risciacquare col filtrato il recipiente di precipitazione, in maniera da raccogliere le ultime particelle di precipitato.

Essicare in stufa a 70 °C fino a peso costante. Pesare: sia p il peso di racemato di calcio $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4$ cristallizzato con 4 molecole d'acqua.

2.1.2.2. Vini addizionati di acido metatartarico

In caso di presenza effettiva o sospetta di acido metatartarico nel vino, procedere all'idrolisi di tale acido nelle condizioni seguenti:

In una beuta da 50 ml versare 10 ml di vino e 0,4 ml di acido acetico glaciale (CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05$ g/ml). Chiudere la beuta con un tappo fornito di paraspruzzi e far bollire per 30 minuti. Dopo raffreddamento, travasare in un becher il liquido contenuto nella beuta; risciacquare per due volte la beuta con 5 ml d'acqua e proseguire come indicato più sopra.

Nel calcolo finale, l'acido metatartarico viene computato come acido tartarico.

2.1.3. *Espressioni dei risultati*

Una molecola di racemato di calcio corrisponde a mezza molecola di acido L(+)tartarico del vino.

La quantità di acido tartarico per litro di vino espressa in milliequivalenti con una cifra decimale, è uguale a: 384,5 p.

La quantità di acido tartarico per litro di vino, espressa con una cifra decimale in grammi di acido tartarico, è uguale a: 28,84 p.

La quantità di acido tartarico per litro di vino, espressa con una cifra decimale in grammi di tartrato acido di potassio, è uguale a: 36,15 p.

2.2. **Dosaggio volumetrico di confronto**

2.2.1. *Reattivi*

2.2.1.1. Acido cloridrico (HCl) ($\rho_{20} = 1,18 - 1,19$ g/ml) diluito 1/5 (v/v)

2.2.1.2. Soluzione di EDTA 0,05 M:

EDTA (sale disodico biidrato dell'acido etilendiamminotetra-
cetrico ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$): 18,61 g
Acqua distillata q.b. a: 1 000 ml

2.2.1.3. Soluzione d'idrossido di sodio al 40 % (p/v):

Idrossido di sodio (NaOH): 40 g
Acqua distillata q.b. a: 100 ml

2.2.1.4. Indicatore complessometrico all'acido calconcarbonico 1 % (m/m):

Acido calconcarbonico o acido
2-idrossi-4-sulfo-1-naftilazo-3-naftoico ($C_{21}H_{14}H_2O_7S, 3H_2O$): 1 g
Solfato di sodio anidro (Na_2SO_4): 100 g

2.2.2. *Modo di operare*

Dopo pesata, rimettere il crogiuolo contenente il precipitato di racemato di calcio sulla beuta da vuoto e sciogliere il precipitato con 10 ml di acido cloridrico diluito (2.2.1.1). Lavare il crogiuolo filtrante con 50 ml di acqua distillata.

Aggiungere 5 ml di soluzione di idrossido di sodio al 40 % (2.2.1.3) e 30 mg circa di indicatore (2.2.1.4). Titolare con l'EDTA 0,05 M (2.2.1.2). Sia n il numero di ml impiegati.

2.2.3. *Espressione dei risultati*

La quantità di acido tartarico per litro di vino espressa con una cifra decimale in milliequivalenti, è uguale a: 5 n.

La quantità di acido tartarico per litro di vino espressa con una cifra decimale, in grammi di acido tartarico, è uguale a: 0,375 n.

La quantità di acido tartarico per litro di vino espresso con una cifra decimale, in grammi di tartrato acido di potassio, è uguale a: 0,470 n.

3. **METODO USUALE**

3.1. **Reattivi**

3.1.1. *Per il trattamento preliminare del vino*

3.1.1.1. Acido acetico (CH_3COOH $\rho_{20} = 1,05$ g/ml) diluito al 30 % (v/v).

3.1.1.2. Scambiatore di anioni di forte basicità (per esempio scambiatore di anioni III Merck 20-50 mesh) sotto forma di acetato. Preparare una sospensione dello scambiatore (100 g circa) in 200 ml di acido acetico al 30 % (3.1.1.1).

Lasciare in contatto per almeno 24 ore prima dell'utilizzazione. Conservare lo scambiatore in acido acetico al 30 % per dosaggi ulteriori.

3.1.1.3. Acido acetico CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) diluito allo 0,5 % (v/v).

3.1.1.4. Soluzione di solfato di sodio a 7,1 g per 100 ml.

Sciogliere 71 g di solfato di sodio (Na_2SO_4) anidro in acqua distillata e portare a 1 000 ml con acqua distillata.

3.1.2. *Per il dosaggio dell'acido tartarico*

3.1.2.1. Soluzione di acetato di sodio (CH_3COONa) al 27 % (m/v).

Sciogliere 270 g di acetato di sodio anidro, CH_3COONa in acqua distillata e portare a 1 000 ml.

3.1.2.2. Reattivo vanadico:

Sciogliere 10 g di metavanadato di ammonio, (NH_4VO_3) in 150 ml di soluzione di idrossido di sodio 1 M (3.1.2.10). Travasare questa soluzione in un matraccio tarato da 500 ml, aggiungere 200 ml della soluzione di acetato di sodio al 27 % (3.1.2.1). Portare a 500 ml con acqua distillata.

3.1.2.3. Soluzione di H_2SO_4 (1 M).

3.1.2.4. Soluzione di H_2SO_4 (0,5 M).

3.1.2.5. Soluzione di H_2SO_4 (0,05 M).

3.1.2.6. Soluzione di acido periodico (0,05 M).

In un matraccio tarato da 1 000 ml, introdurre 10,696 g di periodato di sodio, NaIO_4 , 50 ml di acido solforico 0,5 M (3.1.2.4) e portare a 1 000 ml con acqua distillata.

3.1.2.7. Soluzione di glicerolo al 10 % (m/v).

In un matraccio tarato da 100 ml, porre 10 g di glicerolo $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$; portare a 100 ml con acqua distillata.

3.1.2.8. Soluzione di solfato di sodio a 7,1 g per 100 ml (vedi 3.1.1.4).

3.1.2.9. Soluzione di acido tartarico a 1 g/l.

Introdurre, in un matraccio tarato da 500 ml, 0,5 g di acido tartarico, 6,66 ml di soluzione di idrossido di sodio 1 M (3.1.2.10) e portare a 500 ml con la soluzione di solfato di sodio al 7,1 % (3.1.1.4).

3.1.2.10. Soluzione di idrossido di sodio, NaOH , 1 M.

3.2. **Apparecchiatura**

3.2.1. Colonne di vetro lungo circa 300 mm e con diametro interno di 10-11 mm, munita di un rubinetto.

3.2.2. Spettrofotometro per misure di assorbanza a 490 nm corredato di celle a cammino ottico di 10 mm.

3.3. **Modo di operare**

3.3.1. *Preparazione della colonna scambiatrice di ioni*

Porre nella colonna di vetro sopra il rubinetto (3.2.1), un tampone di lana di vetro e impregnarlo di acqua distillata. Versare nella colonna 10 ml della sospensione di scambia-

tore di ioni sotto forma di acetato (3.1.1.2). Lasciare decantare. Porre un tampone di lana di vetro sulla superficie dello scambiatore depositato (in modo da evitare che durante gli ulteriori lavaggi lo scambiatore sia rimesso in sospensione).

Lo scambiatore deve essere usato una sola volta.

3.3.2. *Isolamento degli acidi organici*

Con il rubinetto aperto, lasciare defluire la soluzione di acido acetico sino a circa 2-3 mm al di sopra del tampone di lana di vetro situato sopra lo scambiatore.

Aggiungere 10 ml di soluzione di acido acetico allo 0,5 % (3.1.1.3), lasciando quindi defluire il liquido sino allo stesso livello della precedente operazione. Ripetere il lavaggio altre 4 volte.

Dopo l'ultimo lavaggio, tenendo chiuso il rubinetto, versare sullo scambiatore 10 ml di vino o di mosto. Lasciare defluire il vino goccia a goccia (flusso medio di 1 goccia al secondo) e sospendere il deflusso immediatamente al di sopra dello scambiatore. Aggiungere nuovamente nella colonna 10 ml di soluzione di acido acetico allo 0,5 % (3.1.1.3), lasciare defluire alla stessa velocità della precedente operazione e lavare ancora 7 volte utilizzando ogni volta 10 ml di acqua. All'ultimo lavaggio, chiudere il rubinetto non appena il livello del liquido si trova poco al di sopra del tampone di lana di vetro superiore.

Eluire gli acidi fissati sullo scambiatore mediante la soluzione di solfato di sodio al 7,1 % (3.1.1.4); raccogliere l'eluato in un matraccio tarato da 100 ml riempiendolo sino al segno di riferimento.

3.3.3. *Dosaggio dell'acido tartarico*

3.3.3.1. *Vini non addizionati di acido metatartarico.*

In due beute, *a* e *b*, introdurre 20 ml di eluato.

La beuta *a* serve per la determinazione mentre la beuta *b* nella quale l'acido tartarico viene distrutto per azione dell'acido periodico, serve per la prova in bianco.

Introdurre nella beuta *a*:

- 2 ml di H_2SO_4 M (3.1.2.3),
- 5 ml di H_2SO_4 0,05 M (3.1.2.5),
- 1 ml di glicerolo al 10 % (3.1.2.7);

Introdurre nella beuta *b*:

- 2 ml di H_2SO_4 M (3.1.2.3),
- 5 ml di soluzione di acido periodico 0,05 M (3.1.2.6).

Aspettare 15 minuti; aggiungere:

1 ml di soluzione di glicerolo al 10 % (3.1.2.7) per distruggere l'eccesso di acido periodico.

Aspettare 2 minuti.

Versare quindi agitando, dapprima nella beuta *b* e subito dopo nella beuta *a*, 5 ml di reattivo vanadico (3.1.2.2). Fare scattare immediatamente un cronometro e versare il contenuto delle beute *a* e *b* nelle celle dello spettrofotometro. Dopo 90 secondi misurare l'assorbanza a 490 nm del liquido proveniente dalla beuta *a* (dosaggio) in confronto al bianco (beuta *b*).

Se l'eluato è troppo ricco in acido tartarico e l'assorbanza è quindi troppo elevata, diluirlo con la soluzione di solfato di sodio al 7,1 % e procedere alla misura della soluzione diluita.

3.3.3.2. Vini addizionati di acido metatartarico

Nel caso di un vino addizionato di acido metatartarico o che si sospetti tale, procedere all'idrolisi di tale acido come è indicato per il metodo di riferimento.

Dopo raffreddamento, versare il contenuto della beuta e le acque di lavaggio (2 volte 5 ml) in testa alla colonna dello scambiatore. Continuare come sopra descritto.

Nel risultato del dosaggio l'acido metatartarico è espresso come acido tartarico.

3.3.4. *Determinazione della curva di taratura*

Versare 10, 20, 30, 40 e 50 ml della soluzione di acido tartarico a 1 g/l (3.1.2.9) nei palloni tarati da 100 ml e portare a volume con la soluzione di solfato di sodio al 7,1 %/100 ml (3.1.1.4). Le concentrazioni di queste soluzioni corrispondono ad eluati di vini contenenti 1, 2, 3, 4 e 5 g di acido tartarico per litro.

Versare, in 2 beute *a* e *b*, 20 ml di queste soluzioni e continuare come descritto sopra per l'eluato di vino.

La rappresentazione grafica delle assorbanze di queste soluzioni in funzione del tenore in acido tartarico è una retta che si incurva leggermente in prossimità dello zero. Se occorre, disegnare con maggiore precisione questa parte della curva misurando soluzioni a titolo esattamente noto inferiori a 1,0 g/l.

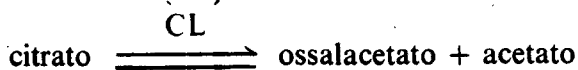
3.3.5. *Espressione dei risultati*

Riportare l'assorbanza misurata per l'eluato sulla curva di taratura per ottenere il tenore in acido tartarico del vino espresso in grammi per litro con una cifra decimale.

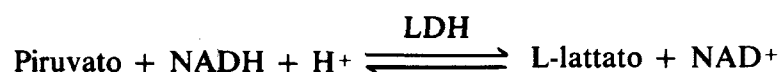
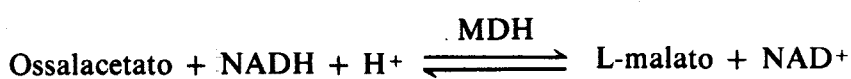
17. ACIDO CITRICO

1. PRINCIPIO DEI METODO

L'acido citrico viene trasformato in ossalacetato e acetato in una reazione catalizzata dalla citrato-liasi (CL):



In presenza della malato-deidrogenasi (MDH) e della lattato-deidrogenasi (LDH), l'ossalacetato e il suo derivato di decarbossilazione, il piruvato, vengono ridotti dal nicotinamide — adenina-dinucleotide ridotto (NADH) a L-malato ed a L-lattato:



In queste reazioni, la quantità di NADH ossidato a NAD⁺ è proporzionale al citrato presente. L'ossidazione dell'NADH viene misurata dalla diminuzione della sua assorbanza alla lunghezza d'onda di 340 nm.

2. REATTIVI

2.1. Tampone a pH 7,8

(glicilglicina 0,51 M; pH 7,8 Zn²⁺: 0,6 · 10⁻³ M):

sciogliere in circa 70 ml di acqua bidistillata 7,13 g di glicilglicina;

portare il pH a 7,8 con circa 13 ml di soluzione di idrossido di sodio 5 M; aggiungere 10 ml di soluzione di cloruro di zinco ZnCl₂ 80 mg/100 ml; portare a 100 ml con acqua bidistillata.

La soluzione rimane stabile a + 4 °C per almeno 4 settimane.

2.2. Soluzione di nicotinammide-adenina-dinucleotide ridotto (NADH), circa 6 · 10⁻³ M, sciogliere 30 mg di NADH e 60 mg di NaHCO₃ in 6 ml di acqua bidistillata.

2.3. Soluzione di malato deidrogenasi/lattato deidrogenasi (MDH/LDH) (0,5 mg MDH/ml; 2,5 mg/ml): miscelare 0,1 ml di MDH (5 mg MDH/ml), 0,4 ml di soluzione di solfato di ammonio (3,2 M) 1 0,5 ml di LDH (5 mg/ml). A 4 °C questa sospensione si mantiene stabile per almeno un anno.

2.4. Citrato-liasi CL (5 mg di proteina/ml): sciogliere in un ml di acqua ghiacciata 168 mg di liofilizzato. Alla temperatura di 4 °C la soluzione si mantiene stabile per almeno una settimana e se congelata per almeno 4 settimane.

Prima del dosaggio si raccomanda di procedere alla verifica dell'attività dell'enzima.

2.5. Polivinilpolipirrolidone (PVPP)

Nota: L'insieme dei reattivi necessari per la determinazione si trova pronto in commercio.

3. APPARECCHIATURA

3.1. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni a 340 nm, massimo di assorbimento dell'NADH.

In alternativa si può usare, il fotometro a spettro discontinuo con lunghezza d'onda a 334 nm o a 365 nm. Poiché si tratta di misure assolute di assorbanza (senza curva di taratura ma con riferimento al coefficiente di estinzione del NADH), occorre controllare le scale delle lunghezze d'onda e delle assorbanze dell'apparecchio.

3.2. Celle di vetro con cammino ottico di 1 cm o celle monouso.

3.3. Micropipette per il prelievo di volumi compresi tra 0,02 e 2 ml.

4. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il dosaggio del citrato si effettua in genere direttamente sul vino senza preventiva decolorazione o diluizione, a condizione che il tenore in acido citrico sia inferiore a 400 mg/l. In caso contrario diluire il vino in modo che la concentrazione in citrato sia compresa tra 20 e 400 mg/l (quantità di citrato nella presa di campione compresa fra 5 µg e 80 µg).

Nel caso del vino rosso ricco di composti fenolici, si raccomanda di trattarlo preliminarmente con la PVPP:

mettere in sospensione nell'acqua 0,2 gr circa di PVPP, lasciare riposare per 15 minuti. Filtrare su filtro a pieghe.

Addizionare a 10 ml di vino versato in una beuta conica da 50 ml, il PVPP umido prelevato dal filtro con la spatola. Agitare per 2-3 minuti. Filtrare.

5. MODO DI OPERARE

Regolato lo spettrofotometro sulla lunghezza d'onda di 340 nm, effettuare le misure di assorbanza in celle da 1 cm dopo aver aggiustato l'apparecchio allo zero di assorbanza contro aria (senza la cella sul percorso ottico).

Introdurre nelle celle da 1 cm:

	bianco	campione
soluzione 2.1	1,00 ml	1,00 ml
soluzione 2.2	0,10 ml	0,10 ml
campione	--	0,20 ml
acqua bidistillata	2,00 ml	1,80 ml
soluzione 2.3	0,02 ml	0,02 ml

Mescolare; dopo circa 5 minuti leggere le assorbanze della soluzione del bianco e di quella del campione (A_1).

Aggiungere:

soluzione 2.4	0,02 ml	0,02 ml
---------------	---------	---------

Mescolare; attendere che la reazione abbia termine (circa 5 minuti) e leggere le assorbanze della soluzione del bianco e del campione (A_2).

Determinare le differenze di assorbanza ($A_1 - A_2$) del bianco e del campione.

Sottrarre la differenza delle assorbanze del bianco dalla differenza delle assorbanze del campione: $\Delta A = \Delta A_C - \Delta A_B$

Nota: il tempo necessario per l'azione degli enzimi può variare da un lotto all'altro; qui viene dato soltanto a titolo indicativo. Se ne raccomanda la determinazione per ciascun lotto.

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il tenore in acido citrico è dato in mg per litro (mg/l) senza cifre decimali.

6.1. Metodo di calcolo

La concentrazione in milligrammi per litro è data dalla seguente formula generale:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta A$$

dove:

V = volume in ml della soluzione impiegata per la prova (in questo caso 3,14 ml)

v = volume del campione in ml (in questo caso 0,2 ml)

PM = peso molecolare della sostanza da dosare (in questo caso acido citrico anidro = 192,1)

d = cammino ottico della cella in cm (in questo caso 1 cm)

ϵ = coefficiente di assorbanza dell'NADH a 340 nm,

$\epsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Si ottiene:

$$C = 479 \cdot \Delta A$$

Se per preparare il campione è stata effettuata una diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Nota:

a 334 nm : $C = 488 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 6,2 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

a 365 nm : $C = 887 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 3,4 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

6.2. Ripetibilità (r)

Tenore in acido citrico inferiore a 400 mg/l: r = 14 mg/l

Tenore in acido citrico superiore a 400 mg/l: r = 28 mg/l

6.3. Riproducibilità (R)

Tenore in acido citrico inferiore a 400 mg/l: R = 39 mg/l

Tenore in acido citrico superiore a 400 mg/l: R = 65 mg/l.

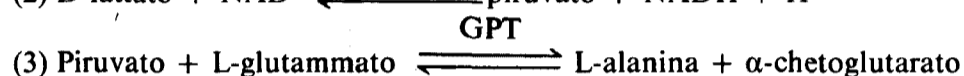
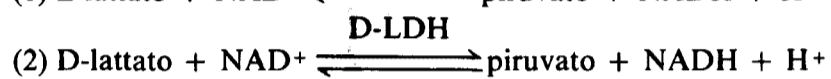
18. ACIDO LATTICO

1. PRINCIPIO DEL METODO

1.1. Metodo di riferimento

L'acido lattico totale (L-lattato e D-lattato) viene ossidato, in presenza di nicotinammide-adenina-dinucleotide (NAD), a piruvato mediante una reazione catalizzata dalla L-lattato deidrogenasi (L-LDH) e dalla D-lattato deidrogenasi (D-LDH).

L'equilibrio della reazione è spostato verso il lattato. L'eliminazione del piruvato dal mezzo di reazione sposta l'equilibrio della reazione nel verso della formazione di piruvato. In presenza di L-glutammato, il piruvato è trasformato in L-alanina con una reazione catalizzata dal glutammato-piruvato-transaminasi (GPT)



La formazione di NADH, misurata dall'aumento di assorbanza alla lunghezza d'onda di 340 nm, è proporzionale alla quantità di lattato presente.

Nota:

L'acido L-lattico può essere determinato singolarmente mediante le reazioni (1) e (3).

L'acido D-lattico può essere determinato singolarmente mediante le reazioni (2) e (3).

1.2. Metodo usuale

L'acido lattico, separato su colonna di resina scambiatrice di anioni viene ossidato a etanale e dosato per colorimetria dopo reazione con nitroprussiato di sodio e piperidina.

2. METODO DI RIFERIMENTO

2.1. Reattivi

2.1.1. Soluzione tampone a pH 10 (glicilglicina a 0,6 mole/l; L-glutammato a 0,1 mole/l).

Sciogliere in circa 50 ml di acqua bidistillata 4,75 g di glicilglicina, e 0,88 g di acido L-glutammico; portare a pH 10 con alcuni ml di soluzione di idrossido di sodio a 10 M e portare a 60 ml con acqua bidistillata.

Alla temperatura di 4 °C la soluzione si mantiene stabile per almeno 12 settimane.

2.1.2. Soluzione di nicotinammide-adenina-dinucleotide (NAD) a circa $40 \cdot 10^{-3}$ M; sciogliere in 30 ml di acqua bidistillata 900 mg di NAD. Alla temperatura di 4 °C la soluzione si mantiene stabile per almeno 4 settimane.

2.1.3. Sospensione di glutammato-piruvato-transaminasi (GPT) a 20 mg/ml. Alla temperatura di 4 °C la sospensione si mantiene stabile per almeno 1 anno.

2.1.4. Sospensione di L-lattato-deidrogenasi (L-LDH) a 5 mg/ml. Alla temperatura di 4 °C la sospensione si mantiene stabile per almeno 1 anno.

2.1.5. Sospensione di D-lattato-deidrogenasi (D-LDH) a 5 mg/ml. Alla temperatura di 4 °C la sospensione si mantiene stabile per almeno 1 anno.

Prima del dosaggio si raccomanda di procedere alla verifica dell'attività dell'enzima.

Nota: Il complesso dei reattivi necessari è reperibile in commercio.

2.2. Apparecchiatura

2.2.1. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni a 340 nm, e massimo di assorbimento dell'NADH.

In alternativa può essere impiegato un fotometro a spettro discontinuo con lunghezza d'onda a 334 nm o a 365 nm.

Poiché si tratta di misurazioni assolute di assorbanza (senza curva di taratura, ma con riferimento al coefficiente di estinzione del NADH), occorre controllare le scale delle lunghezze d'onda e delle assorbanze dell'apparecchio.

2.2.2. Celle di vetro con cammino ottico da 1 cm o celle monouso.

2.2.3. Micropipette per il prelievo di volumi compresi tra 0,02 e 2 ml.

2.3. Preparazione del campione

Evitare di toccare con le dita la parte di vetreria che viene a contatto con il mezzo di reazione in quanto ciò potrebbe apportare acido L-lattico che falserebbe il risultato.

Se la concentrazione in acido lattico è inferiore a 100 mg/l, il dosaggio del lattato si effettua in genere direttamente sul vino senza decolorazione preliminare e senza diluizione. Se la concentrazione in acido lattico è compresa tra:

100 mg/l e 1 g/l, diluire $1/10$ con acqua bidistillata,

1 g/l e 2,5 g/l, diluire $1/25$ con acqua bidistillata,

2,5 g/l e 5 g/l, diluire $1/50$ con acqua bidistillata.

2.4. Modo di operare

2.4.1. Dosaggio dell'acido lattico totale

Prima di procedere al dosaggio la soluzione tampone deve essere portata a 20-25 °C.

Regolato lo spettrofotometro sulla lunghezza d'onda di 340 nm, effettuare le misure di assorbanza nelle celle da 1 cm, aggiustando l'apparecchio allo zero di assorbanza contro aria (togliendo la cella dal percorso ottico) o contro acqua.

Introdurre nelle celle da 1 cm:

	bianco	campione
soluzione 2.2.1	1,00 ml	1,00 ml
soluzione 2.1.2	0,20 ml	0,20 ml
acqua bidistillata	1,00 ml	0,80 ml
sospensione 2.1.3	0,02 ml	0,02 ml
campione	--	0,20 ml

Mescolare mediante una bacchetta di vetro o di materiale sintetico provvista di una estremità appiattita; dopo circa 5 minuti misurare le assorbanze delle soluzioni del bianco e del campione (A_1).

Aggiungere 0,02 ml di soluzione 2.1.4 e 0,05 ml di soluzione 2.1.5, omogeneizzare, attendere la fine della reazione circa 30 minuti misurare le assorbanze delle soluzioni del bianco e del campione (A_2).

Determinare le differenze di assorbanza ($A_2 - A_1$) del bianco e del campione.

Detrarre la differenza di assorbanza del bianco dalla differenza di assorbanza del campione:

$$\Delta A = \Delta A_C - \Delta A_B$$

2.4.2. *Dosaggio dell'acido L-lattico e dell'acido D-lattico*

Il dosaggio dell'acido L-lattico e D-lattico può essere realizzato singolarmente applicando il modo di operare indicato per l'acido lattico totale, ma operando come segue una volta determinato A_1 :

Aggiungere 0,02 ml di soluzione 2.1.4, omogeneizzare, aspettare la fine della reazione (circa 20 minuti) e misurare le assorbanze delle soluzioni del bianco e del campione (A_2).

Aggiungere 0,05 ml di soluzione 2.1.5, omogeneizzare, attendere che la reazione abbia termine (30 minuti circa) e misurare le assorbanze delle soluzioni del bianco e del campione (A_3).

Determinare le differenze di assorbanze ($A_2 - A_1$) per l'acido L-lattico e ($A_3 - A_2$) per l'acido D-lattico del bianco e del campione.

Detrarre la differenza di assorbanza del bianco dalla differenza di assorbanze del campione:

$$\Delta A = \Delta A_C - \Delta A_B$$

Nota: Il tempo necessario per l'azione degli enzimi può variare da un lotto all'altro. Qui viene riportato soltanto a titolo indicativo. Se ne raccomanda la determinazione per ciascun lotto. Quando si dosa soltanto l'acido L-lattico, il tempo di incubazione dopo l'aggiunta della L-lattato deidrogenasi può essere ridotto a 10 minuti.

2.5. *Espressione dei risultati*

La concentrazione in acido lattico è espressa in grammi per litro (g/l) con una cifra decimale.

2.5.1. *Procedimento di calcolo*

La concentrazione in grammi per litro si calcola mediante la formula generale:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta A$$

V = volume in ml della soluzione impiegata per la prova ($V = 2,24$ ml per l'acido L-lattico, $V = 2,29$ ml per l'acido D-lattico e per l'acido lattico totale)

v = volume del campione in ml (in questo caso 0,2 ml)

PM = peso molecolare della sostanza da dosare (in questo caso acido DL lattico = 90,08)

d = cammino ottico della cella in cm (in questo caso 1 cm)

ϵ = coefficiente di assorbanza dell'NADH a 340 nm,
 $\epsilon = 6,3$ (mmole⁻¹ · l · cm⁻¹).

2.5.1.1. *Acido lattico totale e acido D-lattico*

$$C = 0,164 \cdot \Delta A$$

Se per la preparazione del campione è stata effettuata una diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Avvertenza:

Misura a 334 nm: $C = 0,167 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 6,2$ mmole⁻¹ · l · cm⁻¹)

Misura a 365 nm: $C = 0,303 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 3,4$ mmole⁻¹ · l · cm⁻¹)

2.5.1.2. Acido L-lattico

$$C = 0,160 \cdot \Delta A$$

Se per la preparazione del campione è stata effettuata una diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Avvertenza:

misura a 334 nm: $C = 0,163 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 6,2 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

misura a 365 nm: $C = 0,297 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 3,4 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

2.5.2. Ripetibilità (*r*)

$$r = 0,02 + 0,07 X_i \text{ g/l}$$

X_i = concentrazione in acido lattico del campione espressa in grammi per litro

2.5.3. Riproducibilità (*R*)

$$R = 0,05 + 0,125 X_i \text{ g/l}$$

X_i = concentrazione in acido lattico del campione espressa in grammi per litro

3. METODO USUALE

3.1.1. Per il trattamento preliminare del vino

Fare riferimento al punto 3.1.1 del capitolo «acido tartarico», metodo usuale.

3.1.2. Per il dosaggio dell'acido lattico

3.1.2.1. Soluzione 0,1 M di solfato di cerio IV in acido solforico 0,35 M.

Sciogliere a freddo 40,431 g di solfato di cerio IV $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, in 350 ml di una soluzione M di acido solforico titolata con esattezza (3.1.2.4). Portare a 1 000 ml con acqua distillata.

3.1.2.2. Soluzione di idrossido di sodio (NaOH) 2,5 M.

3.1.2.3. Soluzione di acetato di sodio a 270 g per litro (preparata con acetato di sodio secco CH_3COONa).3.1.2.4. Soluzione di acido solforico (H_2SO_4) 1 M.3.1.2.5. Soluzione di nitroprussiato di sodio $[\text{Na}_2(\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ al 2 % (m/v).

Conservare al buio in un flacone ben chiuso.

Periodo massimo di conservazione della soluzione: 8 giorni.

3.1.2.6. Soluzione di piperidina ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}$) al 10 % (v/v).

3.1.2.7. Soluzione di acido lattico M.

Diluire 100 ml di acido lattico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) in 400 ml di acqua. Versare questa soluzione in una capsula e riscaldarla in bagno di acqua bollente per ore 4 reintegrando ogni tanto il volume con acqua distillata. Dopo raffreddamento portare a un litro. Titolare l'acido lattico su 10 ml di questa soluzione con una soluzione di idrossido di sodio M (3.1.2.8). Portare la soluzione a 1 M di acido lattico (90 g).

3.1.2.8. Soluzione di idrossido di sodio (NaOH) 1 M.

3.2. Apparecchiatura

- 3.2.1. Colonna in vetro di circa 300 mm di lunghezza e con diametro interno da 10-11 mm, provvista di un regolatore di flusso (rubinetto).
- 3.2.2. Bagnomarie regolato a 65 °C.
- 3.2.3. Spettrofotometro regolato alla lunghezza d'onda di 570 nm corredato di celle a cammino ottico da 1 cm.

3.3. Modo di operare**3.3.1. Preparazione della colonna di scambiatori di ioni**

Fare riferimento al punto 3.3.1 del capitolo «acido tartarico», metodo usuale.

3.3.2. Isolamento degli acidi organici

Fare riferimento al punto 3.3.2 del capitolo «acido tartarico», metodo usuale.

3.3.3. Dosaggio dell'acido lattico

Versare 10 ml di eluato in una provetta da 50 ml provvista di un tappo smerigliato, aggiungere 10 ml di soluzione di solfato di cerio (3.1.2.1). Agitare; mettere la provetta in bagnomaria termostata a 65 °C, per 10 minuti esatti. Al momento dell'immersione sollevare per qualche secondo il tappo di vetro in modo da compensare la pressione dovuta al riscaldamento, chiudendo quindi ermeticamente la provetta in modo da evitare le perdite di etanale formatosi. Estrarre quindi il tubo dal bagno, raffreddare in acqua corrente sino a una temperatura prossima ai 20 °C, aggiungere 5 ml della soluzione di idrossido di sodio 2,5 M (3.1.2.2), mescolare e filtrare.

Prelevare 15 ml di filtrato e versarli in una beuta da 50 ml, con tappo smerigliato, contenente una miscela omogenea di 5 ml di soluzione di acetato di sodio al 27 % (3.1.2.3) e di 2 ml di acido solforico M (3.1.2.4). Aggiungere 5 ml della soluzione di nitroprussiato di sodio (3.1.2.5), mescolare, aggiungere quindi 5 ml della soluzione di piperidina (3.1.2.6), mescolare rapidamente e introdurre immediatamente la soluzione ottenuta nella cella dello spettrofotometro. Misurare la colorazione prodotta, che varia dal verde al violetto, a 570 nm rispetto all'aria (senza cella nel cammino ottico); essa aumenta per poi diminuire rapidamente.

Seguire l'andamento dell'assorbanza corrispondente e scegliere come valore definitivo il suo valore massimo.

Se l'eluato è troppo ricco in acido lattico e l'assorbanza è troppo elevata, diluire l'eluato con la soluzione di solfato di sodio al 7,1 % (3.1.1) ed effettuare la misura sulla soluzione diluita.

3.3.4. Determinazione della curva di taratura

Introdurre 10 ml della soluzione di acido lattico 1 M (3.1.2.7) e 10 ml di soluzione titolata di idrossido di sodio 1 M (3.1.2.8) in un matraccio tarato da 1 000 ml e portare a volume con la soluzione di solfato di sodio al 7,1 %. Prelevarne quindi, 5, 10, 15, 20 e 25 ml e versarli in palloni tarati da 100 ml. Portare a volume con la soluzione di solfato di sodio al 7,1 % (3.1.1). Prelevare 10 ml delle soluzioni così ottenute e determinare per ciascuna di esse il valore dell'assorbanza secondo il procedimento descritto al punto 3.3.3 per l'eluato.

Queste soluzioni corrispondono agli eluati ottenuti da vini contenenti 0,45 - 0,9 - 1,35 - 1,80 e 2,25 g/l di acido lattico.

La rappresentazione grafica delle assorbanze di queste soluzioni in funzione del tenore in acido lattico è una retta.

3.4. Espressione dei risultati

Riportando sulla curva di taratura l'assorbanza misurata per l'eluato si ottiene il tenore in acido lattico del vino espresso in grammi per litro.

Tale tenore deve essere espresso con una cifra decimale.

Nota: i vini contenenti più di 250 mg/l di biossido di zolfo possono presentare una certa concentrazione di acido etanalsolfonico che viene computato come acido lattico. In questo caso bisogna correggere il risultato della determinazione con quello ottenuto con la seguente operazione complementare: in una provetta con tappo smerigliato mescolare 15 ml di eluato con 5 ml di acetato di sodio al 27 % (3.1.2.3) e 2 ml di H₂SO₄ 0,775 M (77,5 ml H₂SO₄ M portati a 100 ml con acqua distillata). Come nella determinazione dell'acido lattico, si aggiungono quindi 5 ml di nitroprussiato di sodio al 2 % (3.1.2.5) e 5 ml di piperidina al 10 % (3.1.2.6). Dopo aver mescolato, misurare l'assorbanza nelle condizioni descritte per la determinazione dell'acido lattico. Riportando tale valore dell'assorbanza sulla retta di taratura si ottiene il valore apparente B dell'acido lattico in grammi per litro dovuto all'acido etanalsolfonico. Se L' è il tenore apparente in acido lattico del vino espresso in grammi per litro, il tenore effettivo L in acido lattico si ottiene con:

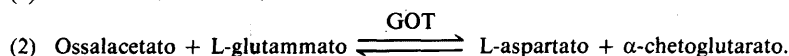
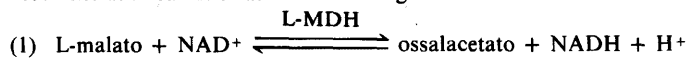
$$L = L' - B \cdot 0,4 \text{ (g/l)}.$$

19. ACIDO L-MALICO

1. PRINCIPIO DEL METODO

L'acido L-malico (L-malato) viene ossidato in presenza di nicotinammide-adenina-dinucleotide (NAD), a ossalacetato mediante una reazione catalizzata dalla L-malato-deidrogenasi (L-MDH).

L'equilibrio della reazione è spostato verso il malato. L'eliminazione dell'ossalacetato dal mezzo di reazione sposta l'equilibrio della reazione nel senso della formazione dell'ossalacetato. In presenza di L-glutammato, l'ossalacetato viene trasformato in L-aspartato, mediante una reazione catalizzata dalla glutammato-ossalacetato-transaminasi (GOT).



La formazione di NADH misurata attraverso l'aumento di assorbanza alla lunghezza d'onda di 340 nm, è proporzionale alla quantità di L-malato presente.

2. REATTIVI

- 2.1. Tamponi a pH 10
(glicilglicina 0,60 M, L-glutammato 0,1 M)

Sciogliere in circa 50 ml di acqua bidistillata 4,75 g di glicilglicina e 0,88 g di acido L-glutammico; correggere il pH a 10 con circa 4,6 ml di soluzione di idrossido di sodio 10 M e portare a 60 ml con acqua bidistillata.

Alla temperatura di 4 °C la soluzione si mantiene stabile per almeno 12 settimane.

- 2.2. Soluzione di nicotinammide-adenina-dinucleotide (NAD), circa $47 \cdot 10^{-3}$ M: sciogliere in 12 ml di acqua bidistillata 420 mg di NAD. Alla temperatura di + 4 °C la soluzione si mantiene stabile per almeno 4 settimane.
- 2.3. Sospensione di glutammato-ossalacetato-transaminasi (GOT) a 2 mg/ml. Alla temperatura di + 4 °C la sospensione si mantiene stabile per almeno un anno.
- 2.4. Soluzione di L-malato-deidrogenasi (L-MDH) a 5 mg/ml. Alla temperatura di + 4 °C la soluzione si mantiene stabile per almeno un anno.

Osservazione: Il complesso dei reattivi necessari per il dosaggio è reperibile in commercio.

3. APPARECCHIATURA

- 3.1. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni a 340 nm, massimo di assorbimento dell'NADH

In alternativa può essere utilizzato un fotometro a spettro discontinuo con lunghezza d'onda a 334 nm o a 365 nm.

Poiché si tratta di misurazioni assolute di assorbanza (senza curva di taratura, ma riferite al coefficiente di estinzione dell'NADH), occorre controllare le scale delle lunghezze d'onda e delle assorbanze dell'apparecchio.

- 3.2. Celle di vetro con un cammino ottico di 1 cm o celle monouso.
- 3.3. Micropipette che consentano di prelevare volumi compresi tra 0,01 e 2 ml.

4. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

In genere la determinazione dell'L-malato si effettua direttamente sul vino senza preventiva decolorazione e senza diluizione, a condizione che il tenore in acido L-malico sia

inferiore a 350 mg/l per misurazioni a 365 nm. In caso contrario, diluire il vino con acqua bidistillata in modo che la concentrazione in L-malato si porti fra 30 e 350 mg/l (quantità di L-malato nel campione di saggio compresa fra 3 e 35 µg).

Se la concentrazione di malato nel vino è inferiore a 30 mg/l, il volume della pesata può essere aumentato sino ad 1 ml. In questo caso ridurre il volume di acqua da aggiungere in modo da avere gli stessi volumi totali nelle due celle.

5. MODO DI OPERARE

Con lo spettrofotometro regolato sulla lunghezza d'onda 340 nm, effettuare le misure di assorbanza nelle celle aventi un cammino ottico di 1 cm, aggiustando l'apparecchio allo zero di assorbanza contro aria (togliendo la cella dal percorso ottico) o contro acqua.

Introdurre nelle celle da 1 cm:

	Bianco	Campione
Soluzione 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Soluzione 2.2	0,20 ml	0,20 ml
Acqua distillata	1,00 ml	0,90 ml
Sospensione 2.3	0,01 ml	0,01 ml
Campione	--	0,10 ml

Mescolare. Dopo circa 3 minuti, misurare le assorbanze delle soluzioni del bianco e del campione da dosare (A_1).

Aggiungere:

Soluzione 2.4	0,01 ml	0,01 ml
---------------	---------	---------

Mescolare. Attendere la fine della reazione (circa 5-10 minuti) e misurare le assorbanze delle soluzioni del bianco e del campione (A_2).

Determinare le differenze delle assorbanze ($A_2 - A_1$) del bianco e del campione.

Detrarre la differenza delle assorbanze del bianco dalla differenza delle assorbanze del campione.

$$\Delta A = \Delta A_C - \Delta A_B$$

Osservazione: Il tempo necessario per l'azione degli enzimi può variare da un lotto all'altro. Quello sopra riportato è dato soltanto a titolo indicativo. Si raccomanda di determinarlo per ciascun lotto.

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

La concentrazione in acido L-malico è espressa in grammi per litro (g/l) con una cifra decimale.

6.1. Metodo di calcolo

La concentrazione in grammi per litro è calcolata con la formula generale:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta A$$

V = volume in ml della soluzione impiegata per la prova (in questo caso 2,22 ml)

v = volume del campione in ml (in questo caso 0,1 ml)

PM = peso molecolare della sostanza da dosare (in questo caso acido L-malico = 134,09)

d = cammino ottico della cella in cm (in questo caso 1 cm)

ϵ = coefficiente di assorbanza del NADH: a 340 nm $\epsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$

Per il L-malato si ottiene:

$$C = 0,473 \cdot \Delta A \text{ g/l.}$$

Se per la preparazione del campione è stata effettuata una diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Nota:

misura a 334 nm $C = 0,482 \times \Delta A$

misura a 365 nm $C = 0,876 \times \Delta A$

6.2. Ripetibilità (r)

$$r = 0,03 + 0,034 x_i$$

x_i = concentrazione in acido malico del campione espressa in g/l.

6.3. Riproducibilità (R)

$$R = 0,05 + 0,071 x_i$$

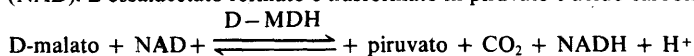
x_i = concentrazione in acido malico del campione in g/l.

20. ACIDO D-MALICO (metodo enzimatico)

TEST COMBINATO PER 30 DETERMINAZIONI CIRCA

1. PRINCIPIO DEI METODO

In presenza di D-malato-deidrogenasi ed decarbossilasi (D-MDH) l'acido D-malico (D-malato) viene ossidato ad ossalacetato dalla nicotinammide-adenina-dinucleotide (NAD). L'ossalacetato formato è trasformato in piruvato e acido carbonico.



La formazione del NADH, misurata attraverso l'aumento dell'assorbanza alla lunghezza d'onda di 334, 340 o 365 nm, è proporzionale alla quantità del D-malato presente.

2. COMPOSIZIONE DEL KIT

- a) Flacone n. 1 contenente circa 30 ml di soluzione di tampone Hepes 4-(2 idrossietil)-1 piperazinetan-acido solforico, pH = 9,0 e stabilizzatori.
- b) Flacone n. 2 contenente circa 210 mg di NAD liofilizzato.
- c) Tre flaconi n. 3 contenenti D-MDH liofilizzato, 8 U circa per ciascuno.

2.1. Preparazione delle soluzioni

- 2.1.1. Utilizzare il contenuto del flacone 2.a) senza diluizione. Termostatare la soluzione a 20-25 °C prima dell'uso.
- 2.1.2. Sciogliere il contenuto del flacone 2.b) in 4 ml di acqua bidistillata.
- 2.1.3. Sciogliere il contenuto di uno dei flaconi 2.c) in 0,6 ml di acqua bidistillata. Termostatare la soluzione a 20-25 °C prima dell'uso.

2.2. Stabilità delle soluzioni

Il contenuto del flacone 2.1.1 si conserva a +4 °C per almeno un anno.

La soluzione 2.1.2 si conserva per circa tre settimane a +4 °C e per due mesi a -20 °C.

La soluzione 2.1.3 si conserva per cinque giorni a +4 °C.

3. APPARECCHIATURA

- 3.1. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni a 340 nm, massimo di assorbimento del NADH e del NADPH.
In alternativa può essere utilizzato un fotometro a spettro discontinuo con lunghezza d'onda a 334 nm o a 365 nm.
- 3.2. Celle di vetro con cammino ottico di 1 cm o celle monouso.
- 3.3. Micropipette che consentano di prelevare volumi compresi tra 0,01 e 2 ml.

4. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

La quantità di D-malato nella cella deve essere compresa tra 2 µg e 50 µg. Diluire pertanto il campione in modo tale che la concentrazione in malato sia compresa tra 0,02 e 0,5 g/l, rispettivamente 0,02 e 0,3 g/l. Se la differenza di assorbanza ΔA è minore di 0,100 la quantità di campione può essere aumentata sino a 1,80 ml, riducendo il volume di acqua da aggiungere in modo tale che i volumi totali siano uguali nelle due celle (bianco e campione).

5. MODO DI OPERARE

Temperatura: 20-25 °C

Volume del saggio: 2,95 ml

Effettuare le misure contro aria (senza cella sul cammino ottico) o contro acqua.

Introdurre nelle celle:	Bianco	Campione
Soluzione 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Soluzione 2.1.2	0,10 ml	0,10 ml
Acqua bidistillata	1,80 ml	1,70 ml
Campione	—	0,10 ml

Mescolare — Dopo 6 minuti leggere le assorbanze delle soluzioni (A_1). Innestare la reazione aggiungendo:

Soluzione 2.1.3	0,05 ml	0,05 ml
-----------------	---------	---------

Mescolare. Alla fine della reazione (circa 20 minuti) leggere le assorbanze delle soluzioni (A_2).Determinare le differenze di assorbanza ($A_2 - A_1$) per le soluzioni del bianco e del campione. Detrarre la differenza di assorbanza del bianco da quella del campione.

$$\Delta A = \Delta A_C - \Delta A_B$$

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

La concentrazione in acido D-malico è data in grammi per litro (g/l) con una cifra decimale.

6.1. Calcolo

La formula generale per il calcolo delle concentrazioni è la seguente:

$$C = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \cdot \Delta A \text{ g/l}$$

dove:

V = volume del saggio (ml)

v = volume del campione (ml)

PM = peso molecolare della sostanza da dosare

d = cammino ottico della cella (cm)

 ϵ = coefficiente di assorbanza del NADH:

$$340 \text{ nm} = 6,3 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,4 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

Per il D-malato si ottiene:

$$C = \frac{2,95 \times 134,9}{\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} \times \Delta A = \frac{3,956}{\epsilon} \times \Delta A \text{ (grammi di D-malato/l di prodotto in esame)}$$

Se nella preparazione del campione è stata effettuata una diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione F.

6.2. Ripetibilità (r)

$$r = 0,05 x_i$$

6.3. Riproducibilità (R)

$$R = 0,1 \times x_i$$

x_i = concentrazione in acido D-malico in gr/l.

21. ACIDO MALICO TOTALE

METODO USUALE

1. PRINCIPIO DEI METODO

L'acido malico separato per mezzo di una colonna scambiatrice di anioni viene dosato colorimetricamente nell'eluato utilizzando la colorazione gialla che si ottiene per azione dell'acido solforico al 96 % e dell'acido cromotropico. Le sostanze contenute nell'eluato che interferiscono in questa reazione, contrariamente all'acido malico, reagiscono con l'acido solforico all'86 % e l'acido cromotropico.

Per eliminare quindi questa interferenza è sufficiente sottrarre dall'assorbanza ottenuta dopo reazione con acido cromotropico ed acido solforico al 96 % l'assorbanza ottenuta dopo reazione con acido cromotropico ed acido solforico all'86 %.

2. APPARECCHIATURA

- 2.1. Colonna di vetro lunga circa 250 mm e con diametro interno di 35 mm, munita di rubinetto.
- 2.2. Colonna di vetro lunga circa 300 mm e con diametro interno di 10-11 mm, munita di rubinetto.
- 2.3. Bagnomaria a 100 °C.
- 2.4. Spettrofotometro che permetta di eseguire misure di assorbanza alla lunghezza d'onda di 420 nm con celle di 10 mm di cammino ottico.

3. REATTIVI

- 3.1. Scambiatore di anioni di forte basicità (per esempio Merck III).
- 3.2. Idrossido di sodio al 5 % (m/v).
- 3.3. Acido acetico al 30 % (m/v).
- 3.4. Acido acetico allo 0,5 % (m/v).
- 3.5. Soluzione di solfato di sodio (Na_2SO_4) al 10 % (m/v).
- 3.6. Acido solforico concentrato al 95-97 % (m/m).
- 3.7. Acido solforico all'86 % (m/m).
- 3.8. Soluzione di acido cromotropico al 5 % (m/v).

Da preparare volta per volta prima di ogni dosaggio sciogliendo 500 mg di cromotropato di sodio ($\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) in 10 ml di acqua distillata.

- 3.9. Soluzione di acido DL — malico di 0,5 g/l.

Sciogliere 250 mg di acido malico ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$) nella soluzione di solfato di sodio al 10 % (3.5) e portare a 500 ml con la stessa soluzione.

4. MODO DI OPERARE

4.1. Preparazione dello scambiatore di ioni

Porre nella colonna di vetro 35 × 250 mm, al di sopra del rubinetto, un tampone di lana di vetro impregnato di acqua distillata. Versare nella colonna lo scambiatore di ioni in

sospensione in acqua lasciando uno spazio libero di circa 50 mm al di sopra della superficie dello scambiatore.

Dopo lavaggio con 1 000 ml di acqua distillata, riempire la colonna con la soluzione di idrossido di sodio al 5 %, lasciare percolare il liquido sino a circa 2-3 mm al di sopra della superficie dello scambiatore di ioni, ripetere ancora per due volte questa operazione e lasciare in contatto per un'ora. Lavare la colonna con 1 000 ml di acqua distillata, riempire quindi la colonna con la soluzione di acido acetico al 30 %, lasciar percolare il liquido sino a 2-3 mm circa al di sopra della superficie dello scambiatore di ioni.

Ripetere questa operazione per due volte e lasciare in contatto per almeno ventiquattro ore prima dell'uso. Conservare lo scambiatore di ioni in acido acetico al 30 % per i successivi dosaggi.

4.2. Preparazione della colonna a scambiatore ionico

Porre nella colonna di vetro 11 × 300 mm, al di sopra del rubinetto, un tampone di lana di vetro. Versare nella colonna lo scambiatore di ioni preparato come descritto in 4.1 per un'altezza di 10 cm. Con il rubinetto aperto lasciare percolare la soluzione di acido acetico al 30 % sino a circa 2-3 mm al di sopra della superficie della resina. Lavare quindi con 50 ml della soluzione di acido acetico allo 0,5 %.

4.3. Isolamento dell'acido DL-malico

Versare sulla resina preparata come descritto in 4.2 10 ml di vino o di mosto.

Lasciare percolare il vino, goccia a goccia (una goccia al secondo circa), sino a circa 2-3 mm al di sopra della superficie della resina. Lavare la colonna prima con 50 ml circa della soluzione di acido acetico allo 0,5 % e dopo con circa 50 ml di acqua distillata; lasciare percolare queste soluzioni con la stessa velocità del vino.

Eluire gli acidi fissati sulla resina a scambio ionico per mezzo della soluzione di solfato di sodio al 10 % con la stessa velocità delle operazioni precedenti (1 goccia al secondo), raccogliere l'eluato in un pallone tarato da 100 ml sino al segno di taratura.

La resina può essere rigenerata come descritto in 4.1.

4.4. Dosaggio dell'acido malico

In due provette a tappo smerigliato, a bocca larga, da 30 ml, «A» e «B», introdurre 1,0 ml di eluato e 1,0 ml della soluzione di acido cromotropico al 5 %. Nella provetta «A» aggiungere 10,0 ml di acido solforico all'86 % (bianco) e nella provetta «B» 10,0 ml di acido solforico al 96 % (campione). Tappare ed agitare per ottenere una perfetta omogeneità senza bagnare la parte smerigliata. Porre le due provette per 10 minuti esatti nel bagno maria portato preventivamente a ebollizione vivace. Far raffreddare le provette a 20 °C al buio.

Esattamente dopo 90 minuti dall'inizio del raffreddamento misurare l'assorbanza della provetta «B» contro il bianco (provetta «A») alla lunghezza d'onda di 420 nm nelle celle da 10 mm di cammino ottico.

4.5. Curva di taratura

In palloncini tarati da 50 ml versare 5 - 10 - 15 e 20 ml della soluzione di acido malico di 0,5 g/l; portare a segno con la soluzione di solfato di sodio al 10 %.

Le soluzioni così ottenute corrispondono ad eluati ottenuti a partire da vini contenenti 0,5 - 1,0 - 1,5 e 2,0 g di acido DL-malico per litro.

Continuare come indicato in 4.4.

I valori dell'assorbanza ottenuti con queste soluzioni, riportati in funzione dei tenori in acido malico corrispondenti, si allineano su una retta passante per l'origine.

Poiché l'intensità della colorazione è notevolmente influenzata dalla concentrazione dell'acido solforico, è necessario controllare la curva di taratura per almeno un punto per ogni serie di misure per mettere in evidenza una eventuale variazione della concentrazione dell'acido solforico.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Riportare l'assorbanza misurata per l'eluato sulla curva di taratura per ottenere il tenore in acido DL-malico in grammi per litro con una cifra decimale.

Ripetibilità

tenore < 2 g/l : r = 0,1 g/l

tenore > 2 g/l : r = 0,2 g/l

Riproducibilità

R = 0,3 g/l

22. ACIDO SORBICO

1. PRINCIPIO DEI METODI

1.1. Metodo di dosaggio per spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto

L'acido sorbico (acido 2,4 esadienoico trans, trans) estratto per distillazione in corrente di vapor d'acqua, viene dosato nel distillato del vino per spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto. Le sostanze che interferiscono sulla misura dell'assorbimento nell'ultravioletto vengono eliminate per evaporazione a secco dell'aliquota di distillato prelevata, leggermente alcalinizzata con una soluzione di idrossido di calcio. I tenori inferiori a 20 mg/l devono essere confermati per cromatografia su strato sottile (sensibilità: 1 mg/l).

1.2. Metodo di dosaggio per gascromatografia

L'acido sorbico estratto con etere etilico è dosato per cromatografia in fase gassosa in presenza di uno standard interno.

1.3. Metodo di ricerca di tracce per cromatografia su strato sottile

L'acido sorbico, estratto con etere etilico, viene preparato per cromatografia su strato sottile. Se ne determina quindi semiquantitativamente la concentrazione.

2. METODO DI DOSAGGIO PER SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO NELL'ULTRAVIOLETTO

2.1. Reattivi

2.1.1. Acido tartarico, $C_4H_6O_6$, cristallizzato.

2.1.2. Soluzione d'idrossido di calcio, $Ca(OH)_2$ circa 0,02 M.

2.1.3. Soluzione di riferimento di acido sorbico a 20 mg per litro.

Sciogliere 20 mg di acido sorbico, $C_6H_8O_2$, in 2 ml circa di soluzione 0,1 M di idrossido di sodio. Versarli in un pallone tarato da 1 000 ml e portare a volume con acqua. Si possono anche sciogliere 26,8 mg di sorbato di potassio, $C_6H_7KO_2$, in acqua e portarli a 1 000 ml con acqua.

2.2. Apparecchiatura

2.2.1. Apparecchio di distillazione in corrente di vapore d'acqua (vedi «Acidità volatili»).

2.2.2. Bagnomaria a 100 °C.

2.2.3. Spettrofotometro regolato a 256 nm con celle in quarzo a cammino ottico da 1 cm.

2.3. Modo di operare

2.3.1. Distillazione

Versare nel gorgogliatore dell'apparecchio di distillazione in corrente di vapore 10 ml di vino, aggiungere 1-2 g di acido tartarico (2.1.1). Raccogliere 250 ml di distillato.

2.3.2. Curva di taratura

Preparare, per diluizione con acqua della soluzione di riferimento (2.1.3), quattro soluzioni di riferimento aventi rispettivamente concentrazione di 0,5 - 1 - 2,5 e

5 mg di acido sorbico per litro; misurare con lo spettrofotometro le rispettive assorbanze a 256 nm, rispetto all'acqua distillata. Tracciare la curva delle variazioni dell'assorbanza in funzione della concentrazione delle soluzioni. La variazione è lineare.

2.3.3. *Dosaggio*

Porre 5 ml di distillato in una capsula di 55 mm di diametro; aggiungere 1 ml di soluzione di idrossido di calcio (2.1.2). Portare a secco su bagnomaria bollente.

Riprendere il residuo con alcuni millilitri di acqua distillata, versare quantitativamente in un matraccio tarato da 20 ml e portare a volume con le acque di lavaggio. Misurare con uno spettrofotometro l'assorbanza a 256 nm rispetto a una soluzione in bianco ottenuta per diluizione con acqua a 20 ml di 1 ml di soluzione di idrossido di calcio (2.1.2).

Portare il valore dell'assorbanza misurato sulla retta di taratura e determinare la concentrazione C della soluzione in acido sorbico.

Osservazione:

Nella pratica corrente l'evaporazione a secco può essere trascurata. Effettuare direttamente la misura dell'assorbanza sul distillato diluito 1:4 contro acqua distillata.

2.4. **Espressione dei risultati**

2.4.1. *Calcolo*

La concentrazione in acido sorbico del vino espressa in milligrammi per litro è uguale a:

$$100 \times C$$

dove C = concentrazione in acido sorbico della soluzione analizzata per spettrofotometria, espressa in milligrammi per litro.

3. **METODO DI DOSAGGIO PER CROMATOGRAFIA IN FASE GASSOSA**

3.1. **Reattivi**

3.1.1. Etere etilico, (C₂H₅)₂O, distillato al momento dell'impiego.

3.1.2. Soluzione dello standard interno: soluzione di 1 g per litro di acido undecanoico, C₁₁H₂₂O₂, in etanolo al 95 % (vol.).

3.1.3. Soluzione di acido solforico, H₂SO₄ (ρ_{20°} = 1,84 g/ml), diluito a 1/3 (v/v).

3.2. **Apparecchiatura**

3.2.1. Gascromatografo corredato da un rivelatore a ionizzazione di fiamma e da una colonna in acciaio inossidabile (4 m × 1/8 di pollice) trattata preliminarmente con dimetildiclorosilano e riempita con una fase stazionaria costituita da una miscela di dietilenglicol succinato (5 %) e di acido fosforico (1 %) (DEGS — H₃PO₄) o da una miscela di dietilenglicol adipato (7 %) e di acido fosforico (1 %) (DEGA — H₃PO₄) fissato su Gaschrom Q 80 — 100 mesh. Per il trattamento con il dimetildiclorosilano (DMDCS) far passare nella colonna una soluzione in toluene di DMDCS al 2-3 %. Lavare immediatamente la colonna con metanolo, far passare una corrente di azoto, poi esaano e nuovamente corrente di azoto. Quindi riempire la colonna.

Condizioni operative:

Temperatura del forno: 175 °C.

Temperatura dell'iniettore e del rivelatore: 230 °C.

Gas vettore: azoto (flusso 20 ml/minuto).

3.2.2. Microsiringa da 10 microlitri graduata in 0,1 microlitri.

Osservazione: Altri tipi di colonne possono ugualmente permettere una buona separazione, in particolare la colonna capillare (FFAP, per esempio).

Il modo di operare descritto di seguito è dato a titolo di esempio.

3.3. **Modo di operare**

3.3.1. *Preparazione del campione da analizzare*

In una provetta in vetro da circa 40 ml, dotata di tappo smerigliato, introdurre 20 ml di vino, aggiungere 2 ml di soluzione di standard interno (3.1.2) e 1 ml di soluzione diluita di acido solforico (3.1.3).

Dopo aver agitato capovolgendo più volte, aggiungere al contenuto della provetta 10 ml di etere etilico (3.1.1). Estrarre l'acido sorbico agitando la provetta per 5 minuti. Lasciare decantare.

3.3.2. *Preparazione della soluzione di riferimento*

Scegliere un vino il cui estratto in etere etilico dia un cromatogramma che non presenti alcun picco con tempo di ritenzione dell'acido sorbico; aggiungere a questo vino 100 mg/l di acido sorbico. Trattare 20 ml del campione così ottenuto secondo il modo di operare descritto al punto 3.3.1.

3.3.3. *Cromatografia*

Iniettare successivamente nel cromatografo con una microsiringa 2 µl della fase eterea ottenuta al punto 3.3.2 e 2 µl della fase eterea ottenuta al punto 3.3.1.

Registrare i rispettivi cromatogrammi; verificare che i rispettivi tempi di ritenzione dell'acido sorbico e dello standard interno siano identici. Misurare l'altezza (o la superficie) di ciascuno dei picchi ottenuti.

3.4. **Espressione dei risultati**

3.4.1. *Calcolo*

La concentrazione in acido sorbico del vino analizzato, espressa in milligrammi per litro, è uguale a:

$$100 \cdot \frac{h}{H} \cdot \frac{I}{i}$$

H = altezza del picco dell'acido sorbico nella soluzione di riferimento.

h = altezza del picco dell'acido sorbico nel campione da analizzare.

I = altezza del picco dello standard interno nella soluzione di riferimento.

i = altezza del picco dello standard interno nel campione da analizzare.

Nota: la concentrazione in acido sorbico può essere determinata nello stesso modo prendendo in considerazione la misura della superficie dei rispettivi picchi.

4. **METODO DI RICERCA DI TRACCE DI ACIDO SORBICO MEDIANTE CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE**

4.1. **Reattivi**

4.1.1. Etere etilico, (C₂H₅)₂O.

- 4.1.2. Soluzione acquosa di acido solforico, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) diluito a 1/3 (v/v).
- 4.1.3. Soluzione di riferimento di acido sorbico in una miscela idroetanolica al 10 % di etanolo (vol.): 20 mg/l circa.
- 4.1.4. Fase mobile: esano — pentano — acido acetico (20:20:3) ($\text{C}_6\text{H}_{14} - \text{C}_5\text{H}_{12} - \text{CH}_3\text{COOH}$) ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml).

4.2. **Apparecchiatura**

- 4.2.1. Lastre per cromatografia su strato sottile, pronte per l'uso, da 20×20 cm ricoperte con gel di poliammide (spessore: 0,15 mm) addizionato di un indicatore di fluorescenza.
- 4.2.2. Camera cromatografica per strato sottile.
- 4.2.3. Micropipetta o microsiringa che consenta di depositare volumi da 5 μl con la precisione di $\pm 0,1$ μl .
- 4.2.4. Lampada a raggi ultravioletti (254 nm).

4.3. **Modo di operare**

4.3.1. *Preparazione del campione da analizzare*

Versare in una provetta da circa 25 ml, provvista di tappo smerigliato, 10 ml di vino, aggiungere 1 ml di soluzione di acido solforico diluito (4.1.2) e 5 ml di etere etilico (4.1.1). Agitare capovolgendo più volte. Lasciare decantare.

4.3.2. *Preparazione delle soluzioni diluite di riferimento*

Preparare, per diluizione della soluzione 4.1.3, cinque soluzioni diluite di riferimento contenenti rispettivamente 2-4-6-8 e 10 mg di acido sorbico per litro.

4.3.3. *Cromatografia*

Con una microsiringa o una micropipetta deporre, a 2 cm dal bordo inferiore della lastra, 5 μl della fase eterea ottenuta al punto 4.3.1 e 5 μl di ciascuna delle soluzioni diluite di riferimento (4.3.2), distanziando i depositi tra di loro di 2 cm.

Versare la fase mobile (4.1.4) nella camera cromatografica sino a raggiungere un'altezza di circa 0,5 cm e lasciare che l'atmosfera della camera si saturi dei vapori dei solventi. Introdurre la lastra nella vaschetta. Lasciare sviluppare il cromatogramma per 12-15 cm (la durata dello sviluppo è di circa 30 minuti). Asciugare la lastra in corrente di aria fredda. Esaminare il cromatogramma sotto luce ultravioletta a 254 nm.

La macchie relative all'acido sorbico hanno una colorazione viola scuro sul fondo giallo fluorescente della lastra.

4.4. **Espressione dei risultati**

Il confronto fra le intensità della macchia del campione da analizzare e quella delle macchie delle soluzioni di riferimento consente di valutare semiquantitativamente la concentrazione in acido sorbico fra 2 e 10 mg per litro. Per determinare una concentrazione uguale a 1 mg per litro occorrerà un deposito di 10 μl di soluzione del campione da analizzare, mentre per determinare concentrazioni superiori a 10 mg per litro il volume del deposito della soluzione da analizzare dovrà essere inferiore a 5 μl (da misurare con una microsiringa).

23. ACIDO L-ASCORBICO

1. PRINCIPIO DEI METODI

I metodi proposti consentono di dosare l'acido L-ascorbico e l'acido deidroascorbico presenti nei vini o nei mosti.

1.1. Metodo di riferimento (fluorimetrico)

L'acido L-ascorbico è ossidato ad acido deidroascorbico con l'impiego del carbone attivo. Tale composto per reazione con l'ortofenilendiammina (O.P.D.A.) forma un composto fluorescente. Un bianco in presenza di acido borico consente di determinare la fluorescenza parassita (per formazione di un complesso acido borico — acido deidroascorbico) e di sottrarla quindi dal dosaggio fluorimetrico.

1.2. Metodo usuale (colorimetrico)

L'acido L-ascorbico viene ossidato con iodio in acido deidroascorbico, composto che viene quindi precipitato dalla 2,4 dinitrofenilidrazina come bis (2,4-dinitrofenilidrazone). Dopo separazione per cromatografia su strato sottile e solubilizzazione in ambiente acetico, questo composto di colorazione rossa viene dosato per spettrofotometria a 500 nm.

2. METODO DI RIFERIMENTO (METODO FLUORIMETRICO)

2.1. Reattivi

2.1.1. Soluzione di dicloridrato di orto-fenilendiammina ($C_6H_{10}Cl_2N_2$) a 0,02 g per 100 ml, preparati al momento.

2.1.2. Soluzione di acetato di sodio triidrato ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$), a 500 g/l.

2.1.3. Soluzione mista di acido borico e di acetato di sodio.

Sciogliere 3 g di acido borico, H_3BO_3 , in 100 ml di soluzione di acetato di sodio (2.1.2). Questa soluzione deve essere preparata al momento dell'uso.

2.1.4. Soluzione di acido acetico glaciale, (CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) diluito al 56 % (v/v) a pH 1,2 circa.

2.1.5. Soluzione di riferimento di acido L-ascorbico da 1 g per litro.

Sciogliere immediatamente prima dell'impiego 50 mg di acido L-ascorbico, $C_6H_8O_6$, previamente disidratato in un essiccatore al riparo dalla luce, in 50 ml di soluzione di acido acetico (2.1.4).

2.1.6. Carbone attivo molto puro per analisi ⁽¹⁾

Porre, in una beuta da 2 l, 100 g di carbone attivo, aggiungere 500 ml di una soluzione di acido cloridrico, (HCl) ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml) al 10 % (v/v). Portare a ebollizione, filtrare su filtro in vetro sinterizzato di porosità 3. Raccogliere il carbone così trattato in una beuta da 2 l, aggiungere 1 l di acqua, agitare e filtrare su filtro di vetro sinterizzato di porosità 3. Ripetere due volte l'operazione. Porre il residuo in una stufa regolata a $115 \pm 5^\circ C$ per 12 ore (ad esempio una notte).

2.2. Apparecchiatura

2.2.1. Fluorimetro. Utilizzare uno spettrofluorimetro dotato di una lampada a spettro continuo regolandolo sulla potenza minima della lampada. Le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione ottimali per la prova saranno determinate previamente e in funzione dell'apparecchio impiegato. A titolo indicativo la lunghezza d'onda di eccitazione si situa intorno ai 350 nm, e la lunghezza d'onda di emissione intorno ai 430 nm. Celle di 1 cm di cammino ottico.

(1) Una delle denominazioni commerciali è «norite».

2.2.2. Filtro in vetro sinterizzato di porosità 3.

2.2.3. Provette (diametro \approx 10 mm).

2.2.4. Agitatore per provette.

2.3. **Modo di operare**

2.3.1. *Preparazione del campione di vino o di mosto*

Prelevare un volume di vino o di mosto e diluirlo a 100 ml in un matraccio tarato con la soluzione di acido acetico al 56 % (2.1.4), in modo da ottenere una soluzione la cui concentrazione in acido L-ascorbico sia compresa fra 0 e 60 mg/l. Agitare per omogeneizzare il contenuto del matraccio tarato. Aggiungere 2 g di carbone attivo (2.1.6) e lasciare a contatto per 15 minuti agitando di tanto in tanto. Filtrare su carta da filtro ordinaria eliminando i primi millilitri di filtrato. In due matracci tarati da 100 ml introdurre, in uno, 5 ml della soluzione mista di acido borico e di acetato di sodio (2.1.3) (testimone), nell'altro, 5 ml della soluzione di acetato di sodio (2.1.2) (campione). Lasciare a contatto per 15 minuti agitando di tanto in tanto, e completare a 100 ml con acqua distillata.

Prelevare 2 ml del contenuto di ciascun matraccio, aggiungere 5 ml di soluzione di ortofenilendiammina (2.1.1), agitare; lasciare sviluppare la reazione per 30 minuti in assenza di luce ed effettuare quindi la misura allo spettrofluorimetro.

2.3.2. *Curva di taratura*

In tre matracci tarati da 100 ml porre rispettivamente 2, 4, 6 ml della soluzione di riferimento di acido L-ascorbico (2.1.5), completare a 100 ml con la soluzione di acido acetico (2.1.4), agitando per omogeneizzare. Le soluzioni di riferimento preparate contengono rispettivamente 2-4-6 mg/100 ml.

Aggiungere 2 g di carbone attivo (2.1.6) in ciascuno dei matracci e lasciare a contatto per 15 minuti agitando di tanto in tanto. Filtrare su carta da filtro ordinaria eliminando i primi millilitri. Introdurre rispettivamente 5 ml di ciascuno dei filtrati raccolti nei tre matracci da 100 ml (prima serie), ripetere l'operazione con un seconda serie di tre matracci tarati. Aggiungere in ciascuno dei matracci della prima serie (corrispondenti al testimone) 5 ml di soluzione mista di acido borico e acetato di sodio (2.1.3) e in ciascun matraccio della seconda serie 5 ml di soluzione di acetato di sodio (2.1.2).

Lasciare a contatto per 15 minuti agitando di tanto in tanto, e completare a 100 ml con acqua distillata. Prelevare 2 ml del contenuto di ciascuno dei matracci, aggiungere 5 ml di soluzione di ortofenilendiammina (2.1.1), agitare, lasciare sviluppare la reazione per 30 minuti in assenza di luce ed effettuare quindi la misura allo spettrofluorimetro.

2.3.3. *Determinazione fluorimetrica*

Regolare per ciascuna soluzione della curva di taratura e per la soluzione del dosaggio lo zero della scala delle misure sul bianco corrispondente. Effettuare quindi la misurazione dell'intensità della fluorescenza per ogni soluzione della serie a titolo noto e della serie del campione per il dosaggio.

Tracciare la curva di taratura; essa deve risultare lineare e passare per l'origine degli assi. Riportare su tale retta il valore relativo al dosaggio e sottrarre il tenore C in acido L-ascorbico + acido deidroascorbico della soluzione analizzata.

2.3.4. *Espressione dei risultati*

La concentrazione del vino in acido L-ascorbico + acido deidroascorbico espressa in milligrammi per litro sarà:

$C \cdot F$

F = fattore di diluizione.

3. METODO USUALE (COLORIMETRICO)

3.1. Reattivi

3.1.1. Soluzione di acido metafosforico al 30 % (m/v).

Prelevare 30 g di acido metafosforico, $(\text{HPO}_3)_n$ previamente macinato in un mortaio. Lavare rapidamente per immersione e agitando in acqua distillata. Sciogliere l'acido lavato in acqua distillata agitando in un matraccio tarato da 100 ml, portare al volume; la soluzione ottenuta ha una concentrazione di circa il 30 % (m/v) in acido metafosforico.

3.1.2. Soluzione di acido metafosforico al 3 % (m/v), preparata al momento dell'uso diluendo 1 : 10 la soluzione 3.1.1 con acqua distillata.

3.1.3. Soluzione di acido metafosforico all' 1 % (m/v) preparata al momento dell'uso diluendo 1 : 30 la soluzione 3.1.1 con acqua distillata.

3.1.4. Sospensione di poliammide

Mettere in sospensione 10 g di polvere di poliammide per cromatografia in 60 ml di acqua distillata e lasciare in contatto per 2 ore. La quantità preparata è sufficiente per 4 determinazioni.

3.1.5. Tiourea (H_2NCSNH_2).

3.1.6. Soluzione di iodio (I_2) 0,05 M.

3.1.7. Soluzione di 2,4-dinitrofenilidrazina al 6 % (m/v). Mettere in sospensione 6 g di 2,4-dinitrofenilidrazina ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4$) in 50 ml di acido acetico glaciale ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml), aggiungere 50 ml di acido solforico ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) e agitare per sciogliere la 2,4-dinitrofenilidrazina.

3.1.8. Acetato di etile ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) addizionato del 2 % (v/v) di acido acetico glaciale (3.1.12).

3.1.9. Cloroformio (CHCl_3).

3.1.10. Soluzione acquosa di amido allo 0,5 % (m/v).

3.1.11. Fase mobile:

acetato di etile	50 vol.
cloroformio	60 vol.
acido acetico	5 vol.

Prima dell'impiego lasciare riposare la miscela solvente per 12 ore.

3.1.12. Acido acetico glaciale (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml).

3.1.13. Soluzione di acido L-ascorbico a 0,1 g per 100 ml di soluzione di acido metafosforico all' 1 % (3.1.3).

3.2. Apparecchiatura

3.2.1. Centrifuga da laboratorio e relativi tubi da 50 ml di capacità provvisti di tappo smerigliato.

3.2.2. Bagnomaria termostato tra 5 e 10 °C.

3.2.3. Bagnomaria termostato a 20 °C.

3.2.4. Lastre per cromatografia su strato sottile pronte all'uso, da 20 × 20 cm, ricoperte con gel di silice G (spessore 0,25 o 0,3 mm).

- 3.2.5. Camera cromatografica.
- 3.2.6. Micropipetta che consenta di dosare volumi da 0,2 ml.
- 3.2.7. Spettrofotometro per misure di assorbanza a 500 nm corredato di celle a cammino ottico da 1 cm.

3.3. **Modo di operare**

3.3.1. *Ossidazione dell'acido L-ascorbico in acido deidroascorbico*

Versare 50 ml di vino in un matraccio tarato da 100 ml, aggiungere 15 ml di sospensione di poliammide (3.1.4) e portare a volume con la soluzione di acido metafosforico al 3 % (3.1.2). Lasciare riposare 1 ora, agitando spesso. Filtrare su filtro a pieghe. Mettere 20 ml di filtrato in un tubo da centrifuga, aggiungere 1 ml di soluzione 0,05 M di iodio (3.1.6). Omogeneizzare il contenuto agitando il tubo da centrifuga tappato e dopo 1 minuto ridurre l'eccesso di iodio aggiungendo 25 mg circa di tiourea.

3.3.2. *Formazione ed estrazione del bis (2,4-dinitrofenilidrazone) dell'acido dichetogulonico*

Mettere la provetta in un bagno d'acqua a temperatura compresa fra 5 e 10 °C; aggiungere 4 ml di soluzione di 2,4-dinitrofenilidrazina (3.1.7). Omogeneizzare il contenuto del tubo, evitando di bagnare il tappo di vetro. Conservare poi il tubo ben chiuso in un bagno d'acqua a 20 °C per circa 16 ore (una nottata, per esempio).

Aggiungere nel tubo da centrifuga 15 ml di acetato di etile (3.1.8), chiudere il tubo e agitare per 30 secondi. Centrifugare poi per 5 minuti applicando una forza centrifuga di 350-400 g. Prelevare con una pipetta 10 ml dell'acetato di etile utilizzato per l'estrazione e versarli in una beuta con tappo smerigliato. Aggiungere al contenuto del tubo da centrifuga 5 ml di acetato di etile (3.1.8). Tappare il tubo. Agitare per 30 secondi e centrifugare quindi per 5 minuti alla stessa velocità. Prelevare 5 ml dell'acetato di etile utilizzato per l'estrazione ed aggiungerlo alla soluzione della prima estrazione nella beuta. Omogeneizzare la miscela agitando.

3.3.3. *Separazione del bis (2,4-dinitrofenilidrazone) per cromatografia: da effettuare entro 2 ore dall'estrazione (3.3.2).*

Lasciando un margine di 2 cm nella parte inferiore ed in quella laterale della lastra, depositare su tutta la linea di partenza 0,2 ml dell'estratto in acetato di etile. Versare la fase mobile (3.1.11) nella vasea per un'altezza di 1 cm e lasciare che l'ambiente si saturi di vapori dei solventi. Introdurre quindi la lastra, lasciare migrare il solvente sino al bordo superiore, e farla quindi asciugare per un'ora sotto cappa ventilata. Grattare con una spatola, perpendicolarmente alla direzione di migrazione, la zona di colorazione rossa (caratteristica del 2,4-dinitrofenilidrazone). Raccogliere la polvere ottenuta su un foglio di carta lucida e trasferirla quantitativamente in una beuta con tappo smerigliato, aggiungendo 4 ml di acido acetico (3.1.12). Lasciare riposare per 30 minuti, agitando spesso. Filtrare su carta da filtro a pieghe direttamente nella cella dello spettrofotometro (3.2.7). Il filtrato ottenuto dev'essere limpido. Regolare lo zero della scala delle assorbanze a 500 nm con l'acido acetico (3.1.12) e misurare l'assorbanza della soluzione.

3.3.4. *Curva di taratura*

Versare in 3 palloni tarati da 100 ml rispettivamente 5-10 e 15 ml di soluzione di acido L-ascorbico (3.1.1.3) e portare a volume con la soluzione di acido metafosforico all' 1 % (3.1.3). Le soluzioni ottenute hanno una concentrazione in acido ascorbico rispettivamente di 50-100 e 150 mg/litro.

Su 50 ml di ciascuna di queste soluzioni seguire il modo di operare descritto ai punti 3.3.1, 3.3.2 e 3.3.3. Tracciare la curva di taratura che deve essere una retta e deve passare per l'origine.

3.3.5. *Espressione dei risultati*

La concentrazione del vino in acido L-ascorbico + acido deidroascorbico si esprime in milligrammi per litro.

3.3.5.1. Calcolo

Riportare sulla retta di taratura il valore dell'assorbanza misurata al punto 3.3.3 e ricavare il valore della concentrazione in acido L-ascorbico + acido deidroascorbico della soluzione analizzata.

NB: Se la concentrazione in acido L-ascorbico + acido deidroascorbico è superiore a 150 mg/l, ridurre il volume della presa di campione a 25-20 o 10 ml di vino, moltiplicando il risultato ottenuto per il fattore di diluizione F.

24. pH

1. PRINCIPIO

Misura della differenza di potenziale fra due elettrodi immersi nel liquido in esame. Uno degli elettrodi ha un potenziale che è una funzione definita del pH del liquido, mentre l'altro ha un potenziale fisso e noto e costituisce l'elettrodo di riferimento.

2. APPARECCHIATURA

2.1. pHmetro a scala graduata in unità pH in modo da consentire delle misurazioni con un'approssimazione di almeno 0,05 unità.

2.2. Elettrodi.

2.2.1. Elettrodi in vetro, da conservare in acqua distillata.

2.2.2. Elettrodi di riferimento a calomelano e cloruro di potassio saturo, conservati in una soluzione satura di cloruro di potassio.

2.2.3. Oppure un elettrodo combinato da conservare in acqua distillata.

3. REATTIVI

3.1. Soluzioni tampone:

3.1.1. Soluzione satura di tartrato acido di potassio. Soluzione contenente almeno 5,7 g/l di tartrato acido di potassio ($C_4H_5KO_6$) a 20 °C. Tale soluzione può conservarsi fino a 2 mesi in presenza di 0,1 g di timolo per 200 ml.

$$\text{pH} \begin{cases} 3,57 \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,56 \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,55 \text{ a } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.2. Soluzione 0,05 M di ftalato acido di potassio. Soluzione contenente 10,211 g/l di ftalato acido di potassio ($C_8H_5KO_4$) a 20 °C. (Tempo massimo di conservazione: 2 mesi).

$$\text{pH} \begin{cases} 3,999 \text{ a } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ a } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.3. Soluzione contenente:

Fosfato monopotassico, KH_2PO_4	3,402 g
Fosfato dipotassico, K_2HPO_4	4,354 g
Acqua q.b.a.	1 1

(Tempo massimo di conservazione: 2 mesi)

$$\text{pH} \begin{cases} 6,90 \text{ a } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ a } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

NB: Possono essere impiegate anche le soluzioni tampone di riferimento reperibili in commercio.

4. MODO DI OPERARE**4.1. Preparazione del campione per l'analisi****4.1.1. Mosto e vino**

Operare direttamente sul mosto o sul vino.

4.1.2. Mosto concentrato rettificato

Diluire il mosto concentrato rettificato con acqua per ottenere una concentrazione di $25 \pm 0,5\%$ (m/m) in zuccheri totali (25 °Brix).

Se P è il tenore percentuale (m/m) in zuccheri totali del mosto concentrato rettificato, pesare una quantità uguale a:

$$\frac{2\,500}{P}$$

e completare a 100 g con acqua. L'acqua utilizzata deve avere una conduttività inferiore a 2 microsiemens per centimetro.

4.2. Azzeramento dell'apparecchio

Prima di effettuare le misurazioni occorre azzerare l'apparecchio, seguendo le indicazioni date per l'apparecchio utilizzato.

4.3. Taratura del pHmetro

La taratura si effettua a 20 °C seguendo le indicazioni date per l'apparecchio utilizzato con le soluzioni tampone a pH 6,88 e 3,57 a 20 °C. Utilizzare la soluzione tampone a pH 4,00 a 20 °C per controllare la calibratura della scala.

4.4. Misura

Immergere l'elettrodo nel campione da analizzare la cui temperatura dev'essere compresa fra 20 e 25 °C e il più possibile vicina a 20 °C. Leggere direttamente sulla scala il valore del pH.

Effettuare almeno due determinazioni sullo stesso campione.

Prendere come risultato la media aritmetica delle due determinazioni.

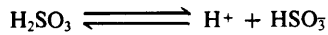
5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il pH del mosto, del vino o della soluzione al 25 % (m/m) (25 °Brix) del mosto concentrato rettificato è espressa con 2 cifre decimali.

25. ANIDRIDE SOLFOROSA

1. DEFINIZIONE

Si chiama anidride solforosa l'anidride solforosa presente nel mosto o nel vino nelle forme seguenti: H_2SO_3 , HSO_3^- , il cui equilibrio dipende dal pH e dalla temperatura:



H_2SO_3 rappresenta l'anidride solforosa molecolare.

Si chiama anidride solforosa totale l'insieme delle varie forme di anidride solforosa presenti nel vino allo stato libero o combinato.

2. ANIDRIDE SOLFOROSA LIBERA E TOTALE

2.1. Principio dei metodi

2.1.1. Metodo di riferimento

2.1.1.1. Vini e mosti

L'anidride solforosa viene trascinata da una corrente di aria o di azoto e viene fisata ed ossidata per gorgogliamento in una soluzione diluita neutra di perossido di idrogeno. L'acido solforico formato viene dosato con una soluzione titolata di idrossido di sodio. L'anidride solforosa libera viene estratta dal vino per trascinamento a freddo (10 °C).

L'anidride solforosa totale viene estratta dal vino per trascinamento a caldo (100 °C circa).

2.1.1.2. Mosti concentrati rettificati

L'anidride solforosa totale è estratta per trascinamento a caldo (circa 100 °C) del mosto rettificato concentrato previamente diluito.

2.1.2. Metodo rapido (vini e mosti)

L'anidride solforosa libera viene dosata mediante titolazione iodometrica diretta.

Si dosa quindi l'anidride solforosa combinata mediante titolazione iodometrica effettuata dopo idrolisi alcalina. Sommandola all'anidride solforosa libera, si ottiene l'anidride solforosa totale.

2.2. Metodo di riferimento

2.2.1. Apparecchiatura

L'apparecchio utilizzato deve essere conforme allo schema qui riportato, in particolare per quanto riguarda il refrigerante.

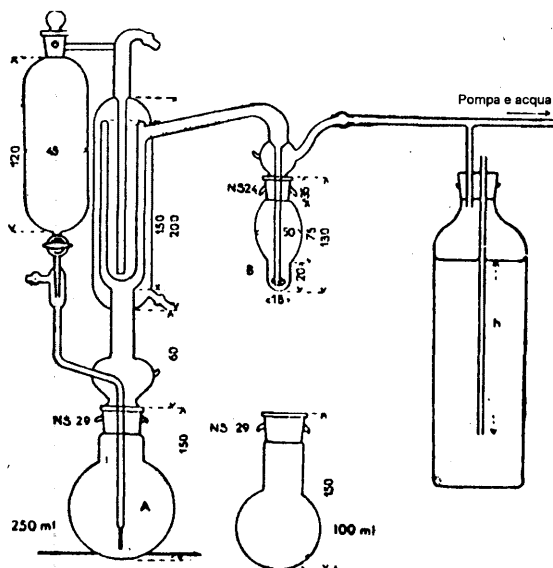


Fig. 1

Le dimensioni sono riportate in millimetri. I diametri interni dei 4 tubi concentrici che costituiscono il refrigerante sono: 45, 34, 27 e 10 mm.

Il tubo di adduzione del gas nel gorgogliatore «B» termina con una sferetta dal diametro di 1 cm portante sulla circonferenza massima orizzontale 20 fori del diametro di 0,2 mm. Esso può ugualmente terminare con una piastra di vetro sinterizzato che assicuri la formazione di un elevato numero di bolle molto piccole che consentano di realizzare un buon contatto fra le fasi gassose e liquide.

Il flusso di gas attraverso l'apparecchio deve essere di circa 40 l/h. La bottiglia posta a destra dell'apparecchio ha lo scopo di limitare al valore di 20-30 cm di acqua la depressione prodotta dalla pompa a caduta d'acqua. Per poter regolare tale depressione in modo da avere un flusso corretto, è opportuno inserire fra il gorgogliatore e la bottiglia un flussimetro a tubo semicapillare.

2.2.1.2. Microburetta

2.2.2. *Reattivi*

2.2.2.1. Acido fosforico all'85 % (H_3PO_4) ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

2.2.2.2. Soluzione di perossido di idrogeno a 9,1 g di H_2O_2/l (3 volumi).

2.2.2.3. Reattivo indicatore:

rosso di metile	100 mg
blu di metilene	50 mg
alcol a 50 % vol.	100 ml

2.2.2.4. Soluzione di idrossido di sodio (NaOH), 0,01 M.

2.2.3. *Modo di operare*

2.2.3.1. Dosaggio dell'anidride solforosa libera

Prima del dosaggio il vino deve essere mantenuto per due giorni a 20 °C in una bottiglia piena e tappata.

— Porre nel gorgogliatore «B» da 2 a 3 ml di soluzione di perossido di idrogeno (2.2.2.2) 2 gocce di indicatore; neutralizzare quindi la soluzione di perossido di idrogeno con una soluzione 0,01 M di idrossido di sodio (2.2.2.4). Collegare il gorgogliatore all'apparecchiatura.

— Nel pallone «A» da 250 ml dell'apparecchio di distillazione introdurre 50 ml di campione e 15 ml di acido fosforico (2.2.2.1). Collegare il pallone.

Fare quindi gorgogliare l'aria (o l'azoto) per 15 minuti. L'anidride solforosa libera trascinata viene ossidata ad acido solforico. Togliere il gorgogliatore dell'apparecchio e titolare l'acido formatosi con la soluzione di idrossido di sodio 0,01 M (2.2.2.4). Sia n il numero di ml utilizzati.

2.2.3.2. *Espressione dei risultati*

L'anidride solforosa libera è espressa in mg/l senza decimali.

2.2.3.2.1. *Calcolo*

Anidride solforosa libera in mg/l: 6,4 n.

2.2.3.3. *Dosaggio dell'anidride solforosa totale*

2.2.3.3.1. Per i mosti concentrati rettificati, utilizzare la soluzione ottenuta diluendo il campione per l'analisi al 40 % (m/v) come indicato al punto 5.1.2 del capitolo «Acidità totale». Introdurre nel pallone «A» da 250 ml dell'apparecchio, 50 ml di tale soluzione e 5 ml di acido fosforico (2.2.2.1). Collegare il pallone con l'apparecchiatura.

2.2.3.3.2. *Vini e mosti*

Tenore presunto del campione ≤ 50 mg/l di SO_2 totale. Versare nel pallone «A» da 250 ml dell'apparecchio, 50 ml di campione e 15 ml di acido fosforico (2.2.2.1). Collegare il pallone con l'apparecchiatura.

Tuttavia, sino al 31 dicembre 1992 al più tardi, per determinare il tenore in anidride solforosa dei succhi d'uva si usano 5 ml di acido fosforico (2.2.2.1) diluiti al 25 % (m/v).

- 2.2.3.3.3. Tenore presunto del campione ≥ 50 mg/l di SO_2 totale. Versare nel pallone «A» da 100 ml dell'apparecchio 20 ml di campione e 5 ml di acido fosforico (2.2.2.1). Collegare il pallone con l'apparecchiatura.

Porre nel gorgogliatore «B» 2×3 ml di soluzione di perossido di idrogeno (2.2.2.2), neutralizzarla come sopra e portare il vino contenuto nel pallone «A» ad ebollizione per mezzo di una piccola fiamma alta 4-5 cm che deve lambire direttamente il fondo del pallone. Per evitare la piroschissione delle sostanze estrattive del vino sulle pareti del pallone, posarlo, anziché su una rete metallica, su un disco provvisto di un foro del diametro di 30 mm.

Mantenere l'ebollizione durante il passaggio della corrente d'aria (o di azoto). Entro 15 minuti l'anidride solforosa totale viene estratta ed ossidata. Dosare quindi l'acido solforico formatosi con la soluzione 0,01 M di idrossido di sodio (2.2.2.4). Sia n il numero di ml utilizzati.

- 2.2.3.4. Espressione dei risultati

L'anidride solforosa totale è espressa in milligrammi/litro (mg/l) o in milligrammi/chilogrammo (mg/kg) di zuccheri totali senza cifre decimali.

- 2.2.4.2.1. Calcolo

Vini e mosti

Anidride solforosa totale in mg/l:

- Campioni poveri di anidride solforosa (quantità di campione analizzata 50 ml):
 $6,4 \cdot n$
- Altri campioni (quantità di campione analizzata 20 ml):
 $16 \cdot n$

Mosti concentrati rettificati

Anidride solforosa in milligrammi per chilo di zuccheri totali (quantità di campione analizzato preparato come in 2.2.3.3.1, 50 ml):

$$\frac{1600 \cdot n}{P}$$

P = tenore percentuale (m/m) in zuccheri totali.

- 2.2.3.4.2. Ripetibilità (r)

Tenore < 50 mg/l (presa di campione 50 ml), $r = 1$ mg/l

Tenore > 50 mg/l (presa di campione 20 ml), $r = 6$ mg/l

- 2.2.3.2.3. Riproducibilità

Tenore < 50 mg/l (presa di campione 50 ml), $R = 9$ mg/l

Tenore > 50 mg/l (presa di campione 20 ml), $R = 15$ mg/l

- 2.3. Metodo rapido di prova

- 2.3.1. Reattivi

- 2.3.1.1. EDTA (Complexon III): sale bisodico dell'acido etilendiamminotetracetico ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

- 2.3.1.2. Soluzione 4 M di idrossido di sodio NaOH (160 g/l).
- 2.3.1.3. Soluzione di acido solforico H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) al 10 % (v/v).
- 2.3.1.4. Salda d'amido soluzione a 5 g/l.
Disperdere 5 g di amido in circa 500 ml di acqua. Portare ad ebollizione agitando e mantenerla per 10 minuti; aggiungere 200 g di cloruro di sodio (NaCl) e dopo raffreddamento portare a 1 litro.
- 2.3.1.5. Soluzione 0,025 M di iodio (I_2)
- 2.3.2. *Materiale*
- 2.3.2.1. Beuta da 500 ml.
- 2.3.2.2. Burette.
- 2.3.2.3. Pipette da 1, 2, 5 e 50 ml.
- 2.3.3. *Modo di operare*
- 2.3.3.1. Anidride solforosa libera
In una beuta da 500 ml, versare:
— 50 ml di vino
— 5 ml di salda d'amido (2.3.1.4)
— 30 mg di EDTA (2.3.1.1)
— 3 ml di H_2SO_4 al 10 % (2.3.1.3)
Titolare immediatamente con la soluzione 0,025 M di iodio (2.3.1.5) sino a quando la colorazione blu persiste nettamente per 10-15 secondi. Sia n ml il volume di iodio utilizzato.
- 2.3.3.2. Anidride solforosa combinata
Aggiungere 8 ml di soluzione 4 M di idrossido di sodio (2.3.1.2), agitare una sola volta e lasciare a contatto per 5 minuti. Versare in un sol colpo, agitando energicamente, il contenuto di un piccolo becher nel quale siano stati posti 10 ml di acido solforico al 10 % (2.3.1.3). Titolare immediatamente con la soluzione 0,025 M di iodio (2.3.1.5). Sia n' il volume di iodio impiegato.
Aggiungere 20 ml di soluzione 4 M di idrossido di sodio (2.3.1.2), e lasciare a contatto per cinque minuti dopo aver agitato una sola volta. Diluire con 200 ml di acqua molto fredda.
Agitando energicamente aggiungere, versando in un sol colpo da un becher riempito precedentemente, 30 ml di acido solforico al 10 % (2.3.1.3). Titolare con la soluzione 0,025 M di iodio (2.3.1.5) l'anidride solforosa liberata; sia n'' il volume di iodio impiegato.
- 2.3.4. *Espressione dei risultati*
- 2.3.4.1. Calcolo
Anidride solforosa libera in milligrammi per litro: $32 n$.
Anidride solforosa totale in mg/l: $32 (n + n' + n'')$.
Osservazioni:
1) Per i vini rossi poveri in SO_2 è opportuno impiegare iodio con una molarità inferiore a 0,025 M (per esempio: 0,01 M). In tal caso sostituire nelle formule sopra riportate il coefficiente 32 con 12,8.

- 2) Per i vini rossi, torna utile illuminare il vino dal basso con un fascio di luce gialla ottenuta mediante una lampada elettrica comune e una soluzione di cromato di potassio oppure mediante una lampada a vapori di sodio. La trasparenza del vino, che diviene opaco appena raggiunto il viraggio della salda d'amido, va osservata in una camera oscura.
- 3) Quando la quantità di anidride solforosa trovata è prossima o superiore al limite legale, è opportuno dosare l'anidride solforosa totale con il metodo di riferimento.
- 4) Quando interessa particolarmente il dosaggio dell'anidride solforosa, questo verrà convenzionalmente determinato su un campione mantenuto per due giorni al riparo dall'aria e alla temperatura di 20 °C prima dell'analisi, che sarà eseguita anch'essa a tale temperatura.
- 5) Poiché alcune sostanze vengono ossidate dallo iodio in ambiente acido, per un dosaggio più preciso occorre valutare la quantità di iodio consumata da tali sostanze. A tale scopo, prima di effettuare la titolazione con lo iodio, occorre combinare l'anidride solforosa libera con un eccesso di aldeide acetica o propionica. In una beuta da 300 ml aggiungere a 50 ml di vino 5 ml di soluzione di aldeide acetica (C₂H₄O) a 7 g/l oppure 5 ml di una soluzione di aldeide propionica (C₃H₆O) a 10 g/l.

Chiudere con un tappo e lasciare riposare per almeno 30 minuti. Aggiungere 3 ml di acido solforico al 10 % (2.3.1.3) e la soluzione 0,025 M di iodio (2.3.1.5) in quantità sufficiente per ottenere il viraggio della salda di amido. Sia n''' il volume di iodio impiegato. Questo valore deve essere detratto da n (SO₂ libera) e da $n + n' + n''$ (SO₂ totale).

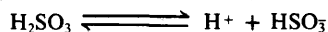
In genere, il valore di n''' è basso: 0,2-0,3 ml di iodio 0,025 M. Se il vino è stato addizionato di acido ascorbico, n''' risulta molto più elevato e si può, almeno approssimativamente, misurare la quantità di questo prodotto mediante il valore di n''' , sapendo che 1 ml di iodio 0,025 M ossida 4,4 mg di acido ascorbico. Attraverso la misura di n''' , si possono così riconoscere senza difficoltà i vini che sono stati addizionati di acido ascorbico in quantità superiore a 20 mg/l, sempre che questo non si sia trasformato in prodotti di ossidazione.

3. ANIDRIDE SOLFOROSA MOLECOLARE

3.1. Principio del metodo

La percentuale di anidride solforosa molecolare, H₂SO₃, nell'anidride solforosa libera viene valutata in funzione del pH, del titolo alcolometrico e della temperatura.

Per una data temperatura e un dato titolo alcolometrico:



$$[\text{H}_2\text{SO}_3] = \frac{L}{10^{(\text{pH} - \text{pK}_M)} + 1} \quad (1)$$

$$\text{dove } \text{pK}_M = \text{pK}_T - \frac{A\sqrt{i}}{1 + B\sqrt{i}}$$

$$L = [\text{H}_2\text{SO}_3] + [\text{HSO}_3^-]$$

i = forza ionica.

A e B = coefficienti che variano con la temperatura e con il titolo alcolometrico.

K_T = costante termodinamica di dissociazione; il valore di pK_T è dato nella tabella 1 in funzione del titolo alcolometrico e della temperatura.

K_M = costante mista di dissociazione.

Attribuendo alla forza ionica i il valore medio 0,038, la tabella 2 dà i valori di pK_M in funzione della temperatura e del titolo alcolometrico.

Il tenore in anidride solforosa molecolare ottenuto dalla relazione (1) è dato nella tabella 3 in funzione del pH, della temperatura e del titolo alcolometrico.

3.2. Calcolo

Conoscendo il pH del vino ed il relativo titolo alcolometrico, la percentuale di anidride solforosa molecolare per una data temperatura t °C, è data nella tabella 3; sia X %.

Tenore in anidride solforosa molecolare espresso in mg/l:

$X \cdot C$

C = tenore in anidride solforosa libera espresso in mg/l.

TABELLA 1
Valore della costante termodinamica pK_T

Alcool % in volume	Temperatura in °C				
	20	25	30	35	40
0	1,798	2,000	2,219	2,334	2,493
5	1,897	2,098	2,299	2,397	2,527
10	1,997	2,198	2,394	2,488	2,606
15	2,099	2,301	2,503	2,607	2,728
20	2,203	2,406	2,628	2,754	2,895

TABELLA 2
Valore della costante mista pK_M ($I = 0,038$)

Alcool % in volume	Temperatura in °C				
	20	25	30	35	40
0	1,723	1,925	2,143	2,257	2,416
5	1,819	2,020	2,220	2,317	2,446
10	1,916	2,116	2,311	2,405	2,522
15	2,014	2,216	2,417	2,520	2,640
20	2,114	2,317	2,538	2,663	2,803

TABELLA 3
Anidride solforosa molecolare in percentuale di anidride solforosa libera (I = 0,038)

pH	T = 20 °C				
	Alcool % in volume				
	0	5	10	15	20
2,8	7,73	9,46	11,55	14,07	17,09
2,9	6,24	7,66	9,40	11,51	14,07
3,0	5,02	6,18	7,61	9,36	11,51
3,1	4,03	4,98	6,14	7,58	9,36
3,2	3,22	3,99	4,94	6,12	7,58
3,3	2,58	3,20	3,98	4,92	6,12
3,4	2,06	2,56	3,18	3,95	4,92
3,5	1,64	2,04	2,54	3,16	3,95
3,6	1,31	1,63	2,03	2,53	3,16
3,7	1,04	1,30	1,62	2,02	2,53
3,8	0,83	1,03	1,29	1,61	2,02
T = 25 °C					
2,8	11,47	14,23	17,15	20,67	24,75
2,9	9,58	11,65	14,12	17,15	22,71
3,0	7,76	9,48	11,55	14,12	17,18
3,1	6,27	7,68	9,40	11,55	14,15
3,2	5,04	6,20	7,61	9,40	11,58
3,3	4,05	4,99	6,14	7,61	9,42
3,4	3,24	4,00	4,94	6,14	7,63
3,5	2,60	3,20	3,97	4,94	6,16
3,6	2,07	2,56	3,18	3,97	4,55
3,7	1,65	2,05	2,54	3,18	3,98
3,8	1,32	1,63	2,03	2,54	3,18
T = 30 °C					
2,8	18,05	20,83	24,49	29,28	35,36
2,9	14,89	17,28	20,48	24,75	30,29
3,0	12,20	14,23	16,98	20,71	25,66
3,1	9,94	11,65	13,98	17,18	21,52
3,2	8,06	9,48	11,44	14,15	17,88
3,3	6,51	7,68	9,30	11,58	14,75
3,4	5,24	6,20	7,53	9,42	12,08
3,5	4,21	4,99	6,08	7,63	9,84
3,6	3,37	4,00	4,89	6,16	7,98
3,7	2,69	3,21	3,92	4,95	6,44
3,8	2,16	2,56	3,14	3,98	5,19

TABELLA 3 (continuazione)
 Anidride solforosa molecolare in percentuale di anidride solforosa libera (I = 0,038)

T = 35 °C					
pH	Alcool % in volume				
	0	5	10	15	20
2,8	22,27	24,75	28,71	34,42	42,18
2,9	18,53	20,71	24,24	29,42	36,69
3,0	15,31	17,18	20,26	24,88	31,52
3,1	12,55	14,15	16,79	20,83	26,77
3,2	10,24	11,58	13,82	17,28	22,51
3,3	8,31	9,42	11,30	14,23	18,74
3,4	6,71	7,63	9,19	11,65	15,49
3,5	5,44	6,16	7,44	9,48	12,71
3,6	4,34	4,95	6,00	7,68	10,36
3,7	3,48	3,98	4,88	6,20	8,41
3,8	2,78	3,18	3,87	4,99	6,80
T = 40 °C					
2,8	29,23	30,68	34,52	40,89	50,14
2,9	24,70	26,01	29,52	35,47	44,74
3,0	20,67	21,83	24,96	30,39	38,85
3,1	17,15	18,16	20,90	25,75	33,54
3,2	14,12	14,98	17,35	21,60	28,62
3,3	11,55	12,28	14,29	17,96	24,15
3,4	9,40	10,00	11,70	14,81	20,19
3,5	7,61	8,11	9,52	12,13	16,73
3,6	6,14	6,56	7,71	9,88	13,77
3,7	4,94	5,28	6,22	8,01	11,25
3,8	3,97	4,24	5,01	6,47	9,15

26. SODIO

1. PRINCIPIO DEI METODI

1.1. Metodo di riferimento: Spettrofotometria di assorbimento atomico

Il sodio viene dosato direttamente nel vino per spettrofotometria di assorbimento atomico dopo addizione di un tampone spettrale di cloruro di cesio per evitare la ionizzazione del sodio.

1.2. Metodo usuale: Fotometria di fiamma

Il sodio viene dosato direttamente nel vino diluito al 10 % mediante fotometria di fiamma.

2. METODO DI RIFERIMENTO

2.1. Reattivi

2.1.1. Soluzione di sodio di 1 g per litro

Utilizzare una soluzione standard di sodio di 1 g/l del tipo in commercio. Questa soluzione può essere preparata sciogliendo 2,542 g di cloruro di sodio NaCl essiccato, in acqua distillata e portando il volume ad un litro.

Conservare questa soluzione in una bottiglia di polietilene.

2.1.2. Soluzione modello:

Acido citrico $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	3,5 g
Saccarosio $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
Glicerolo $C_3H_8O_3$	5,0 g
Cloruro di calcio anidro $Ca Cl_2$	50 mg
Cloruro di magnesio anidro $Mg Cl_2$	50 mg
Alcol assoluto C_2H_5OH	50 ml
Acqua q.b. a	500 ml

2.1.3. Soluzione di cloruro di cesio al 5 % in cesio

Sciogliere 6,330 g di cloruro di cesio $CsCl$ in 100 ml di acqua distillata.

2.2. Apparecchiatura

2.2.1. Spettrofotometro di assorbimento atomico. Gas di alimentazione del bruciatore: aria e acetilene.

2.2.2. Lampada a catodo cavo al sodio.

2.3. Modo di operare

2.3.1. Preparazione del campione

Prelevare 2,5 ml di vino versandoli in un pallone tarato da 50 ml; aggiungere 1 ml di soluzione di cloruro di cesio (2.1.3) e portare a volume con acqua distillata.

2.3.2. *Taratura*

Versare in una serie di palloni tarati da 100 ml 5,0 ml di soluzione modello; aggiungere in ciascuno di essi rispettivamente 0 - 2,5 - 5 - 7,5 - 10 ml della soluzione di sodio a 1 g/l (2.1.1), previamente diluita 1/100; aggiungere in tutti i recipienti 2 ml della soluzione di cloruro di cesio (2.1.3) e completare a 100 ml con acqua distillata.

Le soluzioni di taratura preparate hanno una concentrazione rispettivamente di 0 - 0,25 - 0,50 - 0,75 - 1,00 mg di sodio per litro e contengono 1 g di cesio per litro. Queste soluzioni devono essere conservate in bottiglie di polietilene.

2.3.3. *Dosaggio*

Regolare la lunghezza d'onda a 589,0 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con la soluzione modello contenente 1 g di cesio per litro (2.3.2). Aspirare direttamente il vino diluito nel bruciatore dello spettrofotometro, quindi successivamente le soluzioni di taratura (2.3.2). Leggere le assorbanze, effettuare le determinazioni in doppio.

2.4. **Espressione dei risultati**2.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva dell'assorbanza in funzione della concentrazione di sodio delle soluzioni di taratura.

Riportare il valore medio delle assorbanze ottenute per il campione su tale curva e determinare la concentrazione C di sodio in milligrammi per litro.

La concentrazione di sodio espressa in milligrammi per litro di vino, senza cifre decimali, sarà:

$$20 \cdot C$$

2.4.2. *Ripetibilità (r)*

$$r = 1 + 0,024 X_i \text{ mg/l}$$

dove X_i = concentrazione in sodio del campione espressa in mg/l.

2.4.3. *Riproducibilità (R)*

$$R = 2,5 + 0,05 X_i \text{ mg/l}$$

dove X_i = concentrazione in sodio del campione espressa in mg/l.

3. **METODO USUALE**3.1. **Reattivi**3.1.1. *Soluzione di riferimento di sodio a 20 mg per litro*

Alcool assoluto (C ₂ H ₅ OH)	10	ml
Acido citrico (C ₆ H ₈ O ₇ , H ₂ O)	700	mg
Saccarosio (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300	mg
Glicerolo (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000	mg
Tartrato acido di potassio (C ₄ H ₅ KO ₆)	481,3	mg
Cloruro di calcio anidro (Ca Cl ₂)	10	mg
Cloruro di magnesio anidro (Mg Cl ₂)	10	mg
Cloruro di sodio seccato (NaCl)	50,84	mg
Acqua q.b. a	1	l

3.1.2. *Soluzione di diluizione.*

Alcool assoluto (C ₂ H ₅ OH)	10	ml
Acido citrico (C ₆ H ₈ O ₇ · H ₂ O)	700	mg
Saccarosio (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300	mg
Glicerolo (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000	mg
Tartrato acido di potassio (C ₄ H ₅ KO ₆)	481,3	mg
Cloruro di calcio anidro (Ca Cl ₂)	10	mg
Cloruro di magnesio anidro (Mg Cl ₂)	10	mg
Acqua q.b. a	1	l

Per preparare le soluzioni 3.1.1 e 3.1.2 sciogliere il tartrato acido di potassio in circa 500 ml di acqua distillata molto calda, mescolare la soluzione con gli altri componenti precedentemente sciolti in 400 ml di acqua distillata e completare ad 1 litro.

Aggiungere alle soluzioni 2 gocce di isotiocianato di allile e conservarle in bottiglie in polietilene.

3.2. **Apparecchiatura**

3.2.1. Fotometro a fiamma alimentato con miscela aria/butano.

3.3. **Modo di operare**3.3.1. *Taratura*

In cinque palloni tarati da 100 ml versare 5 - 10 - 15 - 20 - 25 ml della soluzione di sodio a 20 mg/l (3.1.1) e completare a 100 ml con la soluzione di diluizione (3.1.2). Le soluzioni ottenute contengono rispettivamente 1 - 2 - 3 - 4 - 5 mg di sodio per litro.

3.3.2. *Dosaggio*

Effettuare le misure a 589,0 nm. Regolare il 100 % di trasmissione con acqua distillata. Aspirare direttamente nel bruciatore del fotometro una dopo l'altra la serie di soluzioni di taratura (3.3.1), quindi il vino diluito al 10 % con acqua distillata e rilevare le percentuali di trasmissione. Se necessario, diluire il vino già diluito al 10 %, con la soluzione di diluizione (3.1.2).

3.4. **Espressione dei risultati**3.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva delle variazioni della percentuale di trasmissione in funzione della concentrazione di sodio delle soluzioni di taratura. Riportare il valore della trasmissione ottenuta per il campione di vino diluito su tale curva e ricavare la concentrazione C in sodio. La concentrazione in milligrammi di sodio per litro, senza cifre decimali è data da:

$$C \cdot F$$

F = fattore di diluizione

3.4.2. *Ripetibilità (r)*

(tranne i vini liquorosi) $r = 1,4 \text{ mg/l}$

vini liquorosi: $r = 2,0 \text{ mg/l}$

3.4.3. *Riproducibilità (R)*

$$R = 4,7 + 0,008 X_i \text{ mg/l}$$

X_i = concentrazione in sodio del campione espressa in mg/l.

27. POTASSIO

1. PRINCIPIO DEI METODI

1.1. Metodo di riferimento

Il potassio viene dosato direttamente nel vino diluito per spettrofotometria di assorbimento atomico dopo addizione di un tampone spettrale di cloruro di cesio per evitare la ionizzazione del potassio.

1.2. Metodo usuale

Il potassio viene dosato direttamente nel vino diluito per fotometria di fiamma.

2. METODO DI RIFERIMENTO

2.1. Reattivi

2.1.1. Soluzione di potassio di 1 g per litro

Usare una soluzione standard di potassio di 1 g/l del tipo in commercio. Questa soluzione può essere preparata sciogliendo 4,813 g di tartrato acido di potassio ($C_4H_5KO_6$) in acqua distillata e portando il volume ad un litro.

2.1.2. Soluzione modello:

Acido citrico ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)	3,5 g
Saccarosio ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	1,5 g
Glicerolo ($C_3H_8O_3$)	5,0 g
Cloruro di calcio anidro ($Ca Cl_2$)	50 mg
Cloruro di magnesio anidro ($Mg Cl_2$)	50 mg
Alcol assoluto (C_2H_5OH)	50 ml
Acqua q b. a	500 ml

2.1.3. Soluzione di cloruro di cesio al 5 % in cesio

Sciogliere 6,330 g di cloruro di cesio $CsCl$ in 100 ml di acqua distillata.

2.2. Apparecchiatura

2.2.1. Spettrofotometro di assorbimento atomico. Gas di alimentazione del bruciatore: aria e acetilene.

2.2.2. Lampada a catodo cavo al potassio.

2.3. Modo di operare

2.3.1. Preparazione del campione

Prelevare 2,5 ml di vino (previamente diluito al 10 %), versarli in un pallone tarato da 50 ml; aggiungere 1 ml di soluzione di cloruro di cesio (2.1.3) e portare a volume con acqua distillata.

2.3.2. Taratura

Versare in una serie di palloni tarati da 100 ml 5 ml di soluzione modello (2.1.2); aggiungere rispettivamente 0 - 2,0 - 4,0 - 6,0 - 8,0 ml della soluzione di potassio di 1 g/l (2.1.1)

(previamente diluita al 10 %); aggiungere in tutti i palloni 2 ml della soluzione di cloruro di cesio (2.1.3) e portare il volume a 100 ml con acqua distillata. Le soluzioni di taratura preparate hanno un titolo rispettivamente di 0 - 2 - 4 - 6 - 8 mg di potassio per litro e contengono 1 g di cesio per litro; vanno conservate in flaconi di polietilene.

2.3.3. *Dosaggio*

Regolare la lunghezza d'onda a 769,9 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con la soluzione modello contenente 1 g di cesio per litro (2.3.2). Aspirare direttamente il vino diluito (2.3.1) nel bruciatore dello spettrofotometro, quindi successivamente le soluzioni di taratura (2.3.2). Leggere le assorbanze, effettuare le determinazioni in doppio.

2.4. **Espressione dei risultati**

2.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva di variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione di potassio delle soluzioni di taratura. Riportare il valore medio delle assorbanze ottenute per il campione di vino diluito su tale curva e determinare la concentrazione *C* di potassio in milligrammi per litro.

La concentrazione di potassio espressa in milligrammi per litro di vino, è data da: $F \cdot C$ dove *F* = fattore di diluizione (in questo caso 200)

2.4.2. *Ripetibilità (r)*

$$r = 35 \text{ mg/l}$$

2.4.3. *Riproducibilità (R)*

$$R = 66 \text{ mg/l}$$

2.4.4. *Altre espressioni dei risultati*

— in milliequivalenti per litro: $0,0256 \cdot F \cdot C$

— in tartrato acido di potassio in milligrammi per litro: $4,813 \cdot F \cdot C$

3. **METODO USUALE: SPETTROFOTOMETRIA DI FIAMMA**

3.1. **Reattivi**

3.1.1. *Soluzione di riferimento di potassio di 100 mg per litro*

Alcool assoluto (C ₂ H ₅ OH)	10 ml
Acido citrico (C ₆ H ₈ O ₇ , H ₂ O)	700 mg
Saccarosio (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300 mg
Glicerolo (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000 mg
Cloruro di sodio (NaCl)	50,8 mg
Cloruro di calcio anidro (Ca Cl ₂)	10 mg
Cloruro di magnesio anidro (Mg Cl ₂)	10 mg
Tartrato acido di potassio essiccato (C ₄ H ₅ KO ₆)	481,3 mg
Acqua q.b. a	1 000 ml

Per preparare questa soluzione sciogliere il tartrato acido di potassio in circa 500 ml di acqua distillata molto calda, mescolare la soluzione con gli altri componenti precedentemente sciolti in 400 ml di acqua distillata e completare ad 1 litro.

3.1.2. *Soluzione di diluizione*

Alcool assoluto (C ₂ H ₅ OH)	10 ml
Acido citrico (C ₆ H ₈ O ₇ · H ₂ O)	700 mg
Saccarosio (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300 mg
Glicerolo (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000 mg
Cloruro di sodio (NaCl)	50,8 mg
Cloruro di calcio anidro (Ca Cl ₂)	10 mg
Cloruro di magnesio anidro (MgCl ₂)	10 mg
Acido tartarico (C ₄ H ₆ O ₆)	383 mg
Acqua q.b. a	1 000 ml

Aggiungere alle soluzioni 2 gocce di isotiocianato di allile e conservarle in flaconi di polietilene.

3.2. **Apparecchiatura**

3.2.1. Fotometro a fiamma alimentato con miscela aria/butano.

3.3. **Modo di operare**3.3.1. *Taratura*

In quattro palloni tarati da 100 ml versare 25 - 50 - 75 - 100 ml della soluzione di riferimento (3.1.1) e completare a 100 ml con la soluzione di diluizione (3.1.2). Le soluzioni ottenute contengono rispettivamente 25 - 50 - 75 - 100 mg per litro di potassio.

3.3.2. *Dosaggio*

Effettuare le letture a 766 nm. Regolare il 100 % di trasmissione con acqua distillata. Aspirare direttamente nel bruciatore del fotometro una dopo l'altra la serie di soluzioni di taratura (3.3.1), quindi il vino diluito al 10 % con acqua distillata e rilevare le percentuali di trasmissione. Se necessario, diluire nuovamente il vino già diluito al 10 %, con la soluzione di diluizione (3.1.2).

3.4. **Espressione dei risultati**3.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva di variazione delle percentuali di trasmissione in funzione della concentrazione di potassio delle soluzioni di taratura. Riportare il valore della trasmissione ottenuta per il campione di vino diluito su tale curva e determinare la concentrazione C in potassio. La concentrazione in milligrammi di potassio per litro, senza cifre decimali, è data da:

$$C \cdot F$$

dove F = fattore di diluizione

3.4.2. *Ripetibilità (r)*

$$r = 17 \text{ mg/l.}$$

3.4.3. *Riproducibilità (R)*

$$R = 66 \text{ mg/l.}$$

3.4.4.

Altre espressioni dei risultati:

- in milliequivalenti per litro: $0,0256 \cdot F \cdot C$
- in tartrato acido di potassio in milligrammi per litro: $4,813 \cdot F \cdot C$.

28. MAGNESIO**1. PRINCIPIO**

Il magnesio viene dosato direttamente nel vino opportunamente diluito mediante spettrofotometria di assorbimento atomico.

2. REAGENTI**2.1. Soluzione di taratura concentrata di magnesio di 1 g/l.**

Utilizzare una soluzione standard di 1 g/l magnesio reperibile in commercio. Tale soluzione può essere preparata sciogliendo 8,3646 g di cloruro di magnesio ($MgCl_2 \cdot 6 H_2O$) in acqua distillata e portando il volume ad 1 litro.

2.2. Soluzione di taratura diluita: 5 mg di magnesio per litro.

Osservazione: Conservare le soluzioni di taratura di magnesio in flaconi in polietilene.

3. APPARECCHIATURA**3.1. Spettrofotometro di assorbimento atomico dotato di un bruciatore alimentato con aria e acetilene.****3.2. Lampada a catodo cavo al magnesio.****4. MODO DI OPERARE****4.1. Preparazione del campione**

Diluire il vino all' 1 % con acqua distillata.

4.2. Taratura

In una serie di palloni tarati da 100 ml, versare 5 - 10 - 15 - 20 ml della soluzione 2.2 e completare a 100 ml con acqua distillata. Le soluzioni ottenute contengono rispettivamente 0,25 - 0,50 - 0,75 - 1 mg di magnesio per litro. Conservarle in flaconi di polietilene.

4.3. Dosaggio

Selezionare la lunghezza d'onda a 285 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con acqua distillata. Aspirare direttamente il vino diluito nel bruciatore dello spettrofotometro ripetendo quindi l'operazione con le varie soluzioni di taratura preparate al punto 4.2. Rilevare le assorbanze; effettuare le determinazioni in doppio.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI**5.1. Calcolo**

Tracciare la curva di variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione in magnesio delle soluzioni di taratura.

Riportare il valore medio delle assorbanze ottenute per il campione di vino diluito su detta curva e determinare la concentrazione C di magnesio.

La concentrazione di magnesio espressa in milligrammi per litro di vino senza cifre decimali è data da:

$$100 \cdot C$$

5.2. **Ripetibilità (r)**

$$r = 3 \text{ mg/l}$$

5.3. **Riproducibilità (R)**

$$R = 8 \text{ mg/l}$$

29. CALCIO

1. PRINCIPIO

Il calcio viene dosato direttamente nel vino opportunamente diluito mediante spettrofotometria di assorbimento atomico dopo addizione di un tampone spettrale.

2. REAGENTI

2.1. Soluzione di taratura a 1 g di calcio per litro.

Utilizzare una soluzione standard di calcio reperibile in commercio, di un g/l. Tale soluzione può essere preparata sciogliendo 2,5 g di carbonato di calcio, CaCO_3 , nella quantità di HCL al 10 % (v/v) sufficiente a scioglierla, portando quindi il volume ad 1 l con acqua distillata.

2.2. Soluzione di taratura diluita a 50 mg di calcio per litro.

Osservazione: conservare le soluzioni di taratura di calcio in flaconi di polietilene.

2.3. Soluzione di cloruro di lantanio di 50 g/l in lantanio.

Sciogliere 13,369 g di cloruro di lantanio ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) in acqua distillata; aggiungere 1 ml di HCl diluito al 10 % (v/v) e portare il volume a 100 ml.

3. APPARECCHIATURA

3.1. Spettrofotometro di assorbimento atomico dotato di un bruciatore alimentato con aria/acetilene.

3.2. Lampada a catodo cavo al calcio.

4. MODO DI OPERARE

4.1. Preparazione del campione

In un pallone da 20 ml versare 1 ml di vino, 2 ml di soluzione 2.3 e portare a volume con acqua distillata. Il titolo in lantanio del vino diluito al 5 % è di 5 g/l.

Osservazione: Per i vini dolci, è sufficiente la concentrazione di 5 g di lantanio per litro a condizione che la diluizione porti il tenore in zuccheri a meno di 2,5 g/l. Per concentrazioni in zuccheri superiori occorre portare il tenore in lantanio a 10 g/l.

4.2. Taratura

Porre in cinque palloni tarati da 100 ml rispettivamente 0 - 5 - 10 - 15 - e 20 ml della soluzione 2.2; aggiungere in tutti i palloni 10 ml della soluzione 2.3 e portare il volume a 100 ml con acqua distillata. Le soluzioni di taratura così preparate contengono rispettivamente 0 - 2,5 - 5 - 7,5 e 10 mg di calcio per litro e 5 g di lantanio per litro. Conservare queste soluzioni in flaconi di polietilene.

4.3. Dosaggio

Selezionare la lunghezza d'onda di 422,7 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con la soluzione contenente 5 g di lantanio per litro (4.2). Aspirare direttamente il vino diluito nel bruciatore dello spettrofotometro e quindi, una dopo l'altra, le soluzioni di taratura preparate al punto 4.2. Rilevare le assorbanze. Effettuare le determinazioni in doppio.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI**5.1. Calcolo**

Tracciare la curva di variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione in calcio delle soluzioni di taratura.

Riportare il valore medio delle assorbanze ottenute per il campione di vino diluito su tale curva e determinare la concentrazione C di calcio. La concentrazione in calcio, espressa in mg/l di vino mediante numeri interi, è data da:

$$20 \cdot C$$

5.2. Ripetibilità (r)

tenore < 60 mg/l : $r = 2,7$ mg/l

tenore > 60 mg/l : $r = 4$ mg/l

5.3. Riproducibilità (R)

$$R = 0,114 x_i - 0,5$$

X_i = concentrazione in mg/l del campione.

30. FERRO**1. PRINCIPIO DEL METODI****Metodo di riferimento**

Il ferro viene dosato direttamente per spettrofotometria di assorbimento atomico previa opportuna diluizione del vino ed eliminazione dell'alcool.

Metodo usuale

Dopo mineralizzazione del vino mediante perossido di idrogeno, il ferro III viene portato allo stato di ferro II e viene quindi dosato grazie alla colorazione rossa che dà con l'ortofenantrolina.

2. METODO DI RIFERIMENTO**2.1. Reattivi****2.1.1. Soluzione di taratura concentrata di ferro III di 1 g/l.**

Utilizzare una soluzione standard del tipo in commercio di 1 g /l. Tale soluzione può essere preparata sciogliendo 8,6341 g di solfato ferrico ammonico $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ in acqua distillata leggermente acidificata con acido cloridrico M e portando il volume ad 1 l.

2.1.2. Soluzione di taratura diluita di ferro di 100 mg/l.**2.2. Apparecchiatura****2.2.1. Evaporatore rotante con bagnomaria termoregolato.****2.2.2. Spettrofotometro di assorbimento atomico dotato di un bruciatore alimentato con aria/acetilene.****2.2.3. Lampada a catodo cavo al ferro.****2.3. Modo di operare****2.3.1. Preparazione del campione**

Eliminare l'alcol del vino per concentrazione del suo volume a circa la metà mediante un evaporatore rotativo (50-60 °C). Riportare al volume iniziale con acqua distillata.

Prima del dosaggio effettuare, se necessario, una diluizione.

2.3.2. Taratura

In cinque palloni tarati da 100 ml, porre 1 - 2 - 3 - 4 - 5 ml della soluzione di ferro di 100 mg/l (2.1.2) e portare a 100 ml con acqua distillata. Le soluzioni preparate contengono rispettivamente 1 - 2 - 3 - 4 - 5 mg di ferro per litro.

Conservare queste soluzioni in flaconi di polietilene.

2.3.3. Dosaggio

Regolare la lunghezza d'onda a 248,3 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con l'acqua distillata. Aspirare direttamente nel bruciatore dello spettrofotometro il cam-

pione diluito e quindi le varie soluzioni di taratura preparate al punto 2.3.2. Leggere le assorbanze. Effettuare le determinazioni in doppio.

2.4. **Espressione dei risultati**

2.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva di variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione in ferro delle soluzioni di taratura. Riportare il valore medio delle assorbanze ottenute per il campione di vino diluito su tale curva e determinare la concentrazione in ferro C.

La concentrazione in ferro espressa in mg/l di vino, con una cifra decimale, è data da:

$$C \cdot F$$

F = fattore di diluizione

3. **METODO USUALE**

3.1. **Reattivi**

3.1.1. Soluzione di perossido di idrogeno (H_2O_2) al 30 % (m/v) esente da ferro.

3.1.2. Soluzione 1 M di acido cloridrico (HCl) esente da ferro.

3.1.3. Idrossido di ammonio (NH_4OH) ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml).

3.1.4. Pietra pomice trattata con acido cloridrico bollente diluito 1:2 e lavata con acqua distillata.

3.1.5. Soluzione di idrochinone ($C_6H_6O_2$) al 2,5 %, acidificata con 1 ml di acido solforico ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) per 100 ml di soluzione. Conservare tale soluzione in frigorifero in flacone giallo e sostituirla non appena si riscontri la minima traccia di imbrunimento.

3.1.6. Soluzione di solfito di sodio (Na_2SO_3) al 20 %, preparata con solfito di sodio e anidro.

3.1.7. Soluzione di ortofenantrolina ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) allo 0,5 % in alcool al 96 % vol.

3.1.8. Soluzione di acetato di ammonio ($CH_3 COONH_4$) al 20 % (m/v).

3.1.9. Soluzione di ferro III di 1 g/l di ferro. Utilizzare una soluzione standard disponibile in commercio. Questa soluzione può essere preparata sciogliendo 8,6341 g di solfato ferrico ammonico [$NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$] in 100 ml di soluzione 1M di acido cloridrico (3.1.2) e portando il volume ad 1 litro con la soluzione 1M di acido cloridrico (3.1.2).

3.1.10. Soluzione di taratura diluita di ferro di 100 mg/l.

3.2. **Apparecchiatura**

3.2.1. Pallone di Kjeldahl da 100 ml.

3.2.2. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni a 508 nm.

3.3. **Modo di operare**

3.3.1. *Mineralizzazione*

3.3.1.1. **Vino con tenore in zuccheri inferiore a 50 g/l:**

Introdurre in un pallone di Kjeldahl 25 ml di vino, 10 ml di soluzione di perossido di idrogeno (3.1.1) ed alcuni granuli di pietra pomice (3.1.4). Concentrare il liquido sino ad un volume di 2-3 ml.

Dopo il raffreddamento, aggiungere al residuo ottenuto, senza bagnare le pareti del pallone, la quantità di idrossido di ammonio (3.1.3) necessaria per alcalinizzare l'ambiente e per precipitare gli idrossidi.

Dopo il raffreddamento, aggiungere al liquido alcalino la quantità di soluzione M di acido cloridrico (3.1.2) necessaria a sciogliere il precipitato degli idrossidi e travasare quindi la soluzione ottenuta in un pallone tarato da 100 ml. Lavare quindi il pallone di Kjeldahl con la soluzione M di acido cloridrico (3.1.2) e portare il volume a 100 ml con la stessa soluzione.

3.3.1.2. Mosti e vini il cui tenore in zuccheri è superiore a 50 g/l:

3.3.1.2.1. Tenore in zuccheri compreso tra 50 e 200 g/l:

trattare 25 ml del campione di mosto o di vino con 20 ml di soluzione di perossido d'idrogeno (3.1.1).

Continuare come descritto in 3.3.1.1.

3.3.1.2.2. Tenore in zuccheri superiore a 200 g/l:

trattare i campioni di mosto o di vino secondo il modo di operare 3.3.1.2.1, previa diluizione ad 1/2 o anche ad 1/4.

3.3.2. *Prova in bianco*

Effettuare una prova in bianco con acqua distillata utilizzando lo stesso volume di perossido di idrogeno (3.1.1) utilizzato per la mineralizzazione e seguendo il procedimento descritto al punto 3.3.1.1.

3.3.3. *Dosaggio*

Prelevare 20 ml della soluzione cloridrica del prodotto di mineralizzazione del campione (3.3.1.1) e 20 ml della soluzione cloridrica «prova in bianco» (3.3.2), versandoli in 2 palloni tarati da 50 ml. Aggiungere in ciascun pallone 2 ml della soluzione di idrochinone (3.1.5), 2 ml della soluzione di solfito (3.1.6) ed 1 ml della soluzione di ortofenantrolina (3.1.7). Lasciare riposare per 15 minuti, per favorire la riduzione da ferro III a ferro II. Aggiungere 10 ml della soluzione di acetato di ammonio (3.1.8), portare il volume a 50 ml con acqua distillata ed agitare i due palloni tarati. Misurare l'assorbanza della soluzione da dosare a 508 nm regolando lo zero della scala delle assorbanze con la soluzione della prova in bianco.

3.3.4. *Taratura*

Porre in quattro palloni tarati da 50 ml 0,5 - 1 - 1,5 - 2 ml della soluzione a 100 mg/l di ferro (3.1.10) e 20 ml di acqua distillata; procedere quindi secondo il modo di operare descritto al punto 3.3.3. Queste soluzioni corrispondono rispettivamente a 50 - 100 - 150 - 200 microgrammi di ferro.

3.4. **Espressione dei risultati**

3.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva delle variazioni dell'assorbanza in funzione della concentrazione in ferro delle soluzioni di taratura. Riportare l'assorbanza ottenuta per la soluzione da esaminare e determinare la concentrazione di ferro C presente in 20 ml della soluzione cloridrica di mineralizzazione, corrispondenti a 5 ml del campione da analizzare.

La concentrazione del ferro in mg/l di vino, espressa con una cifra decimale, è data da:

$$200 \cdot C$$

Se il vino (o il mosto) è stato diluito, la concentrazione del ferro espressa in mg/l con una cifra decimale, è data da:

$$200 \cdot C \cdot F$$

F = fattore di diluizione.

31. RAME**1. PRINCIPIO DEL METODO**

È basato sull'impiego della spettrofotometria di assorbimento atomico.

2. APPARECCHIATURA

- 2.1. Capsula di platino.
- 2.2. Spettrofotometro di assorbimento atomico.
- 2.3. Lampada a catodo cavo al rame.
- 2.4. Gas di alimentazione: aria acetilene o protossido di azoto/acetilene.

3. REATTIVI

- 3.1. Rame metallo.
- 3.2. Acido nitrico concentrato (HNO_3) 65 % ($\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).
- 3.3. Acido nitrico diluito 1/2 (v/v).
- 3.4. **Soluzione di rame a 1 g/l**

Utilizzare una soluzione standard di rame del tipo in commercio. Questa soluzione può essere preparata pesando 1,000 g di rame metallico e trasferendo quantitativamente in un matraccio tarato da 1 000 ml. Aggiungere acido nitrico diluito 1/2 (3.3) nella quantità esattamente necessaria a sciogliere il metallo e quindi 10 ml di acido nitrico concentrato (3.2); portare infine a volume con acqua bidistillata.

3.5. Soluzione di rame a 100 mg/l

Prelevare 10 ml della soluzione 3.4 e versarli in un pallone tarato da 100 ml portando a volume con acqua bidistillata.

4. PROCEDIMENTO**4.1. Preparazione del campione e dosaggio del rame**

Se occorre preparare una diluizione appropriata con acqua bidistillata.

4.2. Taratura

Prelevare 0,5 - 1 - 2 ml della soluzione 3.5 (100 mg di rame per litro), porli in matracci tarati da 100 ml portando a volume con acqua bidistillata; le soluzioni ottenute contengono rispettivamente 0,5 - 1 - 2 mg/l di rame.

4.3. Dosaggio

Selezionare la lunghezza d'onda a 324,8 nm, regolare lo zero della scala delle assorbanze con acqua bidistillata. Aspirare direttamente il campione diluito nel bruciatore dello spettrofotometro e dopo, una dopo l'altra, le soluzioni di taratura preparate in 4.2. Leggere le assorbanze. Effettuare le determinazioni in doppio.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. **Calcolo**

Tracciare la curva di variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione in rame delle soluzioni di taratura.

Riportare il valore dell'assorbanza letta per il campione di vino diluito sulla curva di taratura e rilevare la concentrazione C in mg/l.

Se F è fattore di diluizione, il tenore in rame del vino, espresso in milligrammi per litro con due cifre decimali è: $F \cdot C$

Osservazioni:

- a) Le soluzioni per la costruzione della curva di taratura e le diluizioni del campione devono comunque essere scelte sia in funzione della sensibilità dell'apparecchiatura usata che della concentrazione del metallo presente nel campione.
- b) Per concentrazioni molto basse di rame nel campione in esame operare nel modo seguente: porre 100 ml del campione in una capsula di platino, evaporare su bagnomaria a 100 °C fino a consistenza sciropposa, aggiungere goccia a goccia 2,5 ml di acido nitrico concentrato (3.2) cercando di coprire tutto il fondo della capsula. Procedere cautamente all'incenerimento del residuo su piastra riscaldante elettrica oppure su piccola fiamma; introdurre quindi la capsula in forno a muffola regolato alla temperatura di 500 ° ± 25 °C, lasciandola per circa un'ora. Dopo raffreddamento umettare le ceneri con 1 ml di acido nitrico concentrato (3.2), spapolandole con una bacchetta di vetro; evaporare e carbonizzare nuovamente con le stesse modalità. Portare nuovamente la capsula in muffola per 15 minuti; ripetere almeno tre volte il trattamento con acido nitrico concentrato (3.2). Solubilizzare le ceneri aggiungendo nella capsula 1 ml di acido nitrico concentrato (3.2) e 2 ml di acqua bidistillata; travasare in un matraccio tarato da 10 ml. Lavare tre volte la capsula con 2 ml per volta di acqua bidistillata, portare infine a volume con acqua bidistillata.

32. CADMIO**1. PRINCIPIO DEL METODO**

Il cadmio viene dosato direttamente nel vino mediante spettrofotometria di assorbimento atomico senza fiamma.

2. APPARECCHIATURA

Tutta la vetreria dev'essere preliminarmente lavata con acido nitrico concentrato caldo (70-80 °C) e sciacquata con acqua bidistillata.

2.1. Spettrofotometro ad assorbimento atomico provvisto di un forno a grafite, di un correttore di rumori di fondo e di un registratore multipotenziometrico.

2.2. Lampada a catodo cavo al cadmio.

2.3. Micropipette di 5 µl munite di ghiere speciali per misure di assorbimento atomico.

3. REATTIVI

L'acqua usata deve essere acqua bidistillata in un apparecchio di vetro borosilicato oppure acqua di purezza equivalente. Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica riconosciuta e in particolare esenti da cadmio.

3.1. Acido fosforico all'85 % ($p_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2. Soluzione di acido fosforico ottenuta portando 8 ml di acido fosforico a 100 ml con acqua.

3.3. Soluzione 0,02 M di sale bisodico dell'acido etilendiamminotetracetico (EDTA).

3.4. Soluzione tampone a pH 9, ottenuta sciogliendo, in un pallone tarato da 100 ml, 5,4 g di cloruro di ammonio in qualche millilitro d'acqua, aggiungendo 35 ml di soluzione di idrossido di ammonio ($p_{20} = 0,92$ g/ml) diluita al 25 % (v/v) e portando a volume con acqua.

3.5. Nero eriocromo T: diluizione solida all'1 % (m/m) in cloruro di sodio.

3.6. **Solfato di cadmio ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$).**

Il titolo del solfato di cadmio dev'essere verificato operando come segue:

pesare esattamente 102,6 mg del campione di solfato di cadmio, immetterlo quantitativamente in un becher con acqua, agitare fino a scioglimento; aggiungere 5 ml di soluzione tampone a pH 9 e circa 20 mg di nero eriocromo T. Titolare con soluzione di EDTA finché l'indicatore vira al blu.

Il volume di EDTA utilizzato deve essere pari a 20 ml; se esso varia di poco, correggere in conseguenza l'aliquota di solfato di cadmio pesata utilizzata per la preparazione della soluzione di riferimento.

3.7. **Soluzione di riferimento di cadmio di 1 g per litro.**

Usare una soluzione standard esistente in commercio. Questa soluzione può essere ottenuta sciogliendo 2,2820 g di solfato di cadmio in acqua e portando il volume a 1 litro. Conservare la soluzione in un flacone di vetro borosilicato a tappo smerigliato.

4. MODO DI OPERARE**4.1. Preparazione del campione**

Diluire il vino 1:2 (v/v) con la soluzione di acido fosforico.

4.2. **Preparazione delle soluzioni della curva di taratura**

Partendo dalla soluzione di riferimento di cadmio preparare mediante diluizioni successive soluzioni contenenti rispettivamente 2,5 - 5 - 10 - 15 microgrammi di cadmio per litro.

4.3. **Determinazione**

4.3.1. *Programma del forno (proposto a titolo indicativo):*

Essiccazione a 100 °C per 30 secondi.

Mineralizzazione a 900 °C per 20 secondi.

Atomizzazione a 2 250 °C per 2-3 secondi.

Erogazione di azoto (gas di lavaggio): 6 litri/minuto.

NB: Alla fine dell'operazione, portare la temperatura fino a 2 700 °C per depurare il forno.

4.3.2. *Misure di assorbimento atomico*

Selezionare la lunghezza d'onda a 228,8 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con acqua bidistillata. Iniettare nel forno, mediante micropipetta, per tre volte, 5 µl di ciascuna delle soluzioni della gamma di taratura e della soluzione del campione da analizzare. Registrare le assorbanze misurate. Calcolare il valore medio dell'assorbanza partendo dai risultati relativi alle tre iniezioni.

5. **ESPRESSIONE DEI RISULTATI**

5.1. **Modo di calcolo**

Tracciare la curva delle variazioni dell'assorbanza in funzione delle concentrazioni di cadmio delle soluzioni della gamma di taratura. La variazione è lineare. Riportare il valore medio dell'assorbanza della soluzione del campione sulla retta di taratura, dedurne la concentrazione C in cadmio. La concentrazione in cadmio espressa in microgrammi per litro di vino è pari a:

$$2 \cdot C$$

33. ARGENTO**1. PRINCIPIO DEL METODO**

È basato sull'impiego della spettrofotometria di assorbimento atomico previa mineralizzazione del campione.

2. APPARECCHIATURA

- 2.1. Capsula di platino.
- 2.2. Bagnomaria termostato a 100 °C.
- 2.3. Muffola regolata a 500-525 °C.
- 2.4. Spettrofotometro di assorbimento atomico.
- 2.5. Lampada a catodo cavo ad argento.
- 2.6. Gas di alimentazione: aria acetilene.

3. REATTIVI

- 3.1. Nitrato d'argento (AgNO_3).
- 3.2. Acido nitrico concentrato (HNO_3) 65 % ($\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).
- 3.3. Acido nitrico diluito $1/10$ (v/v).

3.4. Soluzione d'argento di 1 g/l.

Usare una soluzione standard di argento del tipo in commercio.

Tale soluzione può essere preparata sciogliendo 1,575 g di nitrato d'argento in acido nitrico diluito e completando il volume a 1 000 ml con acido nitrico diluito.

3.5. Soluzione d'argento a 10 mg/l.

Diluire 10 ml della soluzione 3.4 a 1 000 ml con acido nitrico diluito.

4. PROCEDIMENTO**4.1. Preparazione del campione**

Porre 20 ml del campione in capsula di platino, evaporare a secco su bagnomaria bollente a 100 °C. Incenerire in muffola fino a ceneri bianche a 500-525 °C. Riprendere le ceneri con 1 ml di acido nitrico concentrato (3.2), evaporare a bagnomaria a 100 °C, ripetere l'aggiunta di 1 ml di acido nitrico (3.2) e l'evaporazione. Aggiungere 5 ml di acido nitrico diluito (3.3) e scaldare leggermente sino a dissoluzione.

4.2. Taratura

Una serie di matracci tarati da 100 ml si pongono 2 - 4 - 6 - 8 - 10 e 20 ml di soluzione 3.5 d'argento di 10 mg/l, si porta a volume con acido nitrico diluito (3.3). Tali soluzioni contengono 0,20 - 0,40 - 0,60 - 0,80 - 1,0 e 2,0 mg/l d'argento.

4.3. Dosaggio

Selezionare la lunghezza d'onda a 328,1 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con l'acido nitrico diluito 3.3. Aspirare direttamente nel bruciatore dello spettrofotometro

la soluzione del campione ottenuta in 4.1 e dopo, successivamente, le soluzioni di taratura. Leggere le assorbanze. Effettuare le determinazioni in doppio.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. **Calcolo**

Tracciare la curva della variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione in argento delle soluzioni di taratura.

Riportare il valore dell'assorbanza letto per il dosaggio (4.1) sulla curva di taratura e ricavare la concentrazione C in mg/l.

Il tenore in argento del vino, espresso in milligrammi per litro, espresso con due cifre decimali, è dato da: $0,25 C$.

Osservazione: Le soluzioni di riferimento per la determinazione della curva di taratura, la quantità di campione prelevato e il volume finale di liquido possono essere modificati in funzione della sensibilità dell'apparecchiatura usata.

34. ZINCO

1. PRINCIPIO

Lo zinco viene dosato direttamente nel vino dealcolizzato mediante spettrofotometria di assorbimento atomico.

2. REATTIVI

L'acqua impiegata deve essere acqua bidistillata in un apparecchio in vetro borosilicato oppure acqua di purezza equivalente.

2.1. Soluzione di taratura di zinco ad 1 g/l.

Utilizzare una soluzione standard di zinco del tipo in commercio. Tale soluzione può essere preparata sciogliendo 4,3975 g di solfato di zinco ($Zn SO_4 \cdot 7 H_2O$) in acqua e portando il volume ad un litro.

2.2. Soluzione standard diluita di zinco a 100 mg/l.

3. APPARECCHIATURA

3.1. Evaporatore rotante con bagnomaria termostato.

3.2. Spettrofotometro di assorbimento atomico con un bruciatore alimentato ad aria/acetilene.

3.3. Lampada a catodo cavo allo zinco.

4. MODO DI OPERARE

4.1. Preparazione del campione

Eliminare l'alcol riducendo a metà 100 ml di vino posti in un evaporatore rotativo (temperatura: 50-60 °C). Riportare al volume iniziale di 100 ml con acqua bidistillata.

4.2. TARATURA

In quattro palloni tarati da 100 ml, porre 0,5 - 1 - 1,5 - 2 ml della soluzione di zinco a 100 mg/l (2.2) e portare al segno di taratura con acqua bidistillata. Le soluzioni di taratura corrispondono rispettivamente a 0,5 - 1 - 1,5 - 2 mg di zinco per litro.

4.3. Dosaggio

Regolare la lunghezza d'onda a 213,9 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con acqua bidistillata. Aspirare direttamente nel bruciatore dello spettrofotometro il vino e quindi le varie soluzioni di taratura. Leggere le assorbanze. Effettuare le determinazioni in doppio.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. Calcolo

Tracciare la curva di variazione dell'assorbanza in funzione della concentrazione in zinco delle soluzioni di taratura. Riportare il valore medio delle assorbanze ottenute per il vino e determinare la concentrazione di zinco in milligrammi per litro di vino con una cifra decimale.

35. PIOMBO

1. PRINCIPIO DEL METODO

Il piombo viene dosato direttamente nel vino mediante spettrofotometria di assorbimento atomico senza fiamma.

2. APPARECCHIATURA

Tutta la vetreria dev'essere preliminarmente lavata con acido nitrico concentrato caldo (70-80 °C) e sciacquata con acqua bidistillata.

2.1. Spettrofotometro di assorbimento atomico provvisto di forno a grafite, di correttore di assorbimento non specifico e di registratore multipotenziometrico.

2.2. Lampada a catodo cavo al piombo.

2.3. Micropipette da 5 µl munite di ghiera speciali per misure di assorbimento atomico.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica riconosciuta e in particolare devono essere esenti da piombo. L'acqua utilizzata deve essere acqua bidistillata in un apparecchio di vetro borosilicato o acqua di purezza equivalente.

3.1. Acido fosforico all'85 % ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml)

3.2. Soluzione di acido fosforico ottenuta portando 8 ml di acido fosforico a 100 ml con acqua

3.3. Acido nitrico ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml)

3.4. Soluzione di piombo da 1 g per litro

Usare una soluzione standard del commercio. Questa soluzione può essere ottenuta sciogliendo 1,600 g di nitrato di piombo II $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, in acido nitrico diluito all'1 % (v/v) e portando al volume di 1 litro. Conservare la soluzione in un flacone di vetro borosilicato a tappo smerigliato.

4. MODO DI OPERARE

4.1. Preparazione del campione

Diluire il vino 1:2 oppure 1:3 con la soluzione di acido fosforico (3.2) secondo la concentrazione presunta di piombo.

4.2. Preparazione delle soluzioni di taratura

A partire dalla soluzione di riferimento di piombo 3.4, preparare, mediante diluizioni successive con acqua bidistillata, soluzioni contenenti rispettivamente 25-50-100-150 microgrammi di piombo per litro.

4.3. Determinazione

4.3.1. Programma del forno (proposto a titolo indicativo):

Essiccazione a 100 °C per 30 secondi.

Mineralizzazione a 900 °C per 20 secondi.

Atomizzazione a 2 250 °C per 2-3 secondi.

Flusso di azoto (gas di lavaggio): 6 litri/minuto.

NB: Alla fine dell'operazione portare la temperatura fino a 2 700 °C, onde pulire il forno.

4.3.2. *Misure*

Selezionare la lunghezza d'onda di 217 nm. Regolare lo zero della scala delle assorbanze con acqua bidistillata. Iniettare nel forno programmato, mediante una micropipetta, per tre volte, 5 µl di ciascuna delle soluzioni di taratura e della soluzione del campione da analizzare. Registrare le assorbanze misurate. Calcolare il valore dell'assorbanza partendo dai risultati relativi alle tre iniezioni.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

5.1. *Calcolo*

Tracciare la curva delle variazioni dell'assorbanza in funzione delle concentrazioni di piombo delle soluzioni di taratura. La variazione è lineare. Riportare il valore medio dell'assorbanza della soluzione del campione sulla retta di taratura e ricavare la concentrazione C in piombo. La concentrazione di piombo espressa in microgrammi per litro di vino è pari a:

$$C \times F$$

dove:

F = fattore di diluizione

36. FLUORURI

1. PRINCIPIO

Il tenore di fluoruri del vino, addizionato di una soluzione tampone, viene determinato mediante un elettrodo specifico a membrana solida. Il potenziale misurato è proporzionale al logaritmo dell'attività degli ioni fluoruro nel mezzo studiato conformemente alla relazione:

$$E = E_0 \pm S \log a_F$$

dove:

E = potenziale dell'elettrodo ionico specifico misurato rispetto all'elettrodo di riferimento nel mezzo studiato.

E₀ = potenziale standard della cella di misura.

S = fattore di Nernst, a 25 °C il fattore di Nernst teorico è uguale a 59,2 mV.

a_F = attività degli ioni fluoruro nella soluzione studiata.

2. APPARECCHIATURA

- 2.1. Elettrodo a membrana cristallina specifico dello ione fluoro.
- 2.2. Elettrodo di riferimento (calomelano oppure Ag/AgCl).
- 2.3. Millivoltmetro (pHmetro con una graduazione in millivolt), precisione 0,1 mV.
- 2.4. Agitatore magnetico con piastra isolante per proteggere la soluzione analizzata dal calore del motore. Cilindro agitatore ricoperto di plastica (polietilene o materiale equivalente).
- 2.5. Becher in plastica, da 30 o da 50 ml e flaconi di plastica (polietilene o materiale equivalente).
- 2.6. Pipette di precisione (pipette graduate in microlitri o qualsiasi altra pipetta equivalente).

3. REATTIVI

- 3.1. Soluzione madre di fluoruro a 1 g/l

Utilizzare una soluzione standard del commercio a 1 g/l. Questa soluzione può essere preparata sciogliendo 2,210 g di fluoruro di sodio (essiccato 3-4 ore a 105 °C) in acqua distillata. Portare al volume di 1 000 ml con acqua distillata. La soluzione viene conservata in un flacone di plastica.

- 3.2. Soluzioni standard di fluoruro di concentrazione appropriata vengono preparate mediante diluizione della soluzione madre con acqua distillata e conservate in flaconi di plastica. Le soluzioni standard il cui tenore di fluoruro è dell'ordine del mg/l devono essere preparate estemporaneamente.

- 3.3. Soluzione tampone pH 5,5

A 10 g di acido cicloesandiammino (1,2) tetracetico (CDTA) viene aggiunta acqua (circa 50 ml); aggiungere una soluzione contenente 58 g di cloruro di sodio e 29,4 g di citrato trisodico in 700 ml di acqua distillata. Il CDTA viene sciolto aggiungendo una soluzione di idrossido di sodio al 32 % (m/v) (circa 6 ml).

Aggiungere infine 57 ml di acido acetico (ρ₂₀ = 1,05 g/ml) e portare il pH a 5,5 con la soluzione di idrossido di sodio al 32 % (circa 45 ml). Lasciar raffreddare e portare al volume di un litro con acqua distillata.

4. MODO DI OPERARE

Osservazione preliminare: È necessario controllare che tutte le soluzioni conservino, durante la misurazione, una temperatura di $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (uno scarto di $\pm 1^\circ\text{C}$ provoca una modifica di circa $\pm 0,2\text{ mV}$).

4.1. Metodo diretto

In un becher di plastica introdurre un volume definito di vino e un volume uguale di soluzione tampone.

La soluzione viene agitata in modo omogeneo e moderato. Quando l'apparecchio indicatore è stabile (la stabilità viene ottenuta allorché il potenziale varia al massimo di $0,2-0,3\text{ mV}/3\text{ minuti}$), leggere il valore del potenziale in mV.

4.2. Metodo delle aggiunte

Senza interrompere l'agitazione, il mezzo studiato viene addizionato, mediante pipetta di precisione, di un volume noto di soluzione standard di fluoruro. Quando l'apparecchio indicatore è stabile, leggere il valore del potenziale in mV.

Scegliere la concentrazione della soluzione standard aggiunta come segue:

- a) raddoppiare o triplicare la concentrazione in fluoruro del mezzo studiato;
- b) il volume del mezzo studiato deve restare praticamente costante (aumento del volume $\leq 1\%$).

La condizione b) semplifica i calcoli (vedi 5).

La concentrazione approssimativa del mezzo studiato viene letta su una retta di taratura tracciata in coordinate semilogaritmiche con soluzioni standard contenenti $0,1 - 0,2 - 0,5 - 1,0 - 2,0\text{ mg/l}$ di fluoruri.

Osservazione: se la concentrazione approssimativa del mezzo studiato supera il campo di concentrazione delle soluzioni standard, diluire il campione.

Esempio:

Sia $0,25\text{ mg/l F}$ il tenore approssimativo del mezzo studiato (volume 20 ml); la concentrazione deve essere maggiorata di $0,25\text{ mg/l}$. A questo scopo aggiungere, ad esempio alla soluzione, con la pipetta di precisione appropriata, $0,20\text{ ml}$ ($= 1\%$) di una soluzione standard contenente 25 mg/l F oppure $0,050\text{ ml}$ di una soluzione standard da 100 mg/l F .

5. CALCOLI

Il tenore di fluoruri del mezzo studiato, espresso in mg/l , si ottiene con la formula seguente:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antillog } \Delta E/S) - 1}$$

dove:

C_F = concentrazione in fluoruro del mezzo studiato (mg/l).

C_a = concentrazione del fluoruro aggiunto (mg/l) nel mezzo studiato (V_a).

V_o = volume iniziale del mezzo studiato prima dell'aggiunta (ml).

V_a = volume della soluzione aggiunta (ml).

ΔE = differenza tra i potenziali E_1 ed E_2 ottenuti ai punti 4.1 e 4.2 (mV).

S = fattore di Nernst della soluzione in esame.

Se V_a è molto vicino a V_o (vedi 4.2) la formula si semplifica e diventa:

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

Il valore ottenuto deve essere moltiplicato per il fattore di diluizione derivante dall'aggiunta del tampone.

37. ANIDRIDE CARBONICA**1. PRINCIPIO DEI METODI****1.1. Metodo di riferimento****1.1.1. *Vini tranquilli (sovrappressione $CO_2 \leq 0,5 \cdot 10^5$ Pa)*⁽¹⁾**

Il volume di vino prelevato dal campione, portato a temperatura prossima a 0 °C, viene versato in un eccesso di soluzione titolata di idrossido di sodio, sufficiente a portare il pH a 10-11. Si titola con una soluzione acida in presenza di anidrasi carbonica. Il contenuto in CO_2 viene ricavato dal volume di soluzione acida impiegato per passare da pH 8,6 (forma bicarbonato) a pH 4,0 (acido carbonico). Una titolazione di riferimento, effettuata nelle stesse condizioni sul vino privato di CO_2 , permette di tener conto del volume di soluzione di idrossido di sodio consumato dagli acidi del vino.

1.1.2. *Vini frizzanti e spumanti*

Il campione di vino da analizzare viene portato a temperatura prossima al suo punto di congelamento. Dopo prelevamento di un dato volume, destinato a servire da riferimento dopo eliminazione di CO_2 , si alcalinizza il resto della bottiglia per fissare tutta l'anidride carbonica sotto forma di Na_2CO_3 . Si titola con una soluzione acida in presenza di anidrasi carbonica. Il tenore di CO_2 viene ricavato dal volume di soluzione acida impiegata per passare da pH 8,6 (forma bicarbonato) a pH 4,0 (acido carbonico). Una titolazione di riferimento, effettuata nelle stesse condizioni sul vino privato di CO_2 , permette di tener conto del volume di soluzione di idrossido di sodio consumata dagli acidi del vino.

1.2. Metodo usuale: vini frizzanti e spumanti

Metodo manometrico: misurazione della sovrappressione dell'anidride carbonica direttamente nella bottiglia mediante un afometro.

2. METODO DI RIFERIMENTO**2.1. *Vini tranquilli (sovrappressione dell'anidride carbonica $\leq 0,5 \cdot 10^5$ Pa).*****2.1.1. *Apparecchiatura*****2.1.1.1. *Agitatore magnetico.*****2.1.1.2. *pHmetro*****2.1.2. *Reattivi*****2.1.2.1. *Soluzione titolata di idrossido di sodio (NaOH), 0,1 M.*****2.1.2.2. *Soluzione titolata di acido solforico (H_2SO_4), 0,05 M.*****2.1.2.3. *Soluzione di anidrasi carbonica, a 1 g/l.*****2.1.3. *Modo di operare***

Raffreddare a temperatura prossima a 0 °C tanto il campione di vino quanto la pipetta da 10 ml destinata al suo prelevamento.

Versare in un becher da 100 ml 25 ml di soluzione d'idrossido di sodio (2.1.2.1); aggiungere due gocce di soluzione acquosa di anidrasi carbonica (2.1.2.3). Introdurre 10 ml di vino mediante la pipetta raffreddata a 0 °C.

⁽¹⁾ 10^5 pascal (Pa) = 1 bar.

Porre il becher sull'agitatore magnetico, collocare l'elettrodo e la barretta magnetica e procedere ad agitazione moderata.

Quando il liquido è tornato a temperatura ambiente, titolare lentamente con la soluzione di acido solforico (2.1.2.2) fino a pH 8,6.

Continuare l'aggiunta di acido solforico (2.1.2.2) fino a pH 4,0. Sia n ml il volume utilizzato per passare dal pH 8,6 a 4,0.

Procedere quindi all'eliminazione della CO_2 su 50 ml di vino circa, agitando sotto vuoto per tre minuti e riscaldando il recipiente in bagnomaria a 25 °C circa.

Ripetere su 10 ml di vino privato di CO_2 le operazioni sopra descritte: sia n ml il volume utilizzato.

2.1.4. *Espressione dei risultati*

1 ml di soluzione titolata di idrossido di sodio 0,1 M corrisponde a 4,4 mg di CO_2 .

La quantità di CO_2 , espressa in g per litro di vino, è data dall'espressione:

$0,44 (n - n_0)$.

Essa si esprime con due cifre decimali.

Osservazione: Nel caso dei vini a basso contenuto di CO_2 ($CO_2 < 1$ g/l), l'aggiunta di anidresi carbonica per catalizzare l'idratazione di CO_2 non è necessaria.

2.2. **Vini frizzanti e spumanti**

2.2.1. *Apparecchiatura*

2.2.1.1. Agitatore magnetico.

2.2.1.2. pHmetro.

2.2.2. *Reattivi*

2.2.2.1. Soluzione di idrossido di sodio (NaOH), al 50 % (m/m).

2.2.2.2. Soluzione titolata di acido solforico (H_2SO_4), 0,05 M.

2.2.2.3. Soluzione di anidresi carbonica a 1 g/l.

2.2.3. *Modo di operare*

Sulla bottiglia di vino da analizzare, tracciare un segno di riferimento al livello del riempimento e raffreddare fino a congelamento incipiente.

Lasciare che la bottiglia si riscaldi leggermente, agitando di continuo, fino a scomparsa dei cristalli di ghiaccio.

Stappare rapidamente, e mettere da parte, in un cilindro graduato, da 45 a 50 ml di vino, che serviranno al dosaggio di riferimento. Il volume esatto (v ml) di questo prelievo sarà determinato leggendo sul cilindro, dopo il suo ritorno alla temperatura ambiente.

Appena effettuato il prelievo, aggiungere 20 ml di soluzione di idrossido di sodio (2.2.2.1) nella bottiglia se questa ha una capacità di 750 ml.

Attendere che il vino sia tornato a temperatura ambiente.

In un becher da 100 ml, introdurre 30 ml di acqua distillata bollita e due gocce della soluzione di anidra carbonica (2.2.2.3). Aggiungere 10 ml di vino alcalinizzato.

Porre il becher sull'agitatore magnetico, introdurre l'elettrodo e la barretta magnetica e procedere ad agitazione moderata.

Titolare lentamente con la soluzione di acido solforico (2.2.2.2) fino a pH 8,6.

Proseguire la titolazione con acido solforico (2.2.2.2) fino a pH 4,0. Sia n ml il volume utilizzato fra pH 8,6 e 4,0.

Procedere quindi all'eliminazione della CO_2 dai v ml di vino messi da parte per il dosaggio di riferimento, agitando sotto vuoto per tre minuti e riscaldando il recipiente su bagnomaria a 25°C circa. Introdurre 10 ml di vino privato di CO_2 in 30 ml di acqua distillata bollita e aggiungere 2 - 3 gocce di soluzione di idrossido di sodio (2.2.2.1) per portare il pH a 10 - 11. Operare poi nel modo più sopra descritto. Siano n' i ml di acido solforico 0,05 M impiegati.

2.2.4. *Espressione dei risultati*

1 ml della soluzione di acido solforico 0,05 M corrisponde a 4,4 mg di CO_2 .

Vuotare la bottiglia del vino alcalinizzato in essa contenuto e determinare con l'approssimazione di 1 ml il volume iniziale del vino riempiendola con acqua fino al segno di riferimento: sia V ml.

La quantità di CO_2 , espressa in g per litro di vino, è data dall'espressione:

$$0,44 (n - n') \cdot \frac{V - v + 20}{V - v}$$

ed è espressa con due cifre decimali.

2.3. **Calcolo della sovrappressione**

La sovrappressione a 20°C , $P_{\text{aph}20}$ espressa in pascals, è data dalla formula

$$P_{\text{aph}20} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01 A) (1 - 0,00144 S)} - P_{\text{atm}}$$

dove:

Q = tenore di CO_2 in g/l di vino

A = titolo alcolometrico del vino a 20°C

S = tenore in zuccheri in g/l di vino

P_{atm} = pressione atmosferica espressa in pascals

3. **METODO USUALE (VINI FRIZZANTI E VINI SPUMANTI)**

3.1. **Apparecchiatura**

3.1.1. *Afrometro*

Lo strumento che consente di misurare la sovrappressione nelle bottiglie di vini frizzanti o spumanti si chiama afrometro. La sua forma è diversa a seconda della chiusura della bottiglia (capsula metallica, tappo a corona, tappo in sughero o in plastica, vedi figure 1 e 2).

L'apparecchio è graduato in pascal (abbreviazione Pa) ⁽¹⁾. È più pratico usare come unità il 10^{-5} pascal (10^{-5} Pa) o il kilopascal (kPa).

⁽¹⁾ 1 pascal (Pa) = $1 \text{ N/m}^2 = 10^{-5}$ bar.

Esistono diverse classi di afometro. La classe di un manometro è la precisione della lettura rispetto al fondo scala espressa in percentuale (esempio manometro 1 000 kPa classe 1, significa pressione di utilizzazione massima 1 000 kPa, lettura a ± 10 kPa). Per misure di precisione si raccomanda la classe 1.

Gli afometri devono essere verificati con regolarità (almeno una volta all'anno).

3.2. Modo di operare

La misura deve essere effettuata su bottiglie la cui temperatura sia stabilizzata da almeno 24 ore.

Dopo aver forato la capsula o il tappo, per effettuare la lettura occorre agitare vigorosamente la bottiglia sino ad ottenere una pressione costante.

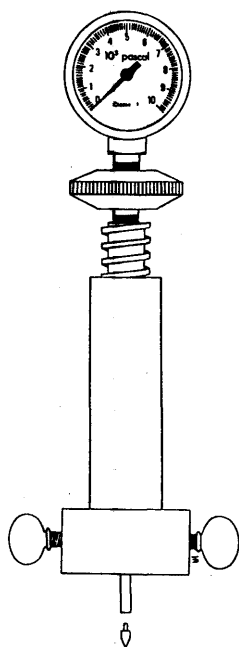


Figura 1: Afometro per capsule

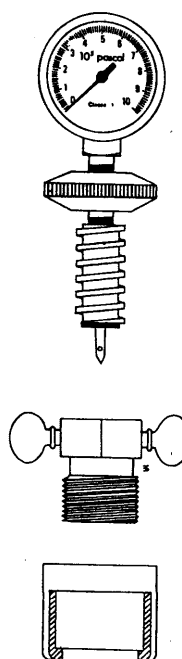


Figura 2: Afometro per tappi

3.3. Espressione dei risultati

La sovrappressione a 20 °C ($P_{aph_{20}}$) è espressa in pascal (Pa) o in Kilopascal (kPa).

Essa deve essere coerente con la precisione del manometro (esempio: 6,3 10⁵ Pa oppure 630 kPa e non 6,33 10⁵ Pa o 633 kPa per un manometro di classe 1 e fondo scala 1 000 kPa).

Quando la temperatura a cui si effettua la misura è diversa da 20 °C, per riportarla a 20 °C è opportuno effettuare una correzione moltiplicando il valore della pressione misurata per il coefficiente

$$\frac{P_{aph_{20}}}{P_{aph_t}}$$

che si ricava dalla tabella 1.

4. RELAZIONE TRA LA PRESSIONE E LA QUANTITÀ DI BISSIDO DI CARBONIO CONTENUTO IN UN VINO SPUMANTE ⁽¹⁾

A partire dal valore della sovrappressione a 20 °C ($P_{aph_{20}}$), si calcola la pressione assoluta a 20 °C ($P_{abs_{20}}$) con la formula:

$$P_{abs_{20}} = P_{atm} + P_{aph_{20}}$$

⁽¹⁾ Si trascurano gli altri gas (O₂, N₂, ecc.), presenti in quantità troppo piccole per avere un'influenza sulla sovrappressione.

dove P_{atm} è la pressione atmosferica espressa in pascal.

La quantità di anidride carbonica contenuta in un vino è data dalle seguenti relazioni:

— in litri di CO_2 per litro di vino:

$$0,987 \cdot 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01A) (1 - 0,00144 S)$$

— in grammi di CO_2 per litro di vino:

$$1,951 \cdot 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01A) (1 - 0,00144 S) \text{ in cui:}$$

A è il titolo alcolometrico del vino a $20^\circ C$.

S è il tenore in zuccheri del vino, espresso in grammi per litro.

TABELLA 1

Rapporto tra la sovrappressione $P_{ph_{20}}$ di un vino frizzante o spumante a $20^\circ C$ e la sovrappressione P_{ph_t} a una temperatura t

0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

38. DERIVATI CIANICI**1. PRINCIPIO DEI METODI****1.1. Metodo rapido di saggio:** controllo dei vini trattati con ferrocianuro di potassio (esaciano-fenato II di potassio).

Verifica dell'assenza di precipitato di ferrocianuro II ferrico III in sospensione nel deposito.

Verifica dell'assenza di formazione di ferrocianuro (II) ferrico (III) per aggiunta di un sale ferrico al vino acidificato.

Verifica della presenza di ferro precipitandolo per addizione al vino acidulato di una miscela di ferro e ferricianuro alcalini.

1.2. Metodo usuale

Dosaggio argentimetrico dell'acido cianidrico totale liberato per idrolisi acida e separato per distillazione.

2. METODO RAPIDO DI CONTROLLO

Controllo dei vini trattati con ferrocianuro di potassio.

2.1. Apparecchiatura

Occorre avere a disposizione una delle seguenti apparecchiature:

2.1.1. Centrifuga che consenta di applicare una forza centrifuga di 1 200-1 500 g.

2.1.2. Dispositivo di filtrazione su filtro a membrana e filtri a membrana (diametro dei pori 0,45 µm).

2.2. Reattivi

2.2.1. Acido cloridrico diluito 1/2 (v/v) ottenuto per diluizione di acido cloridrico, HCl, ($\rho_{20} = 1,18-1,19$ g/ml) esente da ferro.

2.2.2. Soluzione di solfato ferrico ammonico, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, al 15 % (m/v).

2.2.3. Soluzione di ferrocianuro di potassio, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, al 10 % (m/v).

2.2.4. Soluzione di ferrocianuro di potassio, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, al 10 % (m/v). Da preparare al momento dell'uso.

2.3. Modo di operare**2.3.1. Ricerca delle tracce di ferrocianuroferrico in sospensione**

Dopo aver agitato il campione, versare 20 ml di vino in un tubo da centrifuga conica da 30 ml; aggiungere 1 ml di acido cloridrico (2.2.1). Centrifugare per 15 minuti oppure filtrare su filtro a membrana (diametro dei pori 0,45µm). Il centrifugato o il filtro deve essere completamente privo di particelle blu.

2.3.2. Ricerca di tracce di ioni ferrocianuro in soluzione

Aggiungere al surnatante o al filtrato ottenuto dal saggio 2.3.1 una goccia di una soluzione di solfato ferrico ammonico (2.2.2). Dopo aver agitato e fatto riposare per almeno 24 ore,

centrifugare per 15 minuti o filtrare su filtro a membrana (diametro dei pori 0,45µm). Il centrifugato o il filtro deve essere completamente privo di particelle blu di ferrocianuroferico.

2.3.3. *Verifica della presenza di ioni ferro nel vino*

Versare in una provetta 20 ml di vino, 1 ml di acido cloridrico (2.2.1), una goccia di una soluzione di ferrocianuro di potassio (2.2.3) e una goccia di una soluzione di ferrocianuro di potassio (2.2.4). Entro 30 minuti si deve manifestare una colorazione o un precipitato di colore blu. Dopo centrifugazione o filtrazione su filtro a membrana (diametro dei pori 0,45µm) seguita da lavaggio del filtro 2 volte con 5 ml di acqua, nel tubo da centrifuga o sul filtro a membrana si deve osservare un deposito di colore blu.

3. METODO USUALE

3.1. **Apparecchiatura**

3.1.1. Apparecchiatura di distillazione, costituita da un pallone a fondo rotondo da 500 ml collegato mediante un tubo munito di smeriglio, all'estremità superiore di un refrigerante, tenuto in posizione verticale, la cui lunghezza è di almeno 350 mm.

L'estremità inferiore del refrigerante ha un'allunga terminante con una parte affilata che porta il distillato in fondo a un pallone da 50 ml completamente immerso in acqua gelata.

3.1.2. Bagnomaria termostato a 100 °C, riscaldato elettricamente.

3.2. **Reattivi**

3.2.1. Acido solforico diluito 1/5 (v/v).

Mescolare con prudenza 200 ml di acido solforico, H₂SO₄ (ρ₂₀ = 1,84 g/ml a una quantità di acqua sufficiente ad ottenere 1 litro di soluzione).

3.2.2. Cloruro rameico cristallizzato, CuCl₂ · 2H₂O.

3.2.3. Soluzione di rosso fenolo.

Sciogliere 0,05 g di rosso fenolo in 1,4 ml di una soluzione 0,1 M di idrossido di sodio; portare la soluzione a 1 000 ml.

3.2.4. Soluzione di ioduro di potassio.

Sciogliere 250 g di ioduro di potassio, KI, in una quantità di acqua sufficiente ad ottenere 1 litro di soluzione.

3.2.5. Soluzione 0,001 M di nitrato di argento.

Diluire 10 ml di una soluzione 0,1 M di nitrato di argento, AgNO₃, a 1 000 ml dopo avere aggiunto 0,5 ml di acido nitrico concentrato (HNO₃, ρ₂₀ = 1,40 g/ml).

3.2.6. Soluzione di idrossido di sodio 1 M esente da ferro.

3.3. **Modo di operare**

Introdurre 100 ml di vino filtrato (o non filtrato se si vuole dosare anche l'acido cianidrico contenuto nell'eventuale intorbidamento blu), aggiungere circa 5 mg di cloruro rameico (3.2.2) e 10 ml di acido solforico diluito (3.2.1). Nel pallone di raccolta porre 5 ml di soluzione di idrossido di sodio (3.2.6). Distillare sino a riempire il pallone da 50 ml.

Versare il distillato in un becher da 400 ml posto in bagnomaria a 100 °C e per accelerare l'evaporazione, dirigere sulla superficie del liquido alcalino una corrente d'aria fredda

abbastanza forte prodotta da una soffiaria. Occorre ridurre il volume a 5–7 ml, operazione che richiede 30 minuti circa (non ridurre mai il volume a meno di 5 ml).

Se occorre, filtrare la soluzione raffreddata raccogliendo il filtrato in una provetta del diametro di 20 mm e della lunghezza di 180 mm oppure travasarla direttamente nella provetta. Lavare il becher ed eventualmente il filtro con alcuni millilitri di acqua che saranno poi aggiunti nella provetta.

La provetta viene messa su un fondo nero e illuminata lateralmente con un fascio di luce bianca. Il liquido deve essere perfettamente limpido ⁽¹⁾.

Aggiungere 2 gocce di soluzione di rosso fenolo (3.2.3) per sensibilizzare il viraggio ⁽²⁾ ed una goccia di soluzione di ioduro di potassio (3.2.4). Titolare con la soluzione 0,001 M di nitrato d'argento (3.2.5) fino ad ottenere intorbidamento debole, ma stabile. Sia n il volume di soluzione necessario ad ottenere questo risultato.

Preparare una provetta analoga con 5 ml di soluzione di idrossido di sodio (3.2.6), 2 gocce di soluzione di rosso fenolo (3.2.3) ⁽²⁾, una goccia di soluzione di ioduro di potassio (3.2.4) e acqua in quantità sufficiente per ottenere un volume di liquido identico al precedente. Aggiungere la soluzione 0,001 M di nitrato di argento (3.2.5) in modo da ottenere lo stesso intorbidamento. Sia n' il volume usato ⁽³⁾.

3.4. Espressione dei risultati

1 ml di soluzione 0,001 M di nitrato di argento corrisponde a 54 μ g di acido cianidrico (HCN).

La quantità di acido cianidrico totale contenuta in 1 l di vino, espressa in milligrammi è: 0,54 ($n - n'$). Essa viene espressa con due cifre decimali.

Considerare significativi, circa la presenza di composti cianidrici nel vino, solo i saggi per i quali $n - n'$ è superiore a 0,5 ml.

Quando $n - n'$ è superiore a 10 ml, ripetere tutte le operazioni usando una soluzione 0,01 M di nitrato di argento.

(1) Alcuni vini (liquorosi, ecc.) danno un distillato non limpido anche se filtrato. Occorre allora metterlo in un pallone da distillazione da 200 ml e portarlo a 30 ml con acqua e distillarlo ancora alcalino gettando i primi 15 ml circa di distillato. Raffreddare, acidificare con circa 5 ml di acido solforico diluito e riprendere la distillazione raccogliendo il distillato su 5 ml di soluzione M di idrossido di sodio. Distillare circa 5 ml di liquido che allora sarà limpido.

(2) Questa aggiunta è facoltativa. Alcuni osservano meglio la comparsa dell'intorbidamento in una soluzione rosa che in una incolore.

(3) n' è uguale a 0,05 o 0,1 ml se il volume d'acqua impiegato è inferiore a 10 ml. Perché il viraggio sia sensibile occorre un volume quanto più piccolo possibile, per cui occorre evitare ogni possibile causa di diluizione durante l'operazione principale.

39. ISOSOLFOCIANATO DI ALLILE

1. PRINCIPIO DEL METODO

L'isosolfocianato di allile, eventualmente presente nel vino, viene raccolto per distillazione ed individuato per via gascromatografica.

2. REATTIVI

- 2.1. Etanolo assoluto.
- 2.2. Soluzione standard: soluzione in alcool assoluto di isosolfocianato di allile contenente 15 mg/l di principio attivo.
- 2.3. Miscela frigorifera costituita da etanolo e ghiaccio secco (temperatura -60°C).

3. APPARECCHIATURA

- 3.1. Apparecchiatura da distillazione in corrente di azoto come da figura.
- 3.2. Mantello riscaldante termoregolabile.
- 3.3. Flussimetro.
- 3.4. Gascromatografo con rivelatore spettrofotometrico di fiamma munito di filtro selettivo per composti solforati ($\lambda = 394\text{ nm}$) o altro rivelatore adatto a tale determinazione.
- 3.5. Colonne cromatografiche in acciaio inossidabile, diametro interno 3 mm, lunghezza 3 m, riempite con carbowax 20 M al 10 % su cromosorb WHP 80-100 mesh.
- 3.6. Microsiringhe da 10 μl .

4. MODO DI OPERARE

Prelevare 2 l di vino e porli nel pallone da distillazione. Introdurre pochi ml di etanolo (2.1) nei due tubi di raccolta fino a completa immersione della parte porosa per la dispersione dei gas. Raffreddare esternamente i due tubi con la miscela frigorifera. Collegare il pallone ai tubi di raccolta ed iniziare l'immissione nell'apparecchio di un flusso di azoto di circa 3 l l'ora. Riscaldare il vino a 80°C regolando opportunamente la temperatura del mantello termoregolabile e raccogliere complessivamente 45-50 ml di distillato.

Stabilizzare il gascromatografo; a tal fine sono consigliate le seguenti condizioni operative:

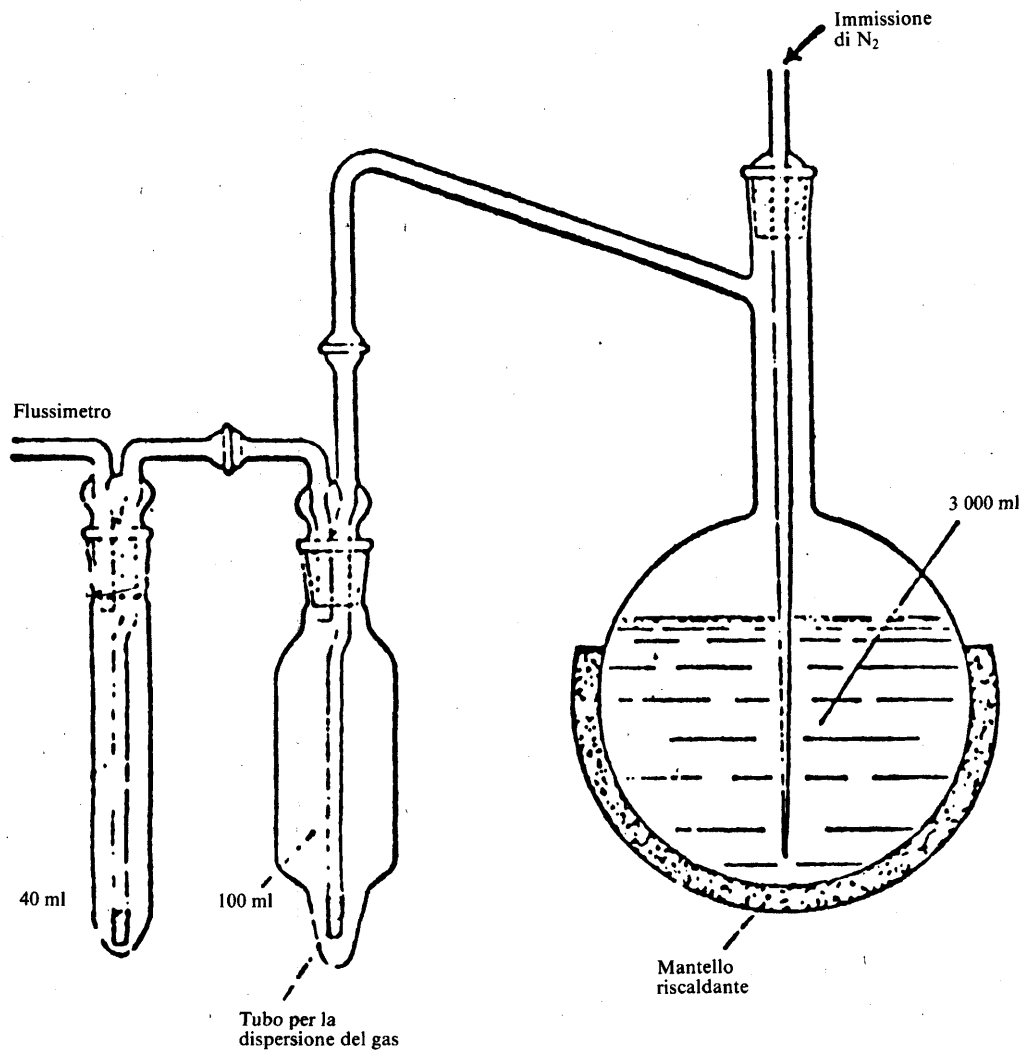
- temperatura dell'iniettore 200°C ,
- temperatura della colonna 130°C ,
- gas di trasporto elio con un flusso di 20 ml al minuto.

Introdurre con l'apposita microsiringa una quantità di soluzione standard tale che il picco corrispondente all'isosolfocianato di allile possa essere agevolmente individuato sul gascromatogramma.

Iniettare quindi un'aliquota del distillato e controllare se in corrispondenza del tempo di ritenzione dell'isosolfocianato di allile si ha comparsa di picchi.

Nelle condizioni adottate nella prova, non vi sono normalmente composti naturali del vino interferenti in corrispondenza del tempo di ritenzione della sostanza ricercata.

Apparecchiatura di distillazione in corrente di azoto



40. CARATTERISTICHE CROMATICHE**1. VINI E MOSTI****1.1. Definizione**

Per caratteristiche cromatiche di un vino si intende la luminosità e la cromaticità.

La luminosità corrisponde alla trasmittanza. Essa varia in modo inversamente proporzionale all'intensità del colore del vino.

La cromaticità corrisponde alla lunghezza d'onda dominante (che caratterizza la tonalità) e alla purezza.

Convenzionalmente e per motivi pratici, le caratteristiche cromatiche dei vini rossi e rosati vengono dichiarate mediante l'intensità del colore e la tonalità, secondo un procedimento adottato come metodo usuale.

1.2. Principio dei metodi**1.2.1. Metodo di riferimento**

Metodo spettrofotometrico che permette il calcolo dei valori tristimolari e dei coefficienti tricromatici necessari alla specificazione del colore nei termini definiti dalla «Commission Internationale de l'Eclairage (CIE)».

1.2.2. Metodo usuale (applicabile ai vini rossi e rosati)

Metodo spettrofotometrico in cui le caratteristiche cromatiche sono espresse convenzionalmente come segue:

L'intensità è data dalla somma delle assorbanze alle lunghezze d'onda di 420, 520 e 620 nm lette con celle da 1 cm di cammino ottico.

La tonalità del colore è espressa dal rapporto tra l'assorbanza a 420 nm e l'assorbanza a 520 nm.

1.3. Metodo di riferimento**1.3.1. Apparecchiatura**

1.3.1.1. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni comprese tra 300 e 700 nm.

1.3.1.2. Celle di vetro, disponibili a coppie, con cammino ottico b pari a 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 e 4 cm.

1.3.2. Modo di operare**1.3.2.1. Preparazione del campione.**

Se il vino è torbido, occorre chiarificarlo per centrifugazione.

I vini giovani o spumanti, devono essere liberati dalla maggior parte della loro anidride carbonica mediante agitazione sotto vuoto.

1.3.2.2. Misure

Il cammino ottico b delle celle impiegate deve essere scelto in modo che l'assorbanza misurata sia compresa tra 0,3 e 0,7.

A titolo indicativo si consiglia di utilizzare celle da 2 cm (o 4 cm) di cammino ottico per i vini bianchi, 1 cm per i vini rosati e 0,1 (o 0,2 cm) per i vini rossi.

Effettuare le misure spettrofotometriche prendendo come liquido di riferimento, per regolare lo zero della scala delle assorbanze alle lunghezze d'onda 445, 495, 550 e 625 nm, l'acqua distillata posta in una cella avente lo stesso cammino ottico b.

Rilevare per il cammino ottico b le quattro assorbanze ottenute per il vino; siano A_{445} , A_{495} , A_{550} , A_{625} (con 3 decimali).

1.3.3. Calcoli

Rilevare le trasmittanze (T %) corrispondenti riportando i valori delle assorbanze per b cm di cammino ottico sulla tabella I; siano: T_{445} , T_{495} , T_{550} , T_{625} .

— Calcolare i valori tristimolari X, Y e Z, espressi in frazioni decimali:

$$X = 0,42 \cdot T_{625} + 0,35 \cdot T_{550} + 0,21 \cdot T_{445}$$

$$Y = 0,20 \cdot T_{625} + 0,63 \cdot T_{550} + 0,17 \cdot T_{495}$$

$$Z = 0,24 \cdot T_{495} + 0,94 \cdot T_{445}$$

— Calcolare le coordinate del colore x e y:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

1.3.4. Espressione dei risultati

1.3.4.1. La luminosità relativa è data dal valore di Y espresso in percentuale. (Per il nero $Y\% = 0$, per l'incolore $Y\% = 100$).

1.3.4.2. La cromaticità è espressa dalla lunghezza d'onda dominante e dalla purezza. Queste si determinano ricorrendo al diagramma cromatico, che rappresenta il locus di tutti i colori dello spettro, riportato in figura 1. In esso il punto zero corrisponde alla sorgente di luce bianca impiegata, rappresentata dalla illuminante standard C di coordinate $x_0 = 0,3101$ e $y_0 = 0,3163$, che rappresenta la luce del giorno mediamente chiara.

— Lunghezza d'onda dominante.

Tracciare sul diagramma il punto C di coordinate x ed y. Se il punto C cade all'esterno del triangolo AOB, tracciare prolungandola, la retta che unisce il punto O con il punto C; questa interseca il locus di cui sopra in un punto S che corrisponde alla lunghezza d'onda dominante.

Nel caso in cui il punto C cade all'interno del triangolo AOB, tracciare la retta da C ad O; essa intersecherà il locus in un punto che corrisponde alla lunghezza d'onda del colore complementare del vino. Tale lunghezza d'onda è espressa con il relativo valore seguito dalla lettera C.

— Purezza.

Quando il punto C cada all'esterno del triangolo AOB, la purezza è espressa in percentuale dal rapporto:

$$100 \cdot \frac{\text{distanza dal punto C al punto O}}{\text{distanza dal punto O al punto S}}$$

Quando il punto C cada all'interno del triangolo AOC, la purezza è espressa in percentuale dal rapporto:

$$100 \cdot \frac{\text{distanza dal punto C al punto O}^{(1)}}{\text{distanza dal punto O al punto P}}$$

(1) Tale distanza va misurate nel verso OC.

dove il punto P è il punto d'intersezione della retta OC con la linea delle porpore.

Se si conoscono x ed y , la purezza è anche data direttamente dai diagrammi cromatici (figure 2, 3, 4, 5 e 6).

1.3.4.3. Risultati.

La luminosità, la cromaticità (espressa dalla lunghezza d'onda dominante) e la purezza definiscono in modo completo il colore di un vino.

Queste devono essere indicate sul certificato di analisi con il valore del cammino ottico su cui sono state effettuate le misure.

4. METODO USUALE

1.4.1. *Apparecchiatura*

1.4.1.1. Spettrofotometro in grado di effettuare misurazioni comprese tra 300 e 700 nm.

1.4.1.2. Celle di vetro disponibili in coppia, con cammino ottico b pari a 0,1 - 0,2 - 0,5 e 1 cm.

1.4.2. *Trattamento preliminare del campione*

Se il vino è torbido, chiarificarlo per centrifugazione.

I vini giovani o spumanti devono essere liberati dalla maggior parte dell'anidride carbonica, agitando sotto vuoto.

1.4.3. *Modo di operare*

Il cammino ottico b della cella di misura deve essere scelto in modo che l'assorbanza A sia compresa tra 0,3 e 0,7.

Effettuare le misure spettrofotometriche, per poter regolare lo zero della scala delle assorbanze dell'apparecchio alle lunghezze d'onda 420, 520 e 620 nm, utilizzando come liquido di riferimento acqua distillata posta in una cella con lo stesso cammino ottico b .

1.4.4. *Espressione dei risultati*

1.4.4.1. Calcoli.

Calcolare, per 1 cm di cammino ottico, le assorbanze relative alle tre lunghezze d'onda dividendo per b , espresso in centimetri, le assorbanze rilevate. Siano A_{420} , A_{520} , A_{620} .

L'intensità è convenzionalmente data da:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Essa viene espressa con tre cifre decimali.

La tonalità è data per convenzione da:

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Essa viene espressa con tre cifre decimali.

TABELLA I

Trasformazione delle assorbanze in trasmittanze (T %)*Modalità di impiego:*

Leggere la prima cifra decimale del valore dell'assorbanza nella colonna verticale 1 e la seconda cifra decimale nella riga orizzontale 2.

Leggere il numero in corrispondenza della loro intersezione. Per ottenere la trasmittanza, dividere tale valore per 10 se l'assorbanza è inferiore a 1, per 100 se è compresa tra 1 e 2, per 1 000 se è compresa tra 2 e 3.

Avvertenza:

Il valore riportato in ciascuna casella in alto a destra consente di tener conto per interpolazione della terza cifra decimale del valore dell'assorbanza.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1000 ²³	977 ²²	955 ²²	933 ²¹	912 ²¹	891 ²⁰	871 ²⁰	851 ¹⁹	832 ¹⁹	813 ¹⁹
1	794 ¹⁸	776 ¹⁸	759 ¹⁷	741 ¹⁷	724 ¹⁶	708 ¹⁶	692 ¹⁶	676 ¹⁵	661 ¹⁵	646 ¹⁵
2	631 ¹⁴	617 ¹⁴	603 ¹⁴	589 ¹⁴	575 ¹³	562 ¹³	549 ¹³	537 ¹²	525 ¹²	513 ¹²
3	501 ¹¹	490 ¹¹	479 ¹¹	468 ¹¹	457 ¹⁰	447 ⁹	436 ⁹	427 ¹⁰	417 ¹⁰	407 ⁹
4	398 ⁹	389 ⁹	380 ⁹	371 ⁸	363 ⁸	355 ⁸	347 ⁸	339 ⁸	331 ⁷	324 ⁸
5	316 ⁷	309 ⁷	302 ⁷	295 ⁷	288 ⁶	282 ⁷	275 ⁶	269 ⁶	263 ⁶	257 ⁶
6	251 ⁶	245 ⁵	240 ⁶	234 ⁵	229 ⁵	224 ⁵	219 ⁵	214 ⁵	209 ⁵	204 ⁵
7	199 ⁴	195 ⁵	190 ⁴	186 ⁴	182 ⁴	178 ⁴	174 ⁴	170 ⁴	166 ⁴	162 ⁴
8	158 ³	155 ⁴	151 ³	148 ⁴	144 ⁴	141 ³	138 ³	135 ³	132 ³	129 ³
9	126 ³	123 ³	120 ³	117 ²	115 ³	112 ²	110 ³	107 ²	105 ³	102 ²

Esempio:

Assorbanza	0,47	1,47	2,47	3,47
T %	33,9 %	3,4 %	0,3 %	0 %

Le trasmittanze T % vengono espresse a meno dello 0,1 %.

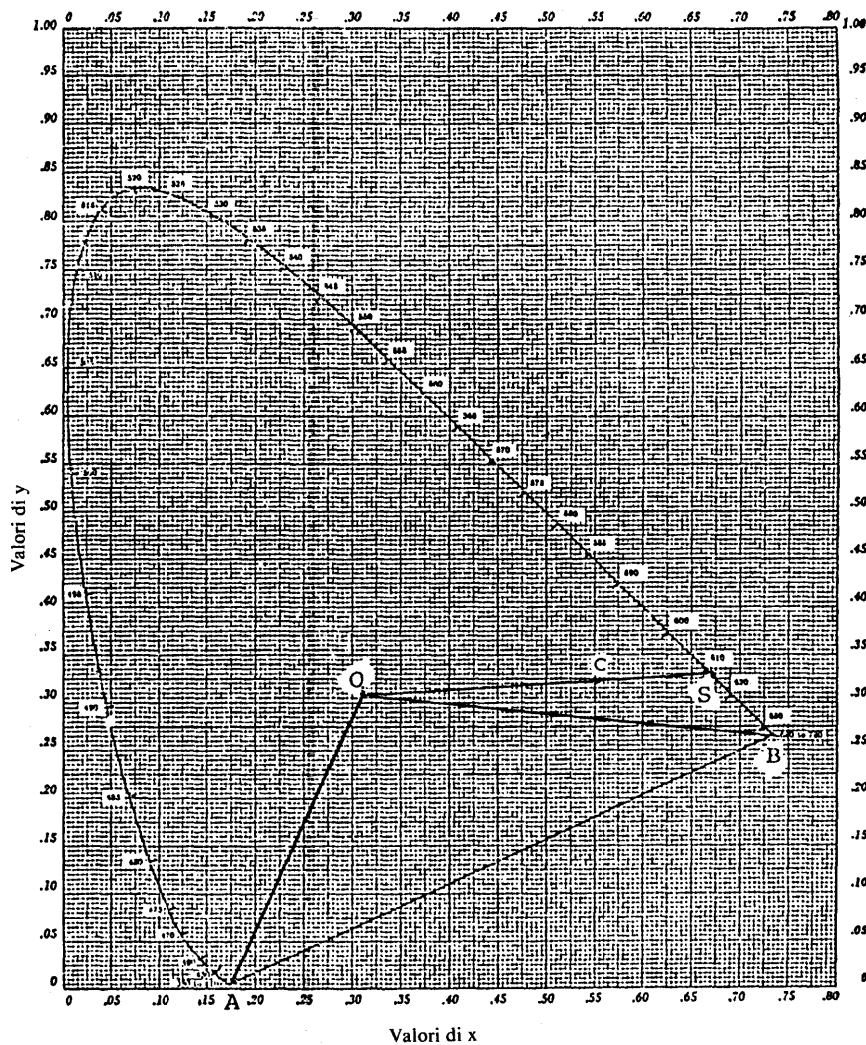


Figura 1
Diagramma di cromaticità rappresentante il locus di tutti i colori dello spettro.

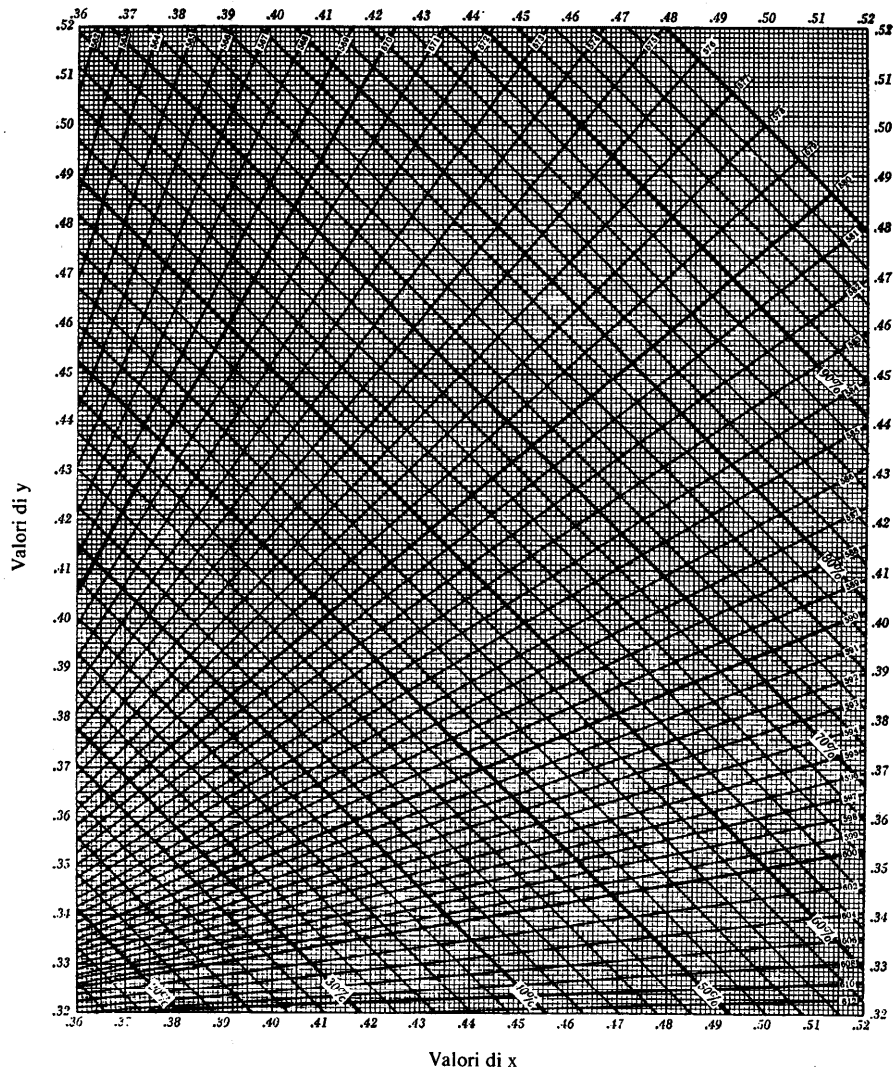


Figura 2
Diagramma di cromaticità per i vini rosso vivo e i vini rosso mattone.

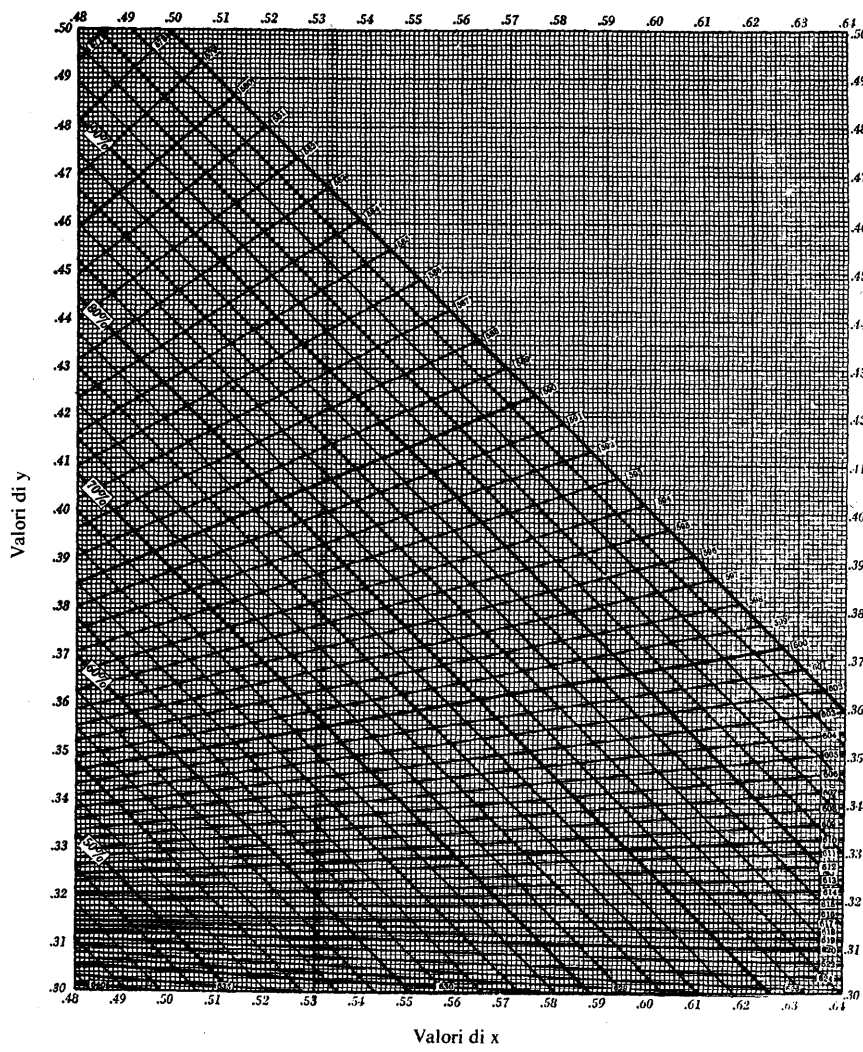


Figura 3
Diagramma di cromaticità per i vini rosso vivo e i vini rosso mattone.

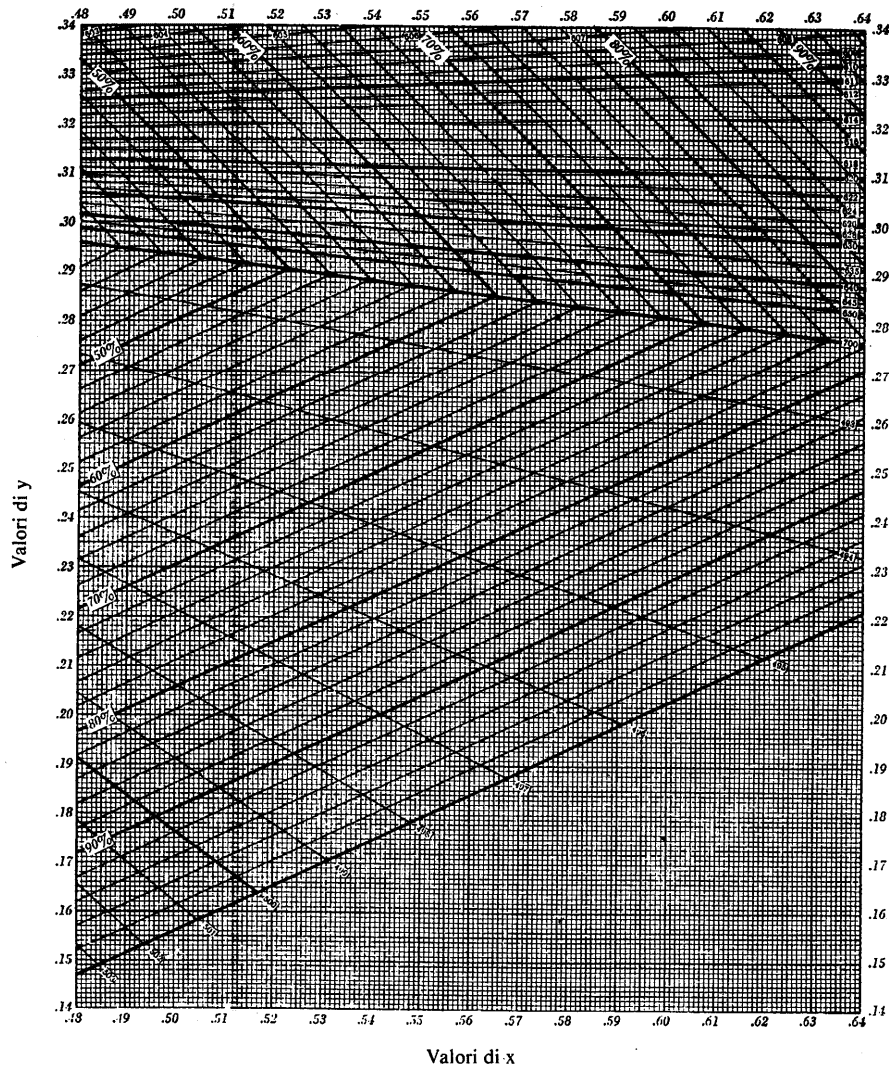


Figura 4
Diagramma di cromaticità per i vini rosso vivo e i vini rosso porpora.

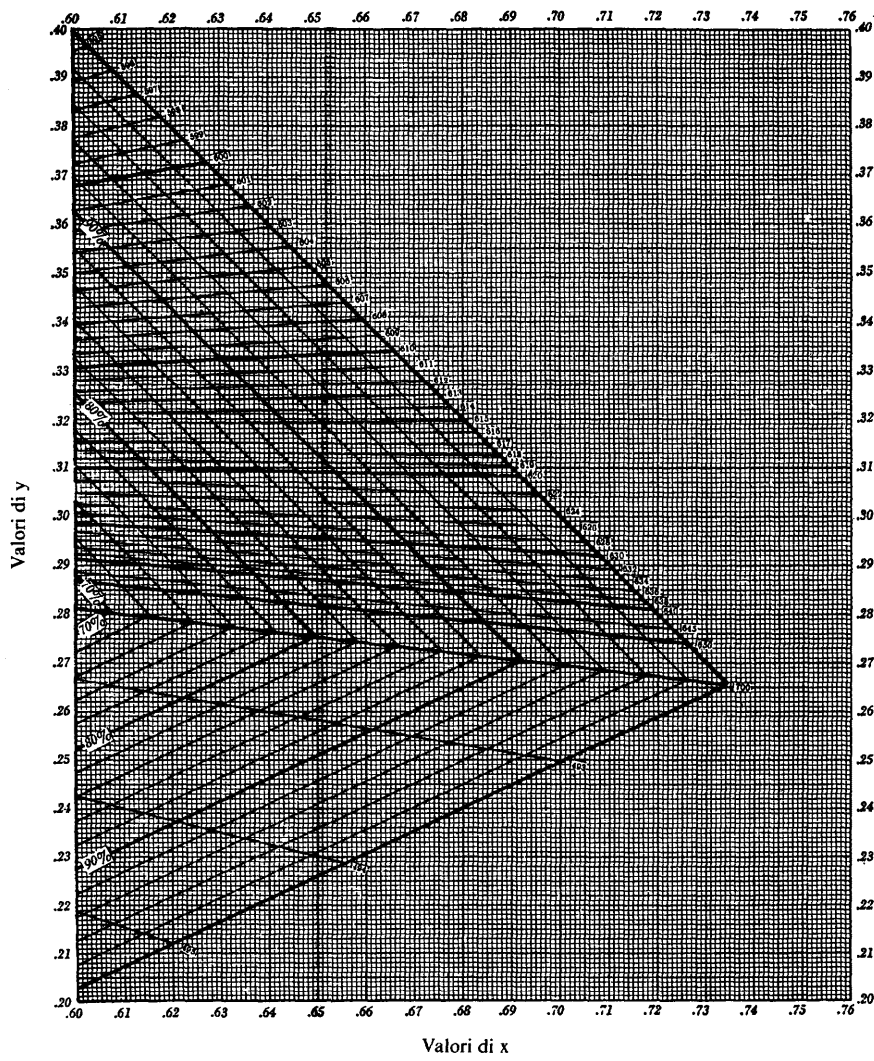


Figura 5
Diagramma di cromaticità per i vini rosso vivo e i vini rosso porpora.

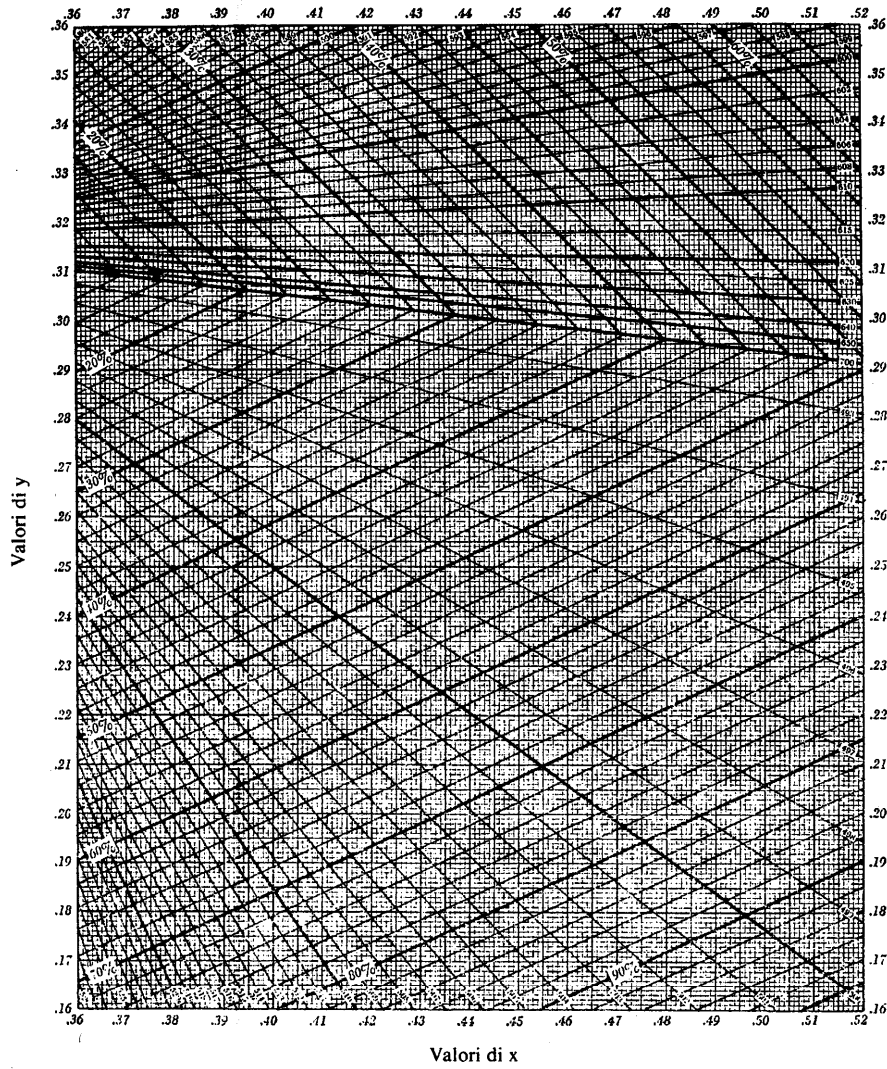


Figura 6
Diagramma di cromaticità per i vini rosso mattone e i vini rosso porpora.

2. MOSTI CONCENTRATI RETTIFICATI

2.1. Principio

Misurazione dell'assorbanza, a 425 nm sotto spessore di 1 cm, del mosto concentrato rettificato la cui concentrazione in zuccheri è stata portata al 25 % (m/m) (25 ° Brix).

2.2. Apparecchiatura

2.2.1. Spettrofotometro che consenta di effettuare misure fra 300 e 700 nm.

2.2.2. Celle di vetro, a cammino ottico da 1 cm.

2.2.3. Filtro a membrana con porosità di 0,45 µm.

2.3. Modo di operare

2.3.1. Preparazione del campione

Utilizzare la soluzione il cui titolo in zuccheri è del 25 % (m/m) (25 ° Brix) preparata secondo le indicazioni del punto 4.1.2 del capitolo «pH». Filtrarla su filtro a membrana di porosità 0,45 µm.

2.3.2. Determinazione dell'assorbanza

Regolare l'assorbanza zero alla lunghezza d'onda 425 nm su una cella di cammino ottico da 1 cm contenente acqua distillata.

Rilevare l'assorbanza A, a questa lunghezza d'onda, della soluzione al 25 % in zuccheri (25 ° Brix), ottenuta al punto 2.3.1, posta in una cella a cammino ottico da 1 cm.

2.4. Espressione dei risultati

L'assorbanza a 425 nm del mosto concentrato rettificato in soluzione al 25 % (m/m) in zuccheri (25 ° Brix) è espressa con due cifre decimali.

41. INDICE DI FOLIN-CIOCALTEU**1. DEFINIZIONE**

L'indice di Folin-Ciocalteu è il risultato che si ottiene applicando il metodo seguente.

2. PRINCIPIO

L'insieme dei composti fenolici del vino viene ossidato dal reattivo di Folin-Ciocalteu. Questo è costituito da una miscela di acido fosfotungstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e di acido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) che si riduce, con l'ossidazione dei fenoli, a una miscela di ossidi blu di tungsteno (W_8O_{23}) e di molibdeno (Mo_8O_{23}).

La colorazione blu prodotta ha un assorbimento massimo intorno a 750 nm. Essa è proporzionale al tenore in composti fenolici.

3. REATTIVI

I reattivi devono essere di qualità analitica. L'acqua utilizzata deve essere distillata o avere purezza equivalente.

3.1. Reattivo di Folin-Ciocalteu

Questo reattivo si trova in commercio pronto per l'uso. Può essere preparato nel modo seguente: sciogliere 100 g tungstato di sodio ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) e 25 g di molibdato di sodio ($NaMoO_4 \cdot 2H_2O$) in 700 ml di acqua distillata; aggiungere 50 ml di acido fosforico all'85% ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml) e 100 ml di acido cloridrico concentrato ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Portare ad ebollizione in riflusso per 10 ore, aggiungere quindi 150 g di solfato di litio ($Li_2SO_4 \cdot H_2O$), alcune gocce di bromo e portare nuovamente all'ebollizione per 15 minuti. Raffreddare e portare ad 1 l con acqua distillata.

3.2. Soluzione al 20% (m/v) di carbonato di sodio (Na_2CO_3) anidro.**4. APPARECCHIATURA**

Comune dotazione di laboratorio, in particolare:

4.1. Palloni tarati da 100 ml.**4.2. Spettrofotometro con lunghezza d'onda a 750 nm.****5. MODO DI OPERARE****5.1. Vini rossi**

In un pallone tarato da 100 ml (4.1), versare nell'ordine:

1 ml di vino diluito al 20%

50 ml di acqua distillata

5 ml di reattivo di Folin-Ciocalteu (3.1)

20 ml di soluzione di carbonato di sodio (3.2).

Portare a 100 ml con acqua distillata.

Agitare per omogeneizzare. Attendere 30 minuti che la reazione sia completa. Determinare l'assorbanza a 750 nm per 1 cm rispetto al riferimento preparato con acqua distillata al posto del vino.

Se l'assorbanza letta non ha un valore prossimo a 0,3, è opportuno ricominciare il procedimento, modificando la diluizione del vino in modo da ottenere tale assorbanza.

5.2. Vini bianchi

Operare nelle stesse condizioni, su 1 ml di vino non diluito.

5.3. Mosti concentrati rettificati**5.3.1. Preparazione del campione**

Utilizzare la soluzione il cui tenore in zuccheri è del 25 % (m/m) (25 ° Brix) preparata secondo le indicazioni del punto 4.1.2, del capitolo «pH».

5.3.2. Misura

Operare come descritto nel caso dei vini rossi (5.1) su 5 ml di campione preparato come in 5.3.1 e misurare l'assorbanza rispetto a un bianco preparato con 5 ml di una soluzione al 25 % (m/m) di zucchero invertito.

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI**6.1. Calcolo**

Esprimere il risultato sotto forma di un indice ottenuto moltiplicando l'assorbanza per 100, nel caso dei vini rossi diluiti al 20 % (o per il fattore corrispondente alla diluizione operata) e per 20 nel caso dei vini bianchi. Nel caso dei mosti concentrati rettificati l'assorbanza deve essere moltiplicata per 16.

6.2. Ripetibilità

La differenza tra i risultati di due determinazioni effettuate simultaneamente o rapidamente l'una dopo l'altra dallo stesso analista, non deve essere superiore a 1.

Una buona ripetibilità dei risultati dipende dall'impiego rigorosamente corretto dell'apparecchiatura (palloni tarati e celle).

42. METODI DI ANALISI PARTICOLARI PER MOSTI CONCENTRATI RETTIFICATI**a) CATIONI TOTALI****1. PRINCIPIO**

Si tratta la presa di campione con uno scambiatore di cationi fortemente acido. I cationi vengono scambiati con l' H^+ e vengono espressi per differenza tra l'acidità totale dell'effluente e quella della presa di campione.

2. APPARECCHIATURA

2.1. Colonna in vetro della lunghezza di circa 300 mm e di 10-11 mm di diametro interno, provvista di un rubinetto.

2.2. pHmetro graduato almeno in decimi di unità pH.

2.3. Elettrodi.

- Elettrodo in vetro, da conservare in acqua distillata,
- Elettrodo di riferimento al calomelano-cloruro di potassio saturo, da conservare in soluzione satura di cloruro di potassio,
- oppure elettrodo combinato da conservare in acqua distillata.

3. REATTIVI

3.1. Scambiatore di cationi fortemente acido, nella forma H^+ . Prima di utilizzarla far gonfiare la resina immergendola in acqua per una notte.

3.2. Soluzione 0,1 M di idrossido di sodio.

3.3. Indicatore di pH (di carta).

4. MODO DI OPERARE**4.1. Preparazione del campione**

Utilizzare la soluzione ottenuta diluendo il mosto concentrato rettificato al 40 % (m/v) come indicato al punto 5.1.2 del capitolo «Acidità totale».

4.2. Preparazione della colonna scambiatrice di ioni

Introdurre nella colonna circa 10 ml di scambiatore di ioni preventivamente gonfiato nella forma H^+ ; lavare la colonna con acqua distillata sino ad eliminazione dell'acidità controllata mediante l'indicatore di carta.

4.3. Scambio di ioni

Fare passare attraverso la colonna, alla velocità di una goccia al secondo, 100 ml della soluzione di mosto concentrato rettificato preparata secondo le indicazioni del punto 4.1. Raccogliere l'effluente in un becher. Lavare la colonna con 50 ml di acqua distillata. Titolare l'acidità dell'effluente (comprese le acque di lavaggio) con la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio sino ad ottenere un pH 7 a 20 °C. Il liquido alcalino va aggiunto lentamente agitando in continuazione la soluzione. Sia n ml il volume di soluzione 0,1 M di idrossido di sodio impiegato.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

I cationi totali vengono espressi in milliequivalenti per chilo di zuccheri totali con una cifra decimale.

5.1. **Calcoli**

- Acidità dell'effluente espressa in milliequivalenti per chilo di mosto concentrato rettificato:

$$E = 2,5 \cdot n$$

- Acidità totale del mosto concentrato rettificato in milliequivalenti per chilo (vedi «Acidità totale», punto 6.1.2): a.
- Cationi totali in milliequivalenti per chilo di zuccheri totali:

$$\frac{2,5 n - a}{P} \cdot 100$$

P = Tenore percentuale (m/m) in zuccheri totali.

b) **CONDUTTIVITÀ**1. **PRINCIPIO**

Misura della conduttività elettrica di una colonna di liquido delimitata da due elettrodi di platino paralleli fra di loro, che costituiscono uno dei lati di un ponte di Wheatstone.

La conduttività varia con la temperatura ed è espressa a 20 °C.

2. **APPARECCHIATURA**

2.1. Conduttimetro per misure di conduttività tra 1 e 1 000 microsiemens per cm.

2.2. Bagnomaria in grado di portare la temperatura dei campioni da analizzare a circa 20 °C (20 ± 2 °C).

3. **REATTIVI**

3.1. Acqua demineralizzata la cui conduttività specifica sia inferiore a 2 microsiemens per cm a 20 °C.

3.2. Soluzione di cloruro di potassio di riferimento.

Sciogliere 0,581 g di cloruro di potassio, KCl, previamente essiccato fino a massa costante alla temperatura di 105 °C, in acqua demineralizzata (3.1). Portare a un litro con acqua demineralizzata (3.1). Tale soluzione ha una conduttività di 1 000 microsiemens per cm a 20 °C. Può essere conservata per non più di 3 mesi.

4. **MODO DI OPERARE**4.1. **Preparazione del campione**

Utilizzare la soluzione il cui tenore in zuccheri totali è del 25 % (m/m) (25° Brix) come indicato al capitolo «pH», al punto 4.1.2.

4.2. **Determinazione della conduttività**

Portare il campione da analizzare a 20 °C per immersione in un bagno d'acqua. Controllare la temperatura con l'approssimazione di 0,1 °C.

Lavare due volte la cella di misura del conduttimetro con la soluzione da esaminare.

Misurare la conduttività espressa in microsiemens per cm.

5. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Per la soluzione al 25 % (m/m) (25 ° Brix) del mosto concentrato rettificato, la conduttività è espressa in microsiemens per cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$) a 20 °C, senza cifre decimali.

5.1. Calcolo

Se l'apparecchio non è dotato di un compensatore di temperatura, correggere la conduttività misurata mediante la tabella I. Se la temperatura è inferiore a 20 °C, aggiungere la correzione; se la temperatura è superiore a 20 °C, sottrarre la correzione.

TABELLA I

Correzione della conduttività per temperature diverse da 20 °C, microsiemens cm^{-1}

Conduttività	Temperature									
	20,2 19,8	20,4 19,6	20,6 19,4	20,8 19,2	21,0 19,0	21,2 18,8	21,4 18,6	21,6 18,4	21,8 18,2	22,0 (1) 18,0 (2)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
300	1	3	4	5	7	8	9	11	12	13
350	1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

(1) Sottrarre la correzione.

(2) Aggiungere la correzione.

c) IDROSSIMETILFURFURALE

1. PRINCIPIO DEI METODI

1.1. Metodo colorimetrico

Le aldeidi derivate dal furano, di cui l'idrossimetilfurfurale è la principale, reagiscono con l'acido barbiturico e la paratoluidina per dare un composto rosso che viene dosato per colorimetria a 550 nm.

1.2. Metodo per cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC)

Separazione su colonna in fase inversa e determinazione a 280 nm.

2. METODO COLORIMETRICO

2.1. Apparecchiatura

2.1.1. Spettrofotometro per misure comprese fra 300 e 700 nm.

2.1.2. Celle in vetro, a cammino ottico da 1 cm.

2.2. Reattivi**2.2.1. Acido barbiturico in soluzione allo 0,5 % (m/v).**

Sciogliere 500 mg di acido barbiturico, $C_4O_3N_2H_4$, in acqua distillata riscaldando leggermente in bagnomaria a 100° ; portare a 100 ml con acqua distillata. La soluzione può essere conservata per circa una settimana.

2.2.2. Paratoluidina in soluzione al 10 % (m/v).

10 g di paratoluidina, $C_6H_4(CH_3)NH_2$, vengono posti in un pallone tarato da 100 ml, aggiungere 50 ml di isopropanolo, $CH_3CH(OH)CH_3$, e 10 ml di acido acetico glaciale, CH_3COOH , ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$); completare a 100 ml con isopropanolo. Questa soluzione dev'essere rinnovata ogni giorno.

2.2.3. Etanale (CH_3CHO) in soluzione acquosa all'1 % (m/v). Da preparare al momento dell'uso.**2.2.4. Idrossimetilfurfurale, $C_6O_3H_6$, in soluzione acquosa di 1 g/l.**

Preparare per diluizioni successive delle soluzioni contenenti 5 - 10 - 20 - 30 e 40 mg/l. La soluzione a 1 g/l e le relative diluizioni devono essere preparate al momento dell'uso.

2.3. Modo di operare**2.3.1. Preparazione del campione**

Utilizzare la soluzione ottenuta diluendo il mosto concentrato rettificato al 40 % (m/v) come indicato al punto 5.1.2 del capitolo «Acidità totale». Effettuare il dosaggio su 2 ml di tale soluzione.

2.3.2. Dosaggio colorimetrico

Porre in 2 flaconi *a* e *b* da 25 ml tappati a smeriglio, 2 ml di campione preparato come indicato al 2.3.1. Aggiungere in ciascun flacone 5 ml di soluzione di paratoluidina (2.2.2); mescolare. Aggiungere nel flacone *b* (bianco) 1 ml di acqua distillata e nel flacone *a* (campione), 1 ml di soluzione di acido barbiturico (2.2.1). Agitare per omogeneizzare. Traversare il contenuto dei flaconi nelle celle dello spettrofotometro a cammino ottico da 1 cm. Dopo aver regolato lo zero della scala delle assorbanze sul contenuto del flacone *b* alla lunghezza d'onda di 550 nm, osservare la variazione dell'assorbanza del contenuto del flacone *a* rilevandone il valore massimo *A* raggiunto nell'intervallo tra 2 e 5 minuti.

I campioni in cui il tenore in idrossimetilfurfurale è superiore ai 30 mg/l devono essere diluiti prima dell'analisi.

2.3.3. Determinazione della curva di taratura

Porre, in una serie di due flaconi *a* e *b* da 25 ml, 2 ml di ciascuna delle soluzioni di idrossimetilfurfurale da 5 - 10 - 20 - 30 e 40 mg/l (2.2.4) e trattarli come descritto al punto 2.3.2.

La rappresentazione grafica delle assorbanze in funzione della concentrazione in mg/l dell'idrossimetilfurfurale nelle soluzioni di riferimento è una retta passante per l'origine.

2.4. Espressione dei risultati

La concentrazione in idrossimetilfurfurale dei mosti concentrati rettificati è espressa in milligrammi per chilogrammo di zuccheri totali.

2.4.1. Calcolo

La concentrazione C mg/l in idrossimetilfurfurale del campione da analizzare si ottiene riportando sulla curva di taratura l'assorbanza A determinata per detto campione.

Concentrazione di idrossimetilfurfurale in milligrammi per chilogrammo di zuccheri totali:

$$250 \cdot \frac{C}{P}$$

P = tenore percentuale in zuccheri totali del mosto concentrato rettificato.

3. METODO PER CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ALTA RISOLUZIONE**3.1. Apparecchiatura****3.1.1. Cromatografo in fase liquida ad alta risoluzione completa di:**

- un iniettore a volume variabile (loop) da 5 o 10 μ l,
- un rivelatore, spettrofotometro per effettuare misure a 280 nm,
- una colonna di silice legata con octadecile (ad esempio: Bondapak C₁₈ — Corasil, Waters Ass.),
- un registratore, eventualmente un integratore.

Flusso della fase mobile: 1,5 ml/minuto.

3.1.2. Dispositivo di filtrazione su membrana (0,45 μ m)**3.2. Reattivi****3.2.1. Acqua bidistillata.****3.2.2. Metanolo, CH₃OH, distillato o di qualità HPLC.****3.2.3. Acido acetico, CH₃COOH (p_{20} = 1,05 g/ml).****3.2.4. Fase mobile: acqua — metanolo (3.2.2) — acido acetico (3.2.3) previamente filtrati su membrana (0,45 μ m), (40- 9- 1 v/v).**

Detta fase mobile dev'essere preparata ogni giorno e degassata prima dell'uso.

3.2.5. Soluzione di riferimento di idrossimetilfurfurale a 25 mg/l (m/v).

Versare in un pallone tarato da 100 ml, 25 g pesati esattamente di idrossimetilfurfurale (C₆H₃O₆) e portare a volume con metanolo (3.2.2). Diluire la soluzione al 10 % con metanolo (3.2.2) e filtrarla su membrana (0,45 μ m).

Questa soluzione, mantenuta in frigorifero in un flacone di vetro imbrunito e chiuso ermeticamente, si conserva per 2-3 mesi.

3.3. Modo di operare**3.3.1. Preparazione del campione**

Utilizzare la soluzione ottenuta diluendo il mosto concentrato rettificato al 40 % (m/v) come indicato al capitolo «Acidità totale», punto 5.1.2, filtrata su membrana (0,45 μ m).

3.3.2. Determinazione cromatografica

Iniettare nel cromatografo 5 (o 10) µl del campione preparato come indicato al punto 3.3.1 e 5 (o 10) µl della soluzione di riferimento di idrossimetilfurale (3.2.5). Registrare il cromatogramma.

Il tempo di ritenzione dell'idrossimetilfurale è circa 6-7 minuti.

3.4. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il tenore in idrossimetilfurale dei mosti concentrati rettificati si esprime in milligrammi per chilogrammo di zuccheri totali.

3.4.1. Calcolo

Sia C mg/l, il tenore in idrossimetilfurale della soluzione di mosto concentrato rettificato al 40 % (m/v).

Concentrazione dell'idrossimetilfurale in milligrammi per chilogrammo di zuccheri totali:

$$\frac{250 \cdot C}{P}$$

P = tenore percentuale (m/m) in zuccheri totali del mosto concentrato rettificato.

d) METALLI PESANTI**1. PRINCIPI****I. Metodo rapido di valutazione dei metalli pesanti.**

Nei mosti concentrati rettificati opportunamente diluiti i metalli pesanti sono messi in evidenza dalla colorazione dovuta alla formazione di solfuri. La loro valutazione è effettuata per confronto con una soluzione di riferimento di piombo corrispondente al tenore massimo ammissibile.

II. Determinazione del tenore di piombo per spettrofotometria di assorbimento atomico.

Il chelato formato dal piombo con il pirrolidinditiocarbammato di ammonio viene estratto con il metilisobutilchetone di cui si misura l'assorbanza a 283,3 nm. Si determina quindi il tenore in piombo con il metodo delle aggiunte.

2. METODO RAPIDO DI VALUTAZIONE DEI METALLI PESANTI**2.1. Reattivi****2.1.1. Acido cloridrico al 70 % (m/v).**

Prelevare 70 g di acido cloridrico, (HCl) ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19$ g/ml) e portare a 100 ml con acqua.

2.1.2. Acido cloridrico diluito al 20 % (m/v).

Prelevare 20 g di acido cloridrico, (HCl) ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19$ g/ml) e completare a 100 ml con acqua.

2.1.3. Ammoniaca diluita.

Prelevare 14 g di ammoniaca, NH_3 ($\rho_{20} = 0,931 - 0,934$ g/ml) e portare a 100 ml con acqua.

2.1.4. *Soluzione tampone a pH 3,5.*

Sciogliere 25 g di acetato di ammonio, ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$), in 25 ml di acqua ed aggiungere 38 ml di acido cloridrico diluito (2.1.1). Se occorre, aggiustare il pH con l'acido cloridrico diluito (2.1.2) o con ammoniaca diluita (2.1.3) e portare a 100 ml con acqua.

2.1.5. *Soluzione di tioacetammide, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}$), al 4 % (m/v).*

2.1.6. *Soluzione di glicerolo ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) all'85 % (m/v).*

($n_D^{20} = 1,449 - 1,455$).

2.1.7. *Reattivo alla tioacetammide*

Aggiungere a 0,2 ml di soluzione di tioacetammide (2.1.5), 1 ml della miscela ottenuta con 5 ml di acqua, 15 ml di idrossido di in soluzione sodio 1 M e 20 ml di glicerolo (2.1.6). Riscaldare in bagnomaria a 100 °C per 20 secondi. Preparare al momento dell'uso.

2.1.8. *Soluzione di piombo a 0,002 g/l.*

Preparare una soluzione a 1 g/l piombo sciogliendo in acqua 0,400 g di nitrato di piombo, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, e portare a 250 ml con acqua. Al momento dell'impiego diluire questa soluzione al 2 ‰ (v/v) con acqua in modo da ottenere la soluzione a 0,002 g/l.

2.2. **Modo di operare**

Diluire 10 g del campione di mosto concentrato rettificato in 10 ml di acqua. Aggiungere 2 ml di soluzione tampone a pH 3,5 (2.1.4); mescolare. Aggiungere 1,2 ml di reattivo alla tioacetammide (2.1.7). Mescolare immediatamente. Preparare la soluzione di confronto nelle stesse condizioni utilizzando 10 ml di soluzione a 0,002 g/l di piombo (2.1.8).

Dopo 2 minuti l'eventuale colorazione bruna della soluzione di mosto concentrato rettificato non deve essere più intensa di quella della soluzione di confronto.

2.3. **Calcolo**

Il saggio, nelle condizioni descritte, corrisponde ad un tenore massimo ammissibile di metalli pesanti, espresso come piombo, di 2 mg/kg di mosto concentrato rettificato.

3. **DETERMINAZIONE DEL TENORE DI PIOMBO PER SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO**

3.1. **Apparecchiatura**

3.1.1. Spettrofotometro di assorbimento atomico completo di bruciatore alimentato con aria-acetilene.

3.1.2. Lampada a catodo cavo al piombo.

3.2. **Reattivi**

3.2.1. Acido acetico diluito.

Prelevare 12 g di acido acetico glaciale ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) e completare a 100 ml con acqua.

3.2.2. Soluzione di pirrolidinditiocarbammato di ammonio, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, all'1 % (m/v).

3.2.3. Metilisobutilchetone, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$.

3.2.4. Soluzione di piombo allo 0,010 g/l. Diluire all' 1 % (v/v) la soluzione di piombo a 1 g/l (2.1.8).

3.3. **Modo di operare**

3.3.1. *Soluzione da esaminare*

Diluire 10 g di mosto concentrato rettificato in una miscela a parti uguali di acido acetico diluito (3.2.1) e di acqua e portare a 100 ml con tale miscela.

Aggiungere 2 ml di soluzione di pirrolidinditiocarbammato di ammonio (3.2.2) e 10 ml di metilisobutilchetone (3.2.3). Agitare al riparo dalla luce diretta per 30 secondi. Fare separare i due strati. Utilizzare lo strato di metilisobutilchetone.

3.3.2. *Soluzione di riferimento*

Preparare tre soluzioni di riferimento contenenti oltre ai 10 g di mosto concentrato rettificato, rispettivamente 1, 2 e 3 ml della soluzione di piombo a 0,010 g/l (3.2.4). Trattarle come la soluzione in esame.

3.3.3. *Bianco*

Preparare un bianco procedendo nelle stesse condizioni descritte al punto 3.3.1 per la soluzione da esaminare ma senza aggiungere il mosto concentrato rettificato.

3.3.4. *Determinazione*

Selezionare la lunghezza d'onda 283,3 nm.

Polverizzare nella fiamma il metilisobutilchetone proveniente dal saggio in bianco e regolare l'assorbanza zero.

Operando sugli estratti determinare le assorbanze corrispondenti alla soluzione in esame ed alle soluzioni di riferimento.

3.4. **Espressione dei risultati**

Esprimere il tenore di piombo in milligrammi per chilogrammo di mosto concentrato rettificato con una cifra decimale.

3.4.1. *Calcolo*

Tracciare la curva che rappresenta la variazione delle assorbanze in funzione della concentrazione di piombo addizionato alle soluzioni di riferimento, ponendo la concentrazione della soluzione da esaminare uguale a zero.

Estrapolare la retta di congiunzione dei punti sino ad incontrare l'asse delle concentrazioni dal lato negativo. La distanza di questo punto dall'origine rappresenta la concentrazione in piombo della soluzione da esaminare.

e) **DETERMINAZIONE CHIMICA DELL'ETANOLO**

Questo metodo di dosaggio è utilizzato per la determinazione del titolo alcolometrico dei liquidi leggermente alcolici quali i mosti, i mosti concentrati, i mosti concentrati rettificati.

1. PRINCIPIO

Distillazione semplice del liquido. Ossidazione dell'etanolo del distillato mediante bicromato di potassio. Titolazione dell'eccesso di bicromato con una soluzione di ferro II.

2. APPARECCHIATURA

2.1. Utilizzare l'apparecchio di distillazione descritto al punto 3.2. del capitolo «Titolo alcolometrico».

3. REATTIVI**3.1. Soluzione di bicromato di potassio**

Sciogliere 33,600 g di bicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$) nella quantità di acqua sufficiente ad ottenere 1 l a 20 °C.

Un millilitro di questa soluzione ossida 7,8924 mg di alcool.

3.2. Soluzione di solfato di ferro II e di ammonio

Sciogliere 135 g di solfato di ferro II e di ammonio, $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6 H_2O$ in acqua, aggiungere 20 ml di acido solforico concentrato, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), portare ad 1 l con acqua. Questa soluzione, appena preparata, corrisponde all'incirca a metà del suo volume di soluzione di bicromato. In seguito si ossida lentamente.

3.3. Soluzione di permanganato di potassio

Sciogliere 1,088 g di permanganato di potassio, $KMnO_4$, in una quantità di acqua sufficiente per 1 litro.

3.4. Acido solforico diluito 1/2 (v/v)

Aggiungere a 500 ml di acqua lentamente ed agitando 500 ml di acido solforico, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

3.5. Reattivo all'ortofenantrolina ferrosa

Sciogliere 0,695 g di solfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) in 100 ml di acqua, aggiungere 1,485 g di monoidrato di orto-fenantrolina ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$). Riscaldare per favorire la dissoluzione. Questa soluzione, di colore rosso vivo, si conserva molto bene.

4. MODO DI OPERARE**4.1. Distillazione**

Versare nel pallone di distillazione 100 g del mosto concentrato rettificato e 100 ml di acqua. Raccogliere il distillato in un pallone tarato da 100 ml e portare a volume con acqua.

4.2. Ossidazione

In una beuta con tappo smerigliato da 300 ml il cui collo termini con una svasatura in modo da poter sciacquare il collo stesso senza perdite, versare 20 ml di soluzione titolata di bicromato di potassio (3.1), 20 ml di acido solforico diluito 1/2 (v/v) (3.4) e agitare. Aggiungere 20 ml di distillato. Tappare la beuta, agitare e lasciare trascorrere almeno 30 minuti agitando di tanto in tanto (beuta «campione»).

4.3. **Titolazione**

Titolare l'eccesso di bicromato con la soluzione di solfato di ferro II e ammonio (3.2) dopo aver aggiunto 4 gocce di reattivo all'ortofenantrolina (3.5). Arrestare la titolazione quando la colorazione passa dall'azzurro verde al marrone.

Per individuare con maggiore precisione il punto di viraggio, ritornare dal marrone all'azzurro-verde con la soluzione di permanganato di potassio (3.3). Sottrarre un decimo del volume impiegato di questa soluzione dal volume della soluzione di solfato di ferro II impiegato, sia n' tale differenza.

Ripetere lo stesso procedimento titolando in una beuta identica alla precedente le stesse quantità di reattivi sostituendo i 20 ml di distillato con 20 ml di acqua (beuta «bianco»). Sia n' la differenza.

5. **ESPRESSIONE DEI RISULTATI**

L'etanolo è espresso in grammi per chilogrammo di zuccheri totali con una cifra decimale.

5.1. **Calcolo**

n' ml di soluzione ferrosa riducono 20 ml di soluzione di bicromato che ossidano 157,85 mg di etanolo puro.

Un millilitro di soluzione di ferro II ha lo stesso potere riducente di:

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg di etanolo}$$

$n' - n$ ml di soluzione di ferro II hanno lo stesso potere riducente di:

$$157,85 \cdot \frac{n' - n}{n'} \text{ mg di etanolo}$$

Etanolo in g/kg di mosto concentrato rettificato:

$$7,892 \cdot \frac{n' - n}{n'}$$

Etanolo in g/kg di zuccheri totali:

$$789,2 \cdot \frac{n' - n}{n' \cdot P}$$

dove P = tenore percentuale (m/m) in zuccheri totali.

f) **MESO-INOSITOLO, SCILLO-INOSITOLO E SACCAROSIO**1. **PRINCIPIO DEL METODO**

Cromatografia in fase gassosa di derivati silanizzati.

2. REAGENTI

- 2.1. Standard interno: xilitolo (soluzione acquosa di circa 10 g/l aggiunta di una punta di spatola di sodio azide)
- 2.2. Bistrimetilsililtrifluoroacetamide — BSTFA — ($C_8H_{18}F_3NOSi_2$)
- 2.3. Trimetilclorosilano (C_3H_9ClSi)
- 2.4. Piridina p. a. (C_5H_5N)
- 2.5. Meso-inositolo ($C_6H_{12}O_6$)

3. APPARECCHIATURA

3.1. Gascromatografo dotato di:

- 3.2. Colonna capillare (per esempio in silice fusa, OV 1, spessore del film di 0,15 μ , lunghezza di 25 m e diametro interno di 0,3 mm).

Condizioni di lavoro: fase di trasporto: idrogeno o elio

- flusso del gas di trasporto: circa 2 ml/minuto,
- temperatura dell'iniettore e del rivelatore: 300 °C,
- programmazione di temperatura: 1 minuto a 160 °C, 4 °C/minuto fino a 260 °C, isoterma a 260 °C per 15 minuti,
- rapporto di splittaggio: circa 1 a 20.

- 3.3. Integratore.
- 3.4. Siringa micrometrica da 10 μ l.
- 3.5. Micropipette da 50, 100 e 200 μ l.
- 3.6. Fiale da 2 ml con tappo teflonato.
- 3.7. Stufa.

4. MODO DI OPERARE

Circa 5 g di MCR, esattamente pesati in un matraccio da 50 ml sono aggiunti di 1 ml di soluzione standard di xilitolo (2.1) e portati a volume con acqua. Dopo omogeneizzazione del campione si prelevano 100 μ l di soluzione che si pongono in fiala (3.6) e si portano a secchezza sotto leggera corrente d'aria, previa eventuale aggiunta di 100 μ l di etanolo assoluto per facilitare l'evaporazione.

Il residuo si scioglie accuratamente in 100 μ l di piridina (2.4), si aggiungono 100 μ l di bistrimetilsililtrifluoroacetamide (2.2) e 10 μ l di trimetilclorosilano (2.3), si sigilla la fiala con tappo teflonato e si pone in stufa a 60 °C per un'ora.

Si prelevano 0,5 μ l del limpido iniettando ad ago vuoto e caldo con lo splittaggio sopraindicato.

5. CALCOLO DEI FATTORI DI RISPOSTA

5.1. Si prepara una soluzione contenente:

glucosio 60 g/l, fruttosio 60 g/l, meso-inositolo 1 g/l e saccarosio 1 g/l.

Si pesano 5 g di detta soluzione e si procede come al punto 4. Si calcolano dal cromatogramma ottenuto i fattori di risposta del meso-inositolo e del saccarosio rispetto allo xilitolo.

Per lo scillo-inositolo, non disponibile in commercio, che ha un tempo di ritenzione compreso fra l'ultimo picco delle forme animeriche del glucosio e quello del meso-inositolo (vedi figura allegata), si usa lo stesso fattore di risposta ottenuto per il meso-inositolo.

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

- 6.1. Il meso-inositolo e lo scillo-inositolo si esprimono in mg/kg di zuccheri totali. Il saccarosio si esprime in g/kg di mosto.

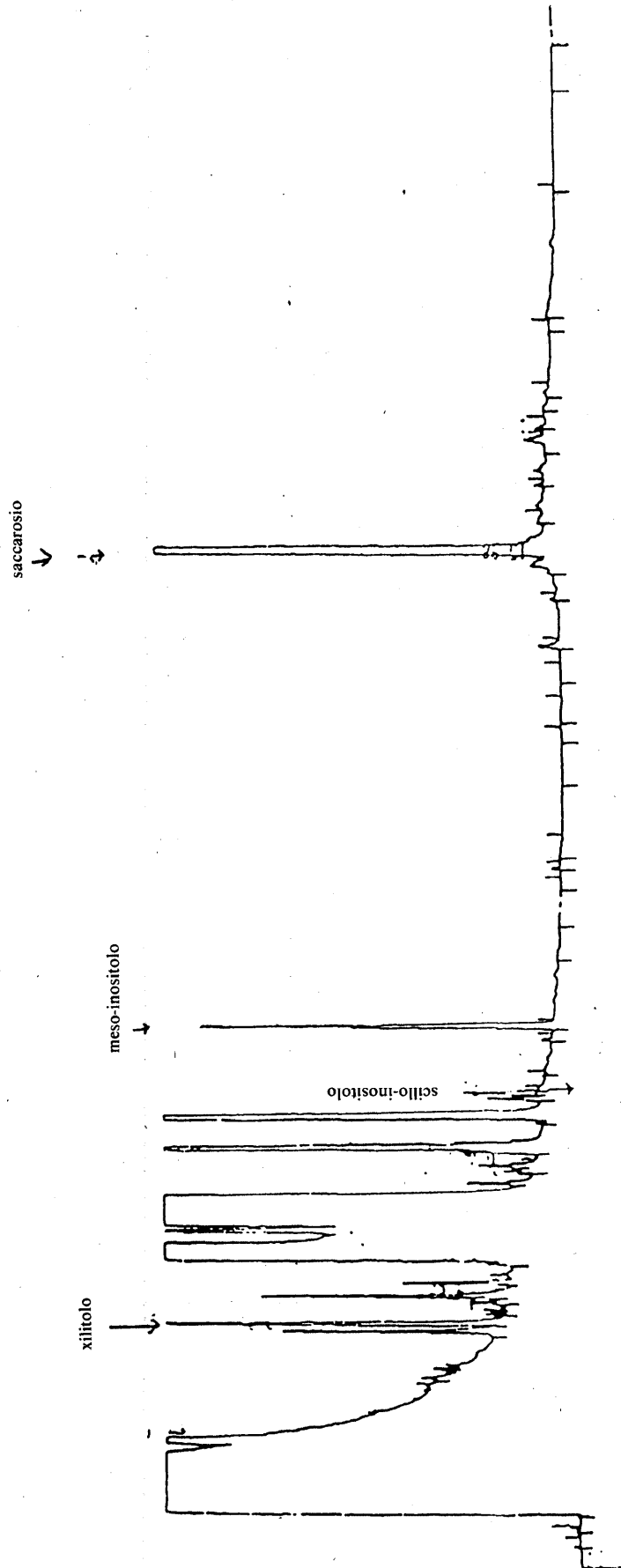


Figura: Cromatogramma in fase gassosa del meso-inositolo, dello scillo-inositolo e del saccarosio.