

I

(Actos cuja publicação é uma condição da sua aplicabilidade)

REGULAMENTO (CEE) Nº 2676/90 DA COMISSÃO

de 17 de Setembro de 1990

que determina os métodos de análise comunitários aplicáveis no sector do vinho

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Económica Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (CEE) nº 822/87 do Conselho, de 16 de Março de 1987, que estabelece a organização comum do mercado vitivinícola ⁽¹⁾, alterado pelo Regulamento (CEE) nº 1325/90 ⁽²⁾, e, nomeadamente, o seu artigo 4º,

Considerando que o nº 1 do artigo 74º do Regulamento (CEE) nº 822/87 determina a adopção dos métodos de análise que permitem estabelecer a composição dos produtos referidos no artigo 1º desse regulamento e as regras que permitem estabelecer se esses produtos foram objecto de tratamento com violação das práticas enológicas autorizadas;

Considerando que, uma vez que a Comunidade ainda não estabeleceu os teores-limite dos elementos presentes que caracterizam a utilização de certas práticas nem quadros que permitam a comparação dos dados analíticos, é conveniente autorizar os Estados-membros a determinar os limites;

Considerando que o nº 1 do artigo 13º do Regulamento (CEE) nº 822/87 prevê um exame analítico respeitante aos valores mínimos dos elementos característicos dos vqprd em causa, que figuram entre os enumerados no anexo do referido regulamento;

Considerando que o controlo das indicações que constam dos documentos relativos aos produtos em causa torna necessária a implementação de métodos de análise uniformes que assegurem a obtenção de dados precisos e comparáveis; que, por consequência, estes métodos devem ser obrigatórios em qualquer transacção comercial ou em qualquer operação de controlo e, dadas as possibilidades limitadas do comércio, é conveniente admitir um número limitado de processos usuais que permitam uma determinação rápida e suficientemente segura dos elementos pesquisados;

Considerando que é útil reter como métodos, na medida do possível, aqueles que beneficiam do reconhecimento geral, tais como os métodos desenvolvidos no âmbito da Convenção Internacional para a Unifica-

ção dos Métodos de Análise e a Aplicação dos Vinhos de 1954, publicados pelo «Office International de la Vigne et du Vin» na Colectânea dos Métodos Internacionais de Análise dos Vinhos (*Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins*);

Considerando que o Regulamento (CEE) nº 1108/82 ⁽³⁾ estabelece métodos de análise comunitários aplicáveis no sector do vinho; que, tendo em conta o progresso científico, se tornou necessário substituir determinados métodos por métodos mais adequados, alterar alguns métodos e introduzir outros, nomeadamente aqueles que foram desde há muito aprovados pelo «Office International de la Vigne et du Vin»; que devido ao grande número e à complexidade destas adaptações, é conveniente agrupar todas as análises num novo regulamento e revogar o Regulamento (CEE) nº 1108/82;

Considerando que, para assegurar a comparabilidade dos resultados obtidos na aplicação dos métodos de análise mencionados no artigo 74º do Regulamento (CEE) nº 822/87, convém que se refira, no que respeita à exactidão, repetibilidade e reprodutibilidade desses resultados, às definições estabelecidas pelo «Office International de la Vigne et du Vin»;

Considerando que, tendo em conta todo o progresso científico, por um lado, e o equipamento técnico dos laboratórios oficiais, pelo outro, e com o objectivo de tornar o trabalho destes laboratórios mais eficaz e mais rentável, há lugar para permitir a aplicação de métodos de análise automatizados sob determinadas condições; convém especificar que, em caso de litígio, os métodos automatizados não podem substituir os métodos de referência nem os métodos usuais;

Considerando que os resultados de uma medição da densidade pelo método automatizado baseado no princípio de um ressonador de flexão são, no que respeita à exactidão, à sua repetibilidade e reprodutibilidade, pelo menos iguais aos resultados obtidos pelos métodos constantes do ponto 1 do anexo do presente regulamento para medir a massa volúmica ou a densidade relativa; que é, portanto, indicado, em virtude do nº 3 do artigo 74º do Regulamento (CEE) nº 822/87, considerar este método automatizado como equiva-

(1) JO nº L 84 de 27. 3. 1987, p. 1.

(2) JO nº L 132 de 23. 5. 1990, p. 19.

(3) JO nº L 133 de 14. 5. 1982, p. 1.

lente aos métodos referidos, constantes do anexo do presente regulamento;

Considerando que o método operatório, descrito no ponto 2.2.3.3.2 do capítulo 25 do anexo do presente regulamento para análise do teor de dióxido de enxofre total dos vinhos e dos mostos com um teor presumido de menos de 50 miligramas por litro, leva a uma melhor extracção daquela substância relativamente ao modo operatório descrito no ponto 13.4 do capítulo 13 do anexo do Regulamento (CEE) n.º 1108/82; que deste facto resultam teores mais elevados de dióxido de enxofre total dos produtos analisados que podem exceder, nomeadamente no caso de determinados sumos de uva, o limite máximo prescrito; que, a fim de evitar dificuldades para o escoamento dos sumos de uva já elaborados aquando da entrada em vigor do presente regulamento e enquanto se aguarda que os processos de elaboração sejam adaptados para levar a uma desulfitação mais completa dos mostos de uva amuados, há que permitir, durante um período transitório, que o modo operatório descrito no regulamento atrás referido seja ainda utilizado;

Considerando que as medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité de Gestão dos Vinhos,

ADOPTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1.º

1. Os métodos de análise comunitários aplicáveis no sector do vinho que, aquando das transacções comerciais e de toda a operação de controlo, permitem:

- estabelecer a composição dos produtos referidos no artigo 1.º do Regulamento (CEE) n.º 822/87,
- estabelecer se estes produtos foram objecto de tratamentos que violam as práticas enológicas autorizadas,

são os que figuram no anexo do presente regulamento.

2. Para as matérias para as quais os métodos de referência e os métodos usuais estão fixados, prevalecem os resultados obtidos por aplicação dos métodos de referência.

Artigo 2.º

Para efeitos de aplicação do presente regulamento:

- a) A repetibilidade representa o valor abaixo do qual se situa, com uma probabilidade específica, o valor

absoluto da diferença dos dois resultados individuais obtidos a partir de medidas efectuadas nas mesmas condições (mesmo operador, mesmo aparelho, mesmo laboratório e num curto espaço de tempo);

- b) A reprodutividade representa o valor abaixo do qual se situa, com uma probabilidade específica, o valor absoluto da diferença de dois resultados individuais obtidos em condições diferentes (operadores diferentes, aparelhos diferentes, e/ou laboratórios diferentes e/ou épocas diferentes).

O termo «resultado individual» é o valor obtido quando se aplica, uma vez e completamente, o método de ensaio normalizado a uma única amostra.

Na ausência de indicação, a probabilidade é de 95 %.

Artigo 3.º

1. São admitidos métodos de análise automatizados, sob a responsabilidade do director do laboratório, desde que a exactidão, a repetibilidade e a reprodutividade dos resultados sejam pelo menos equivalentes às dos resultados obtidos com os métodos de análise constantes do anexo.

Em caso de litígio, os métodos constantes do anexo não podem ser substituídos pelos métodos automatizados.

2. O método automatizado para medição da densidade, baseado no princípio de um ressonador de flexão é considerado equivalente ao método constante no ponto 1 do anexo do presente regulamento.

Artigo 4.º

Quando for feita referência à água para soluções, diluições ou lavagens, trata-se de água destilada ou de água desmineralizada de pureza pelo menos equivalente. Todos os produtos químicos devem, salvo especificação em contrário, ser de qualidade analítica.

Artigo 5.º

Fica revogado o Regulamento (CEE) n.º 1108/82.

Todavia o n.º 4 do artigo 1.º do referido regulamento continua em vigor até 31 de Dezembro de 1990.

Artigo 6.º

O presente regulamento entra em vigor na data da sua publicação no *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*.

É aplicável a partir de 1 de Outubro de 1990.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e directamente aplicável em todos os Estados-membros.

Feito em Bruxelas, em 17 de Setembro de 1990.

Pela Comissão

Ray MAC SHARRY

Membro da Comissão

ANEXO

1. MASSA VOLÚMICA A 20 °C E DENSIDADE RELATIVA A 20 °C

1. DEFINIÇÕES

A massa volúmica é o quociente entre a massa de um determinado volume de vinho ou de mosto a 20 °C e esse volume. Exprime-se em gramas por mililitro e o seu símbolo é $\rho_{20\text{ °C}}$.

A densidade relativa a 20 °C ou densidade 20 °C/20 °C é a razão, expressa em número decimal, entre a massa dum certo volume de vinho ou de mosto a 20 °C e a massa do mesmo volume de água à mesma temperatura. O seu símbolo é

$$d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$$

2. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

A massa volúmica e a densidade relativa a 20 °C são determinadas na amostra por ensaio:

quer por picnometria: método de referência,

quer por areometria ou densimetria por balança hidrostática:

métodos usuais.

Nota:

Para determinações muito precisas, a massa volúmica deve ser corrigida da acção do dióxido de enxofre

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

$$\rho_{20\text{ °C}} = \text{massa volúmica corrigida,}$$

$$\rho'_{20\text{ °C}} = \text{massa volúmica observada,}$$

$$S = \text{dióxido de enxofre total g/l.}$$

3. TRATAMENTO PRÉVIO DA AMOSTRA

Se o vinho ou o mosto contêm quantidades notáveis de dióxido de carbono, expulsar a maior quantidade possível por agitação de 250 ml de vinho num frasco de 1 000 ml ou por filtração sob pressão reduzida sobre 2 g de algodão colocado numa alonga.

4. MÉTODO DE REFERÊNCIA

4.1. Aparelhagem

Material corrente de laboratório e, nomeadamente:

- 4.1.1. Picnómetro (1), em vidro *pyrex*, com uma capacidade de cerca de 100 ml, com um termómetro móvel com polidura de esmeril, graduado em décimos de grau de 10° a 30 °C. Este termómetro deve ser controlado (ver figura 1).

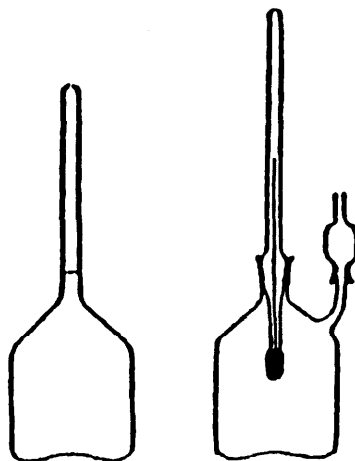


Figura 1

Picnómetro e seu frasco-tara

(1) Pode ser utilizado qualquer picnómetro de características equivalentes.

Este picnómetro dispõe de um tubo lateral de 25 mm de comprimento, com um diâmetro interno máximo de 1 mm, terminado por uma parte cónica esmerilada. Este tubo lateral pode ter uma «rolha receptora» constituída por um tubo cónico esmerilado terminado por uma parte afilada. Esta rolha serve de câmara de dilatação.

As duas esmerilagens do aparelho devem ser feitas com muito cuidado.

- 4.1.2. Frasco-tara com o mesmo volume externo (a menos de 1 ml aproximadamente) que o picnómetro e de massa igual à massa do picnómetro cheio com um líquido de densidade 1,01 (solução a 2 % (m/v) de cloreto de sódio).

Recipiente envolvente tornado calorífugo que se adapte exactamente ao corpo do picnómetro.

- 4.1.3. Balança de dois pratos com capacidade de pelo menos 300 g, sensível à décima de miligrama

ou

Balança de prato único com capacidade de pelo menos 200 g, sensível à décima de miligrama.

4.2. Calibração do picnómetro

A calibração do picnómetro inclui a determinação das seguintes características:

- tara quando vazio,
- volume a 20 °C,
- massa de água a 20 °C.

4.2.1. Utilização de uma balança de dois pratos

Depois de colocar o frasco-tara no prato esquerdo da balança e o picnómetro, limpo, seco e munido da respectiva «rolha receptora», no prato direito, obter o equilíbrio colocando ao lado do picnómetro massas marcadas: sendo p gramas.

Encher o picnómetro, cuidadosamente, com água destilada à temperatura ambiente e introduzir o termómetro; enxugar cuidadosamente o picnómetro e colocá-lo no recipiente calorífugo; agitar por viragem até que a temperatura lida no termómetro seja constante. Nivelar exactamente pelo bordo superior do tubo lateral. Enxugar este tubo lateral, colocar a rolha receptora; ler a temperatura t °C com cuidado e corrigi-la, eventualmente, da inexactidão da escala do termómetro. Pesar o picnómetro cheio de água, seja p' a massa em gramas que origina o equilíbrio.

Cálculos ⁽¹⁾

Tara do picnómetro vazio:

$$\text{Tara quando vazio} = p + m$$

m = massa de ar contido no picnómetro

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

Volume a 20 °C:

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

F_t = factor constante da tabela I para a temperatura t °C

$V_{20^\circ\text{C}}$ deve ser conhecido com uma aproximação de $\pm 0,001$ ml.

Massa de água a 20 °C:

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

0,998203 = massa volúmica a 20 °C.

(1) É dado um exemplo numérico no ponto 6 do presente capítulo.

4.2.2. *Utilização de uma balança de prato único*

Determinar:

- a massa do picnómetro limpo e seco: P,
- a massa do picnómetro cheio de água a t °C: P₁ seguindo as indicações descritas em 4.2.1.,
- a massa do frasco tara T₀.

Cálculos ⁽¹⁾

Tara do picnómetro vazio:

Tara quando vazio: P - m

m = massa de ar existente no picnómetro

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

Volume a 20 °C

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

F_t = factor constante da tabela I para a temperatura t °C.

O volume a 20 °C deve ser conhecido com uma aproximação de ± 0,001 ml.

Massa de água a 20 °C:

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

0,998203 = massa volúmica da água a 20 °C.

4.3. *Técnica de uma medição* ⁽¹⁾4.3.1. *Utilização de uma balança de dois pratos*

Pesar o picnómetro cheio com a amostra preparada para ensaios, (3) segundo as indicações descritas em 4.2.1., seja p'' a massa em gramas que origina o equilíbrio a t °C.

Massa do líquido contido no picnómetro = p + m - p''.

Massa volúmica aparente a t °C:

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

Calcular a massa volúmica a 20 °C por meio de uma das tabelas de correcção seguintes, consoante a natureza do líquido estudado: vinho seco (tabela II), mosto natural ou concentrado (tabela III), vinho doce (tabela IV).

Exprime-se a densidade 20 °C/20 °C do vinho dividindo a massa volúmica a 20 °C por 0,998203.

4.3.2. *Utilização de uma balança de prato único* ⁽¹⁾

Pesar o frasco-tara, sendo T₁ a sua massa

Calcular dT = T₁ - T₀

Massa do picnómetro vazio no momento da medição = P - m + dT.

Pesar o picnómetro cheio com a amostra preparada para ensaios (3) seguindo as indicações descritas em 4.2.1. ou seja P₂ a massa a t °C.

⁽¹⁾ É dado um exemplo numérico no ponto 6 do presente capítulo.

Massa do líquido contido no picnómetro a $t\text{ }^{\circ}\text{C} = P_2 - (P - m + dT)$.

Massa volúmica aparente a $t\text{ }^{\circ}\text{C}$:

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

Calcular a massa volúmica a 20°C do líquido estudado: vinho seco, mosto natural e concentrado, vinho doce, como é indicado em 4.3.1.

A densidade $20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$ é obtida dividindo a massa volúmica a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 0,998203.

Repetibilidade da massa volúmica:

para os vinhos secos e macios: $r = 0,00010$,

para os vinhos doces: $r = 0,00018$.

4.3.4. Reprodutibilidade da massa volúmica:

para os vinhos secos e adamados: $R = 0,00037$,

para os vinhos doces: $R = 0,00045$.

5. MÉTODOS USUAIS

5.1. Areometria

5.1.1. *Aparelhagem*

5.1.1.1. Areómetro

Os areómetros devem responder às prescrições da ISO no que diz respeito à suas dimensões e graduações.

Devem ter um carena cilíndrica, uma haste de secção circular de, pelo menos, 3 mm de diâmetro. Para os vinhos secos, devem ser graduados de 0,983 a 1,003 por milésimo e quinto de milésimo. Cada milésimo deve ser separado por, pelo menos, 5 mm do milésimo seguinte. Para a medição da densidade dos vinhos desalcoholizados, dos vinhos doces e dos mostos, utiliza-se um jogo de 5 aerómetros graduados de 1,000 — 1,030; — 1,030 — 1,060; 1,060 — 1,090; 1,090 — 1,120; 1,120 — 1,150. Estes aparelhos são graduados em massas volúmicas a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por milésimo e meio milésimo, pelo menos, sendo cada milésimo separado por, pelo menos, 3 mm do milésimo seguinte.

Estes areómetros devem ser graduados de modo a que a leitura seja feita pelo «cimo do menisco». A indicação da graduação em massa volúmica a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou em densidade relativa a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e da leitura ao nível do cimo do menisco é inscrita quer na escala graduada quer numa banda de papel existente dentro de carena.

Estes aparelhos devem ser controlados por um serviço oficial.

5.1.1.2. Termómetro controlado graduado em, pelo menos, meios graus Celsius.

5.1.1.3. Proveta cilíndrica de 36 mm de diâmetro interno e de 320 mm de altura, mantida verticalmente por meio de um suporte de roscas de nivelamento.

5.1.2. *Modo operativo*

Técnica de medição

Na proveta (5.1.1.3) colocar 250 ml da amostra preparada para ensaios (3) e introduzir o areómetro e o termómetro. Ler o termómetro um minuto depois de ter agitado para obter o equilíbrio de temperatura. Retirar o termómetro e ler a massa volúmica aparente a $t\text{ }^{\circ}\text{C}$ na escala do areómetro após um minuto de repouso.

Corrigir a massa volúmica aparente lida a $t^{\circ}\text{C}$ da acção da temperatura por meio de tabelas que se aplicam aos casos dos vinhos secos (tabela V), dos mostos (tabela VI) e dos vinhos que contêm açúcar (tabela VII).

A densidade $20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ é obtida dividindo a massa volúmica a 20°C por 0,998203.

5.2. Densimetria por balança hidrostática

5.2.1. *Aparelhagem*

Balança hidrostática

Balança hidrostática, cuja capacidade máxima seja, pelo menos, de 100 g, sensível a 1/10 de mg.

Em cada prato é fixado um flutuador em vidro *pyrex*, com um volume de, pelo menos, 20 ml. Estes dois flutuadores idênticos são suspensos por um fio de diâmetro inferior ou igual a 0,1 mm.

O flutuador suspenso no prato direito deve poder ser introduzido numa proveta cilíndrica com um indicador de nível. Esta proveta deve ter um diâmetro interno superior ao flutuador em, pelo menos, 6 mm. Este último deve caber inteiramente no volume da proveta situado abaixo do indicador, devendo a superfície do líquido a medir ser apenas atravessada pelo fio de suspensão. A temperatura do líquido contido na proveta é medida por um termómetro graduado em 1/5 de grau.

Pode também utilizar-se uma balança hidrostática de prato único.

5.2.2. *Modo operativo*

5.2.2.1. Calibração de uma balança hidrostática

Com os dois flutuadores no ar, estabelecer o equilíbrio colocando no prato direito massas marcadas p .

Encher a proveta de água pura até ao indicador, ler a temperatura $t^{\circ}\text{C}$ após agitação e repouso de 2 ou 3 min.

Restabelecer o equilíbrio por meio das massas marcadas colocadas no prato da direita, ou seja p' essas massas.

Volume do flutuador a 20°C :

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

F = factor dado pela tabela I para a temperatura $t^{\circ}\text{C}$.
 p e V_{20} são as características do flutuador.

5.2.2.2. Técnica de uma medição

O flutuador da direita é mergulhado na proveta cheia de vinho (ou de mosto) até ao indicador. Ler a temperatura $t^{\circ}\text{C}$ do vinho (ou mosto), sendo:

p'' as massas marcadas que restabelecem o equilíbrio $p^{\circ}\text{C}$, massa volúmica aparente:

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

Expressar esta massa volúmica a 20°C utilizando uma das tabelas II, III ou IV.

6. EXEMPLO DE CÁLCULO DA MASSA VOLÚMICA A 20 °C E DA DENSIDADE 20 °C/20 °C (MÉTODO DE REFERÊNCIA)

6.1. Picnometria em balança de dois pratos

6.1.1. Estabelecimento das constantes do picnómetro

1. Pesagem do picnómetro limpo e seco:

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

2. Pesagem do picnómetro cheio de água à temperatura t °C:

$$\begin{aligned} \text{Tara} &= \text{picnómetro} + \text{água} + p' \\ p' &= 1,2396 \text{ g para } t = 20,5 \text{ °C.} \end{aligned}$$

3. Cálculo da massa de ar existente no picnómetro:

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

4. Características a considerar:

Tara do picnómetro vazio, p + m:

$$\begin{aligned} p + m &= 104,9454 + 0,1244, \\ p + m &= 105,0698 \text{ g.} \end{aligned}$$

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

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

$$\text{Massa de água a } 20 \text{ °C} = V_{20 \text{ °C}} \cdot 0,998203$$

$$M_{20 \text{ °C}} = 103,8405 \text{ g.}$$

6.1.2. Determinação da massa volúmica a 20 °C e da densidade 20 °C/20 °C de um vinho seco:

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

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

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

A tabela II permite calcular $\rho_{20 \text{ °C}}$ a partir de $\rho_{t \text{ °C}}$ por meio da relação:

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

Para t : 17,80 °C e para um título alcoométrico de 11 % vol., encontra-se 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 em balança de prato único

6.2.1. Estabelecimento das constantes do picnómetro

1. Pesagem do picnómetro limpo e seco

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

2. Pesagem do picnómetro cheio de água à temperatura de t °C:

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

3. Cálculo da massa de ar contida no picnómetro:

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

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

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

4. Características a considerar:

Tara do picnómetro vazio, $P - m$:

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

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

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

$$F_{21,65 \text{ °C}} = 1,002140$$

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

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

$$\text{Massa de água a } 20 \text{ °C} = V_{20 \text{ °C}} \cdot 0,998203$$

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

Massa do frasco tara: T_0

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

6.2.2. *Determinação da massa volúmica a 20 °C e da densidade 20 °C/20 °C de um vinho seco:*

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

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

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

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

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

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

A tabela II permite calcular $\rho_{20 \text{ °C}}$ a partir de $\rho_{18 \text{ °C}}$ por meio da relação:

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_{18 \text{ °C}} \pm \frac{c}{1000}$$

Para $t = 18 \text{ °C}$ e um título alcoométrico de 11 % vol., obtém-se $c = 0,49$

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

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

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

TABELA I

Tabela de factores F

pelos quais é necessário multiplicar a massa de água contida no picnómetro em vidro pyrex a t° , para calcular o volume do picnómetro 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		

TABELA II
Correcções c de temperatura sobre a massa volúmica de vinhos secos e de vinhos secos desalcoholizados
medida num picnómetro em vidro pyrex a t°, para a referir a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ se } t^\circ \text{ é inferior a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ é superior a } 20^\circ \text{ C} \end{array}$$

		Titulos alcoométricos																										
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27			
Temperaturas em °C	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: Pode utilizar-se esta tabela para transformar a densidade d_{20}^t em densidade d_{20}^{20} .

TABELA III
Correcções c da temperatura a introduzir na massa volúmica de mostos naturais e dos mostos concentrados
medida a t° por meio de um picnómetro em vidro pyrex para referir o resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ se } t^\circ \text{ é inferior a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ é superior a } 20^\circ \text{ C} \end{array}$$

		Massas volúmicas																					
		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
Temperaturas em °C	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: Pode utilizar-se esta tabela para transformar a densidade d_{20}^t em densidade d_{20}^{20} .

TABELA IV

Correcções c da temperatura sobre a massa volúmica de vinhos de 13 % vol. e mais, contendo açúcar, medida por meio de um picnómetro em vidro pyrex a t°, para a referir a 20 °C

$$Q_{20} = Q_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ se } t^\circ \text{ é inferior a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ é superior a } 20^\circ \text{ C} \end{array}$$

Temperaturas em °C	Vinhos de 13 % vol.							Vinhos de 15 % vol.							Vinhos de 17 % vol.						
	Massas volúmicas							Massas volúmicas							Massas volúmicas						
	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

Temperaturas em °C	Vinhos de 19 % vol.							Vinhos de 21 % vol.						
	Massas volúmicas							Massas volúmicas						
	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

TABELA V

Correcções c de temperatura a introduzir na massa volúmica de vinhos secos e de vinhos secos desalcooolizados
 medida por meio de um picnómetro ou de um areómetro em vidro vulgar a t°, para a referir a 20 °C.

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ se } t^\circ \text{ é inferior a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ é superior a } 20^\circ \text{ C} \end{array}$$

		Titulos alcoométricos																										
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27			
Temperaturas em °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: Pode-se utilizar esta tabela para transformar a densidade d₂₀ em densidade d₂₀²⁰.

TABELA VI

Correcções c da temperatura a introduzir na massa volúmica de mostos naturais e de mostos concentrados
 medida a t° por meio de um picnómetro ou de um areómetro em vidro vulgar para a referir a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ se } t^\circ \text{ é inferior a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ é superior a } 20^\circ \text{ C} \end{array}$$

		Massas volúmicas																						
		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	
Temperaturas em °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	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: Pode-se utilizar esta tabela para transformar a densidade d₂₀ em densidade d₂₀²⁰.

TABELA VII

Correcções c de temperatura sobre a massa volúmica de vinhos de 13 % vol. e mais,

contendo açúcar residual, medida por meio de um areómetro ou de um picnómetro em vidro vulgar a t ° para referir a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ se } t^\circ \text{ é inferior a } 20^\circ \text{ C} \\ + \text{ se } t^\circ \text{ é superior a } 20^\circ \text{ C} \end{array}$$

Temperaturas em °C	Vinhos de 13 % volume							Vinhos de 15 % volume							Vinhos de 17 % volume						
	Massas volúmicas							Massas volúmicas							Massas volúmicas						
	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°	2,24	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

Temperaturas em °C	Vinhos de 19 % volume							Vinhos de 21 % volume						
	Massas volúmicas							Massas volúmicas						
	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°	3,14	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. AVALIAÇÃO DO TEOR DE AÇÚCARES DOS MOSTOS, MOSTOS CONCENTRADOS E MOSTOS CONCENTRADOS RECTIFICADOS POR REFRACTOMETRIA

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teor de açúcares em gramas por litro e em gramas por quilograma de mostos, mostos concentrados e mostos concentrados rectificados é obtido a partir do índice de refração a 20 °C, expresso em índice absoluto ou em percentagem em massa de sacarose, utilizando a tabela correspondente.

2. APARELHAGEM

2.1. Refractómetro do tipo Abbé

O refractómetro utilizado deve dispor de uma escala que indique:

- quer as percentagens em massa de sacarose a 0,1 %,
- quer os índices de refração com 4 decimais.

O refractómetro deve dispor de um termómetro cuja escala se estenda, pelo menos, de +15 °C a +25 °C, e de um dispositivo de circulação de água que permita fazer medições a uma temperatura de 20 °C ± 5 °C.

As instruções operatórias deste instrumento devem ser estritamente respeitadas, nomeadamente no que respeita à calibração e à fonte luminosa.

3. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

3.1. Mostos e mostos concentrados

Passar, eventualmente, os mostos através de uma gaze seca dobrada em quatro e, depois de eliminadas as primeiras gotas de filtrado, fazer a determinação no produto filtrado.

3.2. Mostos concentrados rectificados

Utilizar, consoante a sua concentração, quer o mosto concentrado rectificado quer a solução obtida levando 200 g de mosto concentrado rectificado, pesados exactamente, a 500 g, com água.

4. MODO OPERATÓRIO

Levar a amostra a uma temperatura próxima de 20 °C. Colocar uma pequena quantidade de toma de ensaio no prisma inferior do refractómetro tendo o cuidado de que, quando os prismas estiverem pressionados um contra o outro, a toma de ensaio cubra uniformemente a superfície do vidro; efectuar a medição em conformidade com as instruções operatórias do aparelho utilizado.

Ler a percentagem em massa de sacarose com uma aproximação de 0,1 % ou anotar o índice de refração com 4 decimais.

Efectuar pelo menos duas determinações em cada amostra preparada.

Anotar a temperatura t °C.

5. CÁLCULOS

5.1. Correção de temperatura

5.1.1. Aparelhos graduados em % em massa de sacarose: utilizar a tabela I para a correção de temperatura.

- 5.1.2. **Aparelhos graduados em índices de refração:** a partir do índice medido a $t^{\circ}\text{C}$ utilizar a tabela I, a fim de obter (coluna 1) o valor correspondente da percentagem em massa de sacarose a $t^{\circ}\text{C}$. Este valor é corrigido no que respeita à temperatura e expresso a 20°C , por meio da tabela I.
- 5.2. **Teor de açúcares de mostos e de mostos concentrados**
A partir da percentagem em massa de sacarose a 20°C utilizar a tabela II, a fim de obter o teor de açúcares em gramas por litro e em gramas por quilograma. O teor de açúcares é expresso em açúcar invertido com um decimal.
- 5.3. **Teor de açúcares de mosto concentrado rectificado**
A partir da percentagem em massa de sacarose a 20°C utilizar a tabela III, a fim de obter o teor de açúcares em gramas por litro e em gramas por quilograma. O teor de açúcares é expresso em açúcar invertido com um decimal.
Se a medição tiver sido efectuada com mosto concentrado rectificado diluído, multiplicar o resultado pelo factor de diluição.
- 5.4. **Índice de refração de mostos, mostos concentrados e mostos concentrados rectificados**
A partir da percentagem em massa de sacarose a 20°C utilizar a tabela II, a fim de obter o índice de refração a 20°C . Este índice é expresso com 4 decimais.

TABELA I

Correcção a introduzir no caso de a percentagem em massa de sacarose ter sido determinada a uma temperatura diferente de 20°C

Temperatura em $^{\circ}\text{C}$	Sacarose em gramas por 100 g de produto									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Subtrair									
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
	Adicionar									
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

As variações da temperatura em relação a 20°C não devem exceder $\pm 5^{\circ}\text{C}$.

TABELA II

Tabela que indica o teor de açúcares ⁽¹⁾ de mostos e mostos concentrados em gramas por litro e em gramas por quilograma, determinado por meio de um refractómetro graduado quer em percentagem em massa de sacarose a 20 °C quer em índice de refração a 20 °C. É igualmente indicada a massa volúmica a 20 °C

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Titulo alcoométrico % vol. 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) O teor de açúcares é expresso em açúcar invertido.

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Titulo alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

TABELA III

Tabela que indica o teor de açúcares ⁽¹⁾ de mostos concentrados rectificandos em grammas por litro e em grammas por quilograma, determinado por meio de um refractómetro graduado quer em percentagem em massa de sacarose a 20 °C quer em índice de refração a 20 °C. É igualmente indicada a massa volúmica a 20 °C.

Sacarose % (m/m)	Índice de refração a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Titulo alcoométrico % vol. 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) O teor de açúcares é expresso em açúcar invertido.

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volúmica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Título alcoométrico % vol. 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

Sacarose % (m/m)	Índice de refracção a 20 °C	Massa volumica a 20 °C	Açúcares em g/l	Açúcares em g/kg	Titulo alcoométrico % vol. 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. TÍTULO ALCOOMÉTRICO VOLÚMICO

1. DEFINIÇÃO

O título alcoométrico volúmico é igual ao número de litros de etanol contidos em 100 litros de vinho, sendo ambos os volumes medidos à temperatura de 20 °C. O seu símbolo é «% vol.».

Nota:

Os homólogos do etanol, bem como etanol e os homólogos do etanol, compreendidos nos ésteres etílicos, estão incluídos no título alcoométrico, dado que se encontram no destilado.

2. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

2.1. Destilação do vinho alcalinizado por uma suspensão de hidróxido de cálcio. Determinação do título alcoométrico do destilado.

2.2. Método de referência: determinação da massa volúmica do destilado por picnometria.

2.3. Métodos usuais

2.3.1. *Determinação do título alcoométrico do destilado por areometria*

2.3.2. *Determinação do título alcoométrico do destilado por densometria por balança hidrostática.*

2.3.3. *Determinação do título alcoométrico do destilado por refractometria.*

Nota:

Para exprimir o título alcoométrico a partir da massa volúmica do destilado, utilizar as tabelas práticas I, II, II, dadas no anexo II do presente capítulo. Estas foram calculadas a partir da tabela alcoométrica internacional publicada em 1972 pela organização internacional de metrologia legal na sua recomendação nº 22 e adoptada pela OIV (Assembleia geral de 1974).

Na tabela I é dada a equação geral que relaciona o título alcoométrico volumétrico e a massa volúmica das misturas hidroalcoólicas em função da temperatura.

3. OBTENÇÃO DO DESTILADO

3.1. Aparelhagem

3.1.1. Aparelho de destilação que inclui:

- um balão de um litro de capacidade, de esmerilagem normalizada,
- uma coluna rectificadora de, aproximadamente, 20 cm de altura ou qualquer dispositivo destinado a evitar o arrastamento,
- uma fonte de calor: qualquer pirogenização das matérias extractivas deve ser evitada com dispositivo apropriado,
- um refrigerante terminado por um tubo delgado que conduza o destilado ao fundo do balão graduado receptor, contendo alguns mililitros de água.

3.1.2. Aparelho de arrastamento pelo vapor de água, que inclui:

1. Um gerador de vapor de água.
2. Um borbulhador,
3. Uma coluna rectificadora.
4. Um refrigerante.

Pode ser utilizado qualquer modelo de aparelho de destilação ou qualquer aparelho de arrastamento pelo vapor de água, desde que satisfaça o seguinte ensaio:

Destilar cinco vezes sucessivas uma mistura hidroalcoólica com um título alcoométrico de 10 % vol. O destilado deve apresentar um título alcoométrico de, pelo menos, 9,9 vol. depois da quinta destilação, ou seja, não deve ocorrer uma perda de álcool superior a 0,02 vol. no decurso de uma destilação.

3.2. Reagentes

3.2.1. Suspensão de hidróxido de cálcio 2 M

Obtida deitando, com cuidado, 1 litro de água quente (60–70 °C) sobre 120 g de cal viva CaO.

3.3. Preparação da amostra

Aos vinhos novos e espumantes é previamente retirada a maior quantidade possível do seu dióxido de carbono, através de agitação de 250–300 ml de vinho num frasco de 500 ml.

3.4. Modo operativo

Tomar, por meio de balão graduado, um volume de 200 ml de vinho. Anotar a temperatura do vinho.

Deitá-lo no balão do aparelho de destilação ou no borbulhador do aparelho de arrastamento por vapor de água. Lavar quatro vezes o balão graduado com 5 ml de água que se adiciona ao balão ou ao borbulhador. Juntar 10 ml de hidróxido de cálcio 2 M e alguns fragmentos de uma matéria porosa inerte (pedra-pomes) no caso da destilação.

Recolher o destilado no balão graduado de 200 ml utilizado na medição do vinho.

Recolher um volume igual a, aproximadamente, três quartos de volume inicial no caso de destilação e recolher 198–199 ml de destilado no caso do arrastamento por vapor de água. Completar até 200 ml com água destilada, após o destilado estar a uma temperatura idêntica à inicial, com uma aproximação de ± 2 °C.

Homogeneizar com cuidado, por meio de um movimento circular.

Nota:

No caso de vinhos especialmente ricos em iões amoniacais, redestilar, eventualmente, o destilado nas condições acima descritas, substituindo a suspensão de hidróxido de cálcio por 1 ml de ácido sulfúrico a 10% (v/v).

4. MÉTODOS DE REFERÊNCIA

Determinação do título alcoométrico do destilado por picnometria.

4.1. Aparelhagem

4.1.1. Utilizar o picnómetro calibrado como indicado no capítulo «Massa volúmica».

4.2. Modo operativo

Proceder à determinação da massa volúmica aparente do destilado a t °C, (3.4.) como indicado no capítulo I «Massa volúmica» em 4.3.1 e 4.3.2, ou seja ρ_t esta massa volúmica.

4.3. Expressão dos resultados

4.3.1. Modo de cálculo

Exprimir o título alcoométrico a 20 °C por meio da tabela I. Na tabela, procurar na linha horizontal correspondente à temperatura T (expresso em número inteiro), imediatamente

inferior a t °C, a menor massa volúmica superior a ρ . Utilizar a diferença tabular lida por baixo desta massa volúmica para calcular a massa volúmica ρ , a esta temperatura T.

Na linha desta temperatura T procurar a massa volúmica ρ' imediatamente superior a ρ e calcular a diferença entre estas duas massas volúmicas ρ e ρ' . Esta diferença é dividida pela diferença tabular lida à direita da massa volúmica ρ' . O quociente dá a parte decimal do título alcoométrico, enquanto a parte inteira deste título é indicada no cimo da coluna em que se encontra a massa volúmica ρ' .

É dado um exemplo de cálculo do título alcoométrico no anexo I do presente capítulo.

Nota:

Esta correcção da temperatura foi introduzida num programa e pode, eventualmente, ser efectuada automaticamente.

4.3.2. *Repetibilidade (r):*

$r = 0,10$ % vol.

4.3.3. *Reprodutibilidade (R):*

$R = 0,19$ % vol.

5. MÉTODOS USUAIS

5.1. **Areometria**

5.1.1. *Aparelhagem*

5.1.1.1. Alcoómetro

O alcoómetro deve responder às especificações para aparelhos da classe I ou da classe II definidas na recomendação internacional n.º 44 «Alcoómetros e areómetros para álcool» da OIML (Organização Internacional de Metrologia Legal).

5.1.1.2. Termómetro graduado em graus e $1/10$ de grau de 0 °C a 40 °C, verificado com uma aproximação de $1/20$.

5.1.1.3. Proveta cilíndrica de 36 m de diâmetro e 320 mm de altura, mantida na vertical por meio de um suporte de parafusos niveladores.

5.1.2. *Modo operativo*

Deitar o destilado (3.4.) na proveta cilíndrica. Mantê-la bem vertical. Introduzir o termómetro e o alcoómetro. A leitura do termómetro é feita um minuto depois de se ter agitado para obter a estabilização e homogeneidade de temperatura da proveta, do termómetro, do alcoómetro e do destilado. Retirar o termómetro e ler o título alcoométrico aparente depois de um minuto de repouso. Fazer pelo menos três leituras por meio de uma lupa. O título aparente medido a t °C será corrigido na acção da temperatura por meio da tabela II.

É necessário que a temperatura do líquido seja pouco diferente da temperatura ambiente (5 °C de diferença no máximo).

5.2. **Densimetria por balança hidrostática**

5.2.1. *Aparelhagem*

5.2.1.1. Utilizar a balança hidrostática como é indicado no capítulo «Massa volúmica».

5.2.2. *Modo operatório*

Proceder à determinação da massa volúmica aparente a t °C do destilado como é indicado no capítulo «Massa volúmica» em 5.2.2.

5.2.3. *Expressão dos resultados*

Exprimir o título alcoométrico a 20 °C, segundo as indicações de 4.3.1. por meio da tabela I, caso o flutuador seja de vidro *pyrex* ou da tabela III, caso o flutuador seja de vidro vulgar.

5.3. Refractometria

5.3.1. *Aparelhagem*

5.3.1.1. Refractómetro que permita a medição dos índices de refacção compreendidos entre 1,330 e 1,346.

Consoante o tipo de aparelho, as medições são feitas:

- quer a 20 °C, por meio de um dispositivo adequado,
- quer à temperatura ambiente t °C, medida por meio de um termómetro que a permita determinar com uma aproximação de, pelo menos, 0,05 °C. É fornecida com o aparelho uma tabela de correcção da temperatura.

5.3.2. *Modo operatório*

A medição do índice de refacção é efectuada no destilado de vinho (3.4.), segundo o modo operatório prescrito para o tipo de aparelho utilizado.

5.3.3. *Expressão dos resultados*

O índice de refacção a 20 °C é introduzido na tabela IV de modo a obter o título alcoométrico.

Nota:

A tabela IV dá a correspondência entre os índices de refacção das misturas hidroalcoólicas puras e dos destilados de vinho. No caso dos destilados de vinho, tem em conta as impurezas do destilado (alcoóis superiores principalmente). A presença de metanol é traduzida por uma diminuição do índice de refacção e, por conseguinte, do título alcoométrico.

6. EXEMPLO DE CÁLCULO DO TÍTULO ALCOOMÉTRICO DE UM VINHO

6.1. *Picnometria em balança de dois pratos*

6.1.1. As constantes do picnómetro foram determinadas e calculadas de acordo com o indicado no capítulo I «Massa volúmica e densidade relativa» no ponto 6.1.1.

6.1.2. *Pesagem do picnómetro cheio de destilado*

Exemplo numérico

$$\text{Tara} = \text{picnómetro} + \text{destilado a } t^{\circ}\text{C} + p'' \left\{ \begin{array}{l} t^{\circ}\text{C} = 18,90^{\circ}\text{C} \\ t^{\circ}\text{C corrigida} = 18,70^{\circ}\text{C} \\ p'' = 2,8074\text{ g} \end{array} \right.$$

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

Massa volúmica aparente a t °C

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

6.1.3. *Cálculo do título alcoométrico*

Consulte-se a tabela de massas volúmicas aparentes de misturas hidroalcoólicas a diferentes temperaturas, como indicado anteriormente.

Na linha 18° da tabela de massas volúmicas aparentes, a mais pequena massa superior à massa observada 0,983076 é 0,98398, na coluna 11 %

A massa volúmica a 18° é:
 $(98307,6 + 0,7 \times 22) 10^{-5} = 0,98323$
 $0,98398 - 0,98323 = 0,00075$

A parte decimal do título alcoométrico é
 $75/114 = 0,65$

O título alcoométrico é:
 11,65 % vol.

6.2. **Picnometria em balança de prato único**

6.2.1. As constantes do picnómetro foram determinadas e calculadas no capítulo I «Massa volúmica e densidade relativa» em 6.2.1.

6.2.2. *Pesagem do picnómetro cheio de destilado*

Peso do frasco-tara no momento da determinação (em gramas):

$$T_1 = 171,9178$$

Picnómetro cheio de destilado a 20,50° C (em gramas):

$$P_2 = 167,8438$$

Varição da pressão do ar:

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

Massa do destilado a 20,50° C:

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

Massa volúmica aparente do destilado:

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

6.2.3. *Cálculo do título alcoométrico*

Consulte-se a tabela de massas volúmicas aparentes de misturas hidroalcoólicas a diferentes temperaturas, como indicado anteriormente.

Na linha 20° da tabela de massas volúmicas aparentes, a mais pequena massa superior à massa observada 0,983825 é 0,98471, na coluna 10 %

A massa volúmica a 20° é:
 $(98382,5 + 0,50 \times 24) 10^{-5} = 0,983945$
 $0,98471 - 0,983945 = 0,000765$

A parte decimal do título alcoométrico é
 $76,5/119 = 0,64$

O título alcoométrico é:
 10,64 % vol.

FÓRMULA QUE PERMITE CALCULAR AS TABELAS ALCOOMÉTRICAS DAS MISTURAS DE ÁLCOOL ETÍLICO E DE ÁGUA

A massa volúmica « ρ », expressa em quilogramas por metro cúbico (kg/m^3), de uma mistura de álcool etílico e de água à temperatura t , expressa em graus Celsius, é dada pela fórmula seguinte em função:

- do título mássico p expresso por um número decimal ⁽¹⁾,
- da temperatura t expressa em graus Celsius (EIPT 68),
- dos coeficientes numéricos seguintes.

A fórmula é válida para as temperaturas compreendidas entre -20 °C e $+40\text{ °C}$.

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

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

Coeficientes numéricos da fórmula

k	A_k kg/m^3	B_k
1	$9,982\,012\,300 \cdot 10^2$	$-2,061\,851\,3 \cdot 10^{-1} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C})$
2	$-1,929\,769\,495 \cdot 10^2$	$-5,268\,254\,2 \cdot 10^{-3} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^2)$
3	$3,891\,238\,958 \cdot 10^2$	$3,613\,001\,3 \cdot 10^{-5} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^3)$
4	$-1,668\,103\,923 \cdot 10^3$	$-3,895\,770\,2 \cdot 10^{-7} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^4)$
5	$1,352\,215\,441 \cdot 10^4$	$7,169\,354\,0 \cdot 10^{-9} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^5)$
6	$-8,829\,278\,388 \cdot 10^4$	$-9,973\,923\,1 \cdot 10^{-11} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^6)$
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	$C_{1,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C})$	$C_{2,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^2)$
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	$C_{3,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^3)$	$C_{4,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^4)$	$C_{5,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^5)$
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) Exemplo: para um título mássico de 12% : $p = 0,12$.

TABELA I
TÍTULO ALCOOMÉTRICO INTERNACIONAL A 20° C
Tabela das massas volúmicas aparentes das misturas hidroalcoólicas — picnómetro em pyrex
Massas volúmicas a t°, corrigidas da pressão do ar

t°	Título alcoométrico volúmico em %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11												
0°	999,64	1,50	998,14	1,44	996,70	1,40	995,30	1,35	993,95	1,30	992,65	1,24	991,41	1,19	990,22	1,14	989,08	1,10	987,98	1,05	986,93	1,00	985,93	0,95
1°	-0,07		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,05		-0,04		-0,03		-0,02		-0,01	
2°	999,76	1,51	998,25	1,45	996,80	1,40	995,40	1,35	994,05	1,30	992,75	1,25	991,50	1,20	990,30	1,16	989,14	1,11	988,03	1,07	986,96	1,02	985,94	0,98
3°	999,79	1,51	998,28	1,45	996,83	1,41	995,42	1,35	994,07	1,30	992,77	1,25	991,52	1,21	990,31	1,16	989,15	1,12	988,03	1,08	986,95	1,03	985,92	1,00
4°	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,36	994,08	1,30	992,78	1,26	991,52	1,21	990,31	1,17	989,14	1,13	988,01	1,09	986,92	1,04	985,88	1,00
5°	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,37	994,07	1,31	992,76	1,26	991,50	1,21	990,29	1,17	989,12	1,14	987,98	1,10	986,88	1,05	985,83	1,01
6°	0,01		0,01		0,01		0,02		0,01		0,02		0,03		0,04		0,05		0,05		0,05		0,06	
7°	999,80	1,51	998,29	1,46	996,83	1,41	995,42	1,36	994,06	1,32	992,74	1,27	991,47	1,22	990,25	1,18	989,07	1,14	987,93	1,10	986,83	1,06	985,77	1,03
8°	999,72	1,50	998,22	1,46	996,76	1,42	995,34	1,37	993,97	1,32	992,65	1,27	991,38	1,24	990,14	1,19	988,95	1,16	987,79	1,12	986,67	1,08	985,59	1,05
9°	999,67	1,51	998,16	1,46	996,70	1,42	995,28	1,37	993,91	1,32	992,59	1,28	991,31	1,24	990,07	1,20	988,87	1,17	987,70	1,13	986,57	1,09	985,48	1,06
10°	999,60	1,51	998,09	1,46	996,63	1,42	995,21	1,37	993,84	1,33	992,51	1,28	991,23	1,25	989,98	1,20	988,78	1,17	987,60	1,14	986,46	1,10	985,36	1,06
11°	0,09		0,09		0,09		0,08		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,12		0,13	
12°	999,51	1,51	998,00	1,46	996,54	1,41	995,13	1,38	993,75	1,33	992,42	1,29	991,13	1,25	989,88	1,21	988,67	1,18	987,49	1,15	986,34	1,11	985,23	1,07
13°	999,41	1,50	997,91	1,46	996,45	1,42	995,03	1,38	993,65	1,34	992,31	1,29	991,02	1,25	989,77	1,22	988,55	1,19	987,36	1,15	986,21	1,12	985,09	1,09
14°	999,18	1,50	997,68	1,46	996,22	1,43	994,79	1,38	993,41	1,34	992,07	1,30	990,77	1,26	989,51	1,23	988,28	1,21	987,07	1,17	985,90	1,13	984,77	1,11
15°	999,05	1,51	997,54	1,46	996,08	1,42	994,66	1,38	993,28	1,35	991,93	1,30	990,63	1,27	989,36	1,24	988,12	1,21	986,91	1,18	985,73	1,14	984,59	1,12
16°	0,15		0,14		0,14		0,15		0,15		0,15		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,19	
17°	998,90	1,50	997,40	1,46	995,94	1,43	994,51	1,38	993,13	1,35	991,78	1,31	990,47	1,27	989,20	1,25	987,95	1,21	986,74	1,19	985,55	1,15	984,40	1,13
18°	998,74	1,50	997,24	1,46	995,78	1,43	994,35	1,38	992,97	1,36	991,61	1,31	990,30	1,28	989,02	1,25	987,77	1,22	986,55	1,19	985,36	1,16	984,20	1,14
19°	998,57	1,50	997,07	1,46	995,61	1,42	994,19	1,39	992,80	1,36	991,44	1,32	990,12	1,28	988,84	1,26	987,58	1,23	986,35	1,20	985,15	1,17	983,98	1,14
20°	998,39	1,50	996,89	1,46	995,43	1,43	994,00	1,39	992,61	1,36	991,25	1,32	989,93	1,29	988,64	1,26	987,38	1,23	986,15	1,21	984,94	1,18	983,76	1,16
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16

t°	Título alcoométrico volúmico em %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11												
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16
21°	0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24	
22°	997,79	1,50	996,29	1,46	994,83	1,43	993,40	1,40	992,00	1,37	990,63	1,33	989,30	1,31	987,99	1,28	986,71	1,25	985,46	1,23	984,23	1,21	983,02	1,18
23°	997,57	1,50	996,07	1,47	994,60	1,43	993,17	1,40	991,77	1,37	990,40	1,34	989,06	1,31	987,75	1,28	986,47	1,26	985,21	1,24	983,97	1,20	982,77	1,20
24°	997,33	1,49	995,84	1,47	994,37	1,43	992,94	1,41	991,53	1,37	990,16	1,34	988,82	1,32	987,50	1,29	986,21	1,26	984,95	1,25	983,70	1,22	982,48	1,20
25°	997,09	1,50	995,59	1,46	994,13	1,44	992,69	1,40	991,29	1,38	989,91	1,35	988,56	1,32	987,24	1,29	985,95	1,27	984,68	1,26	983,42	1,22	982,20	1,21
26°	0,25		0,25		0,26		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,28		0,28		0,28		0,30	
27°	996,84	1,50	995,34	1,47	993,87	1,43	992,44	1,41	991,03	1,38	989,65	1,35	988,30	1,32	986,98	1,31	985,67	1,27	984,40	1,26	983,14	1,24	981,90	1,22
28°	996,58	1,50	995,08	1,47	993,61	1,44	992,17	1,41	990,76	1,38	989,38	1,35	988,03	1,33	986,70	1,31	985,39	1,28	984,11	1,27	982,84	1,24	981,60	1,23
29°	996,31	1,50	994,81	1,47	993,34	1,44	991,90	1,42	990,48	1,38	989,10	1,36	987,74	1,33	986,41	1,31	985,10	1,29	983,81	1,28	982,53	1,25	981,28	1,23
30°	996,03	1,50	994,53	1,47	993,06	1,45	991,61	1,41	990,20	1,39	988,81	1,36	987,45	1,34	986,11	1,32	984,79	1,29	983,50	1,28	982,22	1,26	980,96	1,24
31°	995,75	1,51	994,24	1,47	992,77	1,45	991,32	1,42	989,90	1,39	988,51	1,37	987,14	1,34	985,80	1,32	984,48	1,30	983,18	1,28	981,90	1,27	980,63	1,25
32°	0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,34		0,34	
33°	995,45	1,51	993,94	1,47	992,47	1,45	991,02	1,43	989,59	1,39	988,20	1,37	986,83	1,34	985,49	1,33	984,16	1,31	982,85	1,29	981,56	1,27	980,29	1,26
34°	995,18	1,51	993,63	1,47	992,16	1,46	990,70	1,42	989,28	1,40	987,88	1,37	986,51	1,35	985,16	1,33	983,83	1,32	982,51	1,30	981,21	1,28	979,93	1,26
35°	994,92	1,51	993,37	1,48	991,89	1,46	990,43	1,42	988,96	1,41	987,55	1,37	986,18	1,36	984,82	1,34	983,48	1,32	982,16	1,30	980,86	1,28	979,58	1,28
36°	0,33		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37	
37°	994,51	1,52	992,99	1,48	991,51	1,46	990,05	1,44	988,61	1,40	987,21	1,38	985,83	1,36	984,47	1,33	983,14	1,33	981,81	1,31	980,50	1,29	979,21	1,28
38°	994,24	1,52	992,66	1,49	991,17	1,47	989,70	1,43	988,27	1,41	986,86	1,38	985,48	1,36	984,12	1,34	982,78	1,33	981,45	1,31	980,14	1,30	978,84	1,29
39°	0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38	
40°	993,84	1,53	992,31	1,49	990,82	1,47	989,35	1,43	987,92	1,41	986,51	1,38	985,13	1,37	983,76	1,34	982,42	1,34	981,08	1,31	979,77	1,31	978,46	1,29
41°	993,57	1,53	992,04	1,50	990,56	1,46	989,09	1,44	987,66	1,41	986,25	1,39	984,84	1,37	983,43	1,35	982,04	1,33	980,71	1,33	979,38	1,31	978,07	1,30
42°	0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,39		0,39	
43°	993,13	1,53	991,60	1,50	990,10	1,47	988,63	1,44	987,19	1,41	985,78	1,39	984,39	1,37	983,02	1,36	981,66	1,34	980,32	1,32	979,00	1,32	977,68	1,31
44°	992,77	1,54	991,23	1,50	989,73	1,47	988,26	1,45	986,81	1,41	985,40	1,39	984,01	1,38	982,63	1,35	981,28	1,35	979,93	1,33	978,60	1,32	977,28	1,32
45°	0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39		0,39		0,39		0,40		0,40		0,40		0,41	
46°	992,40	1,54	990,86	1,51	989,35	1,48	987,87	1,44	986,43	1,42	985,01	1,39	983,62	1,38	982,24	1,36	980,88	1,34	979,54	1,34	978,20	1,33	976,87	1,32

f	Título alcoométrico volúmico em %																							
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21												
0	986,93	1,00	985,93	0,95	984,98	0,92	984,06	0,88	983,18	0,84	982,34	0,80	981,54	0,78	980,76	0,75	980,01	0,73	979,28	0,72	978,56	0,70	977,86	0,70
1	-0,02		-0,01		0,01		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,17	
1	986,95	1,01	985,94	0,97	984,97	0,92	984,05	0,90	983,15	0,85	982,30	0,83	981,47	0,79	980,68	0,77	979,91	0,75	979,16	0,74	978,42	0,73	977,69	0,72
2	-0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
2	986,96	1,02	985,94	0,98	984,96	0,94	984,02	0,91	983,11	0,88	982,23	0,84	981,39	0,81	980,58	0,79	979,79	0,77	979,02	0,76	978,26	0,75	977,51	0,74
3	0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19	
3	986,95	1,03	985,92	1,00	984,92	0,95	983,97	0,92	983,05	0,89	982,16	0,86	981,30	0,83	980,47	0,81	979,66	0,79	978,87	0,78	978,09	0,77	977,32	0,77
4	0,03		0,04		0,04		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18		0,20	
4	986,92	1,04	985,88	1,00	984,88	0,97	983,91	0,93	982,98	0,91	982,07	0,87	981,20	0,85	980,35	0,83	979,52	0,81	978,71	0,80	977,91	0,79	977,12	0,79
5	0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,22	
5	986,88	1,05	985,83	1,01	984,82	0,98	983,84	0,95	982,89	0,92	981,97	0,89	981,08	0,87	980,21	0,84	979,37	0,83	978,54	0,82	977,72	0,82	976,90	0,80
6	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,13		0,14		0,17		0,19		0,21		0,22	
6	986,83	1,06	985,77	1,03	984,74	0,99	983,75	0,96	982,79	0,94	981,85	0,90	980,95	0,88	980,07	0,87	979,20	0,85	978,35	0,84	977,51	0,83	976,68	0,83
7	0,08		0,09		0,09		0,10		0,12		0,13		0,15		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23	
7	986,75	1,07	985,68	1,03	984,65	1,00	983,65	0,98	982,67	0,95	981,72	0,92	980,80	0,89	979,91	0,89	979,02	0,86	978,16	0,86	977,30	0,85	976,45	0,85
8	0,08		0,09		0,11		0,13		0,13		0,14		0,15		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25	
8	986,67	1,08	985,59	1,05	984,54	1,02	983,52	0,98	982,54	0,96	981,58	0,93	980,65	0,92	979,73	0,90	978,83	0,88	977,95	0,88	977,07	0,87	976,20	0,87
9	0,10		0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,26	
9	986,57	1,09	985,48	1,06	984,42	1,02	983,40	1,00	982,40	0,98	981,42	0,95	980,47	0,93	979,54	0,92	978,62	0,89	977,73	0,90	976,83	0,89	975,94	0,89
10	0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,17		0,18		0,20		0,20		0,23		0,24		0,26	
10	986,46	1,10	985,36	1,06	984,30	1,04	983,26	1,02	982,24	0,99	981,25	0,96	980,29	0,95	979,34	0,92	978,42	0,92	977,50	0,91	976,59	0,91	975,68	0,91
11	0,12		0,13		0,14		0,16		0,16		0,17		0,19		0,20		0,23		0,25		0,27		0,29	
11	986,34	1,11	985,23	1,07	984,16	1,06	983,10	1,02	982,08	1,00	981,08	0,98	980,10	0,96	979,14	0,95	978,19	0,94	977,25	0,93	976,32	0,93	975,39	0,92
12	0,13		0,14		0,16		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,25		0,27		0,28	
12	986,21	1,12	985,09	1,09	984,00	1,06	982,94	1,04	981,90	1,01	980,89	1,00	979,89	0,97	978,92	0,97	977,95	0,95	977,00	0,95	976,05	0,94	975,11	0,95
13	0,15		0,16		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,26		0,28		0,30	
13	986,06	1,13	984,93	1,09	983,84	1,08	982,76	1,05	981,71	1,02	980,69	1,01	979,68	0,99	978,69	0,98	977,71	0,97	976,74	0,97	975,77	0,96	974,81	0,96
14	0,16		0,16		0,18		0,18		0,20		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,28		0,30	
14	985,90	1,13	984,77	1,11	983,66	1,08	982,58	1,07	981,51	1,04	980,47	1,02	979,45	1,00	978,45	1,00	977,45	0,98	976,47	0,98	975,49	0,98	974,51	0,98
15	0,17		0,18		0,20		0,20		0,21		0,22		0,24		0,25		0,26		0,28		0,30		0,32	
15	985,73	1,14	984,59	1,12	983,47	1,09	982,38	1,08	981,30	1,05	980,25	1,04	979,21	1,01	978,20	1,01	977,19	1,00	976,19	1,00	975,19	1,00	974,19	1,00
16	0,18		0,19		0,20		0,22		0,22		0,24		0,24		0,27		0,28		0,30		0,31		0,32	
16	985,55	1,15	984,40	1,13	983,27	1,11	982,16	1,08	981,08	1,07	980,01	1,04	978,97	1,04	977,93	1,02	976,91	1,02	975,89	1,01	974,88	1,01	973,87	1,02
17	0,19		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,29		0,30		0,32		0,33	
17	985,36	1,16	984,20	1,14	983,06	1,12	981,94	1,09	980,85	1,08	979,77	1,06	978,71	1,05	977,66	1,04	976,62	1,03	975,59	1,03	974,56	1,02	973,54	1,04
18	0,21		0,22		0,23		0,25		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,35	
18	985,15	1,17	983,98	1,14	982,84	1,13	981,71	1,11	980,60	1,09	979,51	1,07	978,44	1,06	977,38	1,05	976,33	1,05	975,28	1,04	974,24	1,05	973,19	1,05
19	0,21		0,22		0,24		0,24		0,25		0,26		0,28		0,29		0,31		0,32		0,34		0,35	
19	984,94	1,18	983,76	1,16	982,60	1,13	981,47	1,12	980,35	1,10	979,25	1,09	978,16	1,07	977,09	1,07	976,02	1,06	974,96	1,06	973,90	1,06	972,84	1,06
20	0,23		0,24		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,36	
20	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08

f	Título alcoométrico volúmico em %																							
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21												
20°	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
21°	0,24		0,24		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,33		0,34		0,36		0,37	
21°	984,47	1,19	983,28	1,18	982,10	1,15	980,95	1,14	978,81	1,12	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,10	975,38	1,09	974,29	1,09	973,20	1,09	972,11	1,09
22°	0,24		0,26		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,35		0,36		0,37	
22°	984,23	1,21	983,02	1,18	981,84	1,17	980,67	1,15	979,52	1,13	978,39	1,12	977,27	1,12	976,15	1,10	975,05	1,11	973,94	1,10	972,84	1,10	971,74	1,12
23°	0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,35		0,37		0,39	
23°	983,97	1,20	982,77	1,20	981,57	1,18	980,39	1,16	979,23	1,15	978,08	1,13	976,95	1,13	975,82	1,12	974,70	1,11	973,59	1,12	972,47	1,12	971,35	1,12
24°	0,27		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,37		0,38		0,40	
24°	983,70	1,22	982,48	1,20	981,28	1,18	980,10	1,17	978,93	1,16	977,77	1,15	976,62	1,13	975,49	1,14	974,35	1,13	973,22	1,13	972,09	1,14	970,95	1,14
25°	0,28		0,30		0,31		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,41	
25°	983,42	1,22	982,20	1,21	980,99	1,20	979,79	1,18	978,61	1,17	977,44	1,15	976,29	1,15	975,14	1,15	973,99	1,14	972,85	1,15	971,70	1,15	970,55	1,16
26°	0,30		0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,38		0,39		0,40		0,42	
26°	983,14	1,24	981,90	1,22	980,68	1,20	979,48	1,19	978,29	1,18	977,11	1,17	975,94	1,16	974,78	1,16	973,62	1,16	972,46	1,16	971,30	1,16	970,14	1,17
27°	0,30		0,32		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,38		0,38		0,40		0,41		0,43	
27°	982,84	1,24	981,60	1,23	980,37	1,21	979,16	1,20	977,96	1,19	976,77	1,18	975,59	1,17	974,42	1,18	973,24	1,17	972,07	1,17	970,90	1,18	969,72	1,18
28°	0,31		0,32		0,33		0,34		0,35															

Título alcoométrico volúmico em %																								
ρ	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31												
0	978,56	0,70	977,86	0,70	977,16	0,69	976,47	0,71	975,76	0,71	975,05	0,72	974,33	0,75	973,58	0,77	972,81	0,80	972,01	0,83	971,18	0,87	970,31	0,90
1	0,14		0,17		0,19		0,22		0,24		0,26		0,29		0,31		0,34		0,36		0,39		0,41	
1	978,42	0,73	977,69	0,72	976,97	0,72	976,25	0,73	975,52	0,73	974,79	0,75	974,04	0,77	973,27	0,80	972,47	0,82	971,65	0,86	970,79	0,89	969,90	0,92
2	0,16		0,18		0,20		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,37		0,39		0,41	
2	978,26	0,75	977,51	0,74	976,77	0,75	976,02	0,75	975,27	0,76	974,51	0,77	973,74	0,79	972,95	0,82	972,13	0,85	971,28	0,88	970,40	0,91	969,49	0,95
3	0,17		0,19		0,22		0,23		0,26		0,28		0,31		0,33		0,36		0,38		0,40		0,42	
3	978,09	0,77	977,32	0,77	976,55	0,76	975,79	0,78	975,01	0,78	974,23	0,80	973,43	0,81	972,62	0,85	971,77	0,87	970,90	0,90	970,00	0,93	969,07	0,98
4	0,18		0,20		0,22		0,25		0,27		0,29		0,31		0,34		0,36		0,38		0,40		0,43	
4	977,91	0,79	977,12	0,79	976,33	0,79	975,54	0,80	974,94	0,80	973,94	0,82	973,12	0,84	972,28	0,87	971,41	0,89	970,52	0,92	969,60	0,96	968,64	1,00
5	0,19		0,22		0,23		0,26		0,27		0,30		0,33		0,35		0,37		0,39		0,42		0,44	
5	977,72	0,82	976,90	0,80	976,10	0,82	975,28	0,81	974,47	0,83	973,64	0,85	972,79	0,86	971,93	0,89	971,04	0,91	970,13	0,95	969,18	0,98	968,20	1,01
6	0,21		0,22		0,25		0,26		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,40		0,42		0,44	
6	977,51	0,83	976,68	0,83	975,85	0,83	975,02	0,84	974,18	0,85	973,33	0,87	972,46	0,86	971,58	0,91	970,67	0,94	969,73	0,97	968,76	1,00	967,76	1,03
7	0,21		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44	
7	977,30	0,85	976,45	0,85	975,60	0,86	974,74	0,86	973,88	0,87	973,01	0,89	972,12	0,90	971,22	0,93	970,29	0,96	969,33	0,99	968,34	1,02	967,32	1,06
8	0,23		0,25		0,27		0,28		0,31		0,33		0,35		0,37		0,40		0,42		0,43		0,46	
8	977,07	0,87	976,20	0,87	975,33	0,87	974,46	0,89	973,57	0,89	972,68	0,91	971,77	0,92	970,85	0,96	969,89	0,98	968,91	1,00	967,91	1,05	966,86	1,07
9	0,24		0,26		0,28		0,30		0,31		0,34		0,35		0,38		0,39		0,41		0,44		0,46	
9	976,83	0,89	975,94	0,89	975,05	0,89	974,16	0,90	973,26	0,92	972,34	0,92	971,42	0,95	970,47	0,97	969,50	1,00	968,50	1,03	967,47	1,07	966,40	1,09
10	0,24		0,26		0,28		0,30		0,33		0,34		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,46	
10	976,59	0,91	975,68	0,91	974,77	0,91	973,86	0,93	972,93	0,93	972,00	0,95	971,05	0,97	970,08	0,99	969,09	1,02	968,07	1,05	967,02	1,08	965,94	1,12
11	0,27		0,29		0,30		0,33		0,34		0,36		0,38		-0,40		0,42		0,44		0,46		0,47	
11	976,32	0,93	975,39	0,92	974,47	0,94	973,53	0,94	972,59	0,95	971,64	0,97	970,67	0,99	969,68	1,01	968,67	1,04	967,63	1,07	966,56	1,09	965,47	1,13
12	0,27		0,28		0,31		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,48	
12	976,05	0,94	975,11	0,95	974,16	0,95	973,21	0,96	972,25	0,97	971,28	0,99	970,29	1,01	969,28	1,03	968,25	1,06	967,19	1,08	966,11	1,12	964,99	1,15
13	0,28		0,30		0,31		0,33		0,35		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
13	975,77	0,96	974,81	0,96	973,85	0,97	972,88	0,98	971,90	0,99	970,91	1,01	969,90	1,03	968,87	1,05	967,82	1,08	966,74	1,10	965,64	1,14	964,50	1,17
14	0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
14	975,49	0,98	974,51	0,98	973,53	0,99	972,54	1,00	971,54	1,01	970,53	1,03	969,50	1,04	968,46	1,07	967,39	1,10	966,29	1,12	965,17	1,16	964,01	1,19
15	0,30		0,32		0,34		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49	
15	975,19	1,00	974,19	1,00	973,19	1,00	972,19	1,02	971,17	1,03	970,14	1,04	969,10	1,06	968,04	1,09	966,95	1,12	965,83	1,14	964,69	1,17	963,52	1,21
16	0,31		0,32		0,34		0,36		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,46		0,48		0,51	
16	974,88	1,01	973,87	1,02	972,85	1,02	971,83	1,03	970,80	1,05	969,75	1,06	968,69	1,08	967,61	1,11	966,50	1,13	965,37	1,16	964,21	1,20	963,01	1,22
17	0,32		0,33		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,48		0,50		0,50	
17	974,56	1,02	973,54	1,04	972,50	1,04	971,46	1,05	970,41	1,06	969,35	1,08	968,27	1,10	967,17	1,12	966,05	1,16	964,89	1,18	963,71	1,20	962,51	1,24
18	0,32		0,35		0,36		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,52	
18	974,24	1,05	973,19	1,05	972,14	1,05	971,09	1,07	970,02	1,08	968,94	1,10	967,84	1,12	966,72	1,14	965,58	1,17	964,41	1,19	963,22	1,23	961,99	1,25
19	0,34		0,35		0,36		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,50		0,52	
19	973,90	1,06	972,84	1,06	971,78	1,08	970,70	1,08	969,62	1,10	968,52	1,11	967,41	1,14	966,27	1,16	965,11	1,18	963,93	1,21	962,72	1,25	961,47	1,27
20	0,34		0,36		0,38		0,39		0,41		0,42		0,45		0,46		0,47		0,49		0,51		0,52	
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,14	966,96	1,15	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29

Título alcoométrico volúmico em %																								
ρ	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31												
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,14	966,96	1,15	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29
21	0,36		0,37		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,46		0,49		0,50		0,52		0,53	
21	973,20	1,09	972,11	1,09	971,02	1,11	969,91	1,12	968,79	1,13	967,66	1,15	966,51	1,16	965,35	1,20	964,15	1,21	962,94	1,25	961,69	1,27	960,42	1,31
22	0,36		0,37		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,48		0,49		0,51		0,52		0,54	
22	972,84	1,10	971,74	1,12	970,62	1,12	969,50	1,13	968,37	1,15	967,22	1,16	966,06	1,19	964,87	1,21	963,66	1,23	962,43	1,26	961,17	1,29	959,88	1,32
23	0,37		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,55	
23	972,47	1,12	971,35	1,13	970,22	1,14	969,08	1,14	967,94	1,17	966,77	1,18	965,59	1,20	964,39	1,22	963,17	1,25	961,92	1,28	960,64	1,31	959,33	1,33
24	0,38		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49		0,51		0,52		0,54		0,55	
24	972,09	1,14	970,95	1,14	969,81	1,15	968,66	1,16	967,50	1,18	966,32	1,20	965,12	1,22	963,90	1,24	962,66	1,26	961,40	1,30	960,10	1,32	958,78	1,35
25	0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,55	
25	971,70	1,15	970,55	1,16	969,39	1,16	968,23	1,18	967,05	1,20	965,85	1,21	964,64	1,23	963,41	1,26	962,15	1,28	960,87	1,31	959,56	1,33	958,23	1,37
26	0,40		0,41		0,42		0,44		0,46		0,47		0,49		0,50		0,51		0,53		0,54		0,57	
26	971,30	1,16	970,14	1,17	968,97	1,18	967,79	1,20	966,59	1,21	965,38	1,23	964,15	1,24	962,91	1,27	961,64	1,30	960,34	1,32	959,02	1,36	957,66	1,38
27	0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,56		0,56	
27	970,90	1,18	969,72	1,18	968,54	1,20	967,34	1,21	966,13	1,23	964,90	1,24	963,66	1,26	962,40	1,29	961,11	1,31	959,80	1,34	958,46	1,36	957,10	1,40
28	0,41		0,43		0,45	</																		

TABELA II

TÍTULO ALCOOMÉTRICO INTERNACIONAL A 20° C

Tabela de correcções a efectuar no grau alcoólico aparente para corrigir a acção da temperatura

Adicionar ou subtrair ao grau alcoólico aparente a t° (alcoómetro em vidro vulgar) a correcção abaixo indicada

		Títulos alcoométricos aparentes a t °C																	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Temperaturas	adicionar	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		

		Títulos alcoométricos aparentes a t °C																		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
Temperaturas	subtrair	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		

		Títulos alcoométricos aparentes a t °C																
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperaturas	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	

		Títulos alcoométricos aparentes a t °C																
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperaturas	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

TABELA III
TÍTULO ALCOOMÉTRICO INTERNACIONAL A 20° C
Tabela das massas volúmicas aparentes das misturas hidroalcoólicas — aparelhos em vidro vulgar
Massas volúmicas a t°, corrigidas da pressão do ar

ρ	Título alcoométrico volúmico em %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11												
0	999,34	1,52	997,82	1,45	996,37	1,39	994,98	1,35	993,63	1,29	992,34	1,24	991,10	1,18	989,92	1,15	988,77	1,09	987,68	1,05	986,63	1,00	985,63	0,96
1	-0,09		-0,09		-0,09		-0,08		-0,08		-0,08		-0,07		-0,05		-0,05		-0,04		-0,03		-0,02	
2	999,49	1,52	997,97	1,40	996,52	1,40	995,12	1,35	993,77	1,30	992,47	1,25	991,22	1,21	990,01	1,16	988,85	1,11	987,74	1,06	986,68	1,02	985,66	0,98
3	999,54	1,52	998,02	1,46	996,56	1,40	995,16	1,35	993,81	1,30	992,51	1,26	991,25	1,21	990,04	1,16	988,88	1,12	987,76	1,08	986,68	1,03	985,65	0,99
4	999,57	1,52	998,05	1,46	996,59	1,40	995,19	1,36	993,83	1,30	992,53	1,26	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,13	987,75	1,08	986,67	1,04	985,63	1,00
5	999,59	1,52	998,07	1,46	996,61	1,40	995,21	1,36	993,85	1,31	992,54	1,27	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,14	987,74	1,09	986,65	1,05	985,60	1,02
6	0,00		0,00		0,00		0,01		0,01		0,01		0,01		0,02		0,03		0,03		0,04		0,06	
7	999,58	1,52	998,07	1,46	996,61	1,41	995,20	1,36	993,84	1,31	992,53	1,27	991,26	1,23	990,03	1,18	988,85	1,14	987,71	1,10	986,61	1,07	985,54	1,02
8	999,58	1,52	998,06	1,46	996,60	1,41	995,19	1,36	993,83	1,32	992,51	1,27	991,24	1,23	990,01	1,19	988,82	1,15	987,67	1,11	986,56	1,08	985,48	1,04
9	999,51	1,52	997,99	1,46	996,53	1,41	995,12	1,37	993,75	1,32	992,43	1,29	991,14	1,24	989,90	1,20	988,70	1,16	987,54	1,13	986,41	1,09	985,32	1,06
10	999,45	1,52	997,93	1,46	996,47	1,41	995,06	1,37	993,69	1,33	992,36	1,29	991,07	1,24	989,83	1,21	988,62	1,17	987,45	1,14	986,31	1,10	985,21	1,07
11	0,07		0,06		0,06		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,10		0,11	
12	999,38	1,51	997,87	1,46	996,41	1,42	994,99	1,37	993,62	1,33	992,29	1,29	991,00	1,25	989,75	1,22	988,53	1,18	987,35	1,14	986,21	1,11	985,10	1,08
13	999,29	1,51	997,78	1,46	996,32	1,42	994,90	1,37	993,53	1,33	992,20	1,30	990,90	1,26	989,64	1,22	988,42	1,18	987,24	1,15	986,09	1,12	984,97	1,09
14	999,20	1,51	997,69	1,46	996,23	1,42	994,81	1,38	993,43	1,33	992,10	1,30	990,80	1,26	989,54	1,23	988,31	1,19	987,12	1,16	985,96	1,13	984,83	1,10
15	999,09	1,51	997,58	1,46	996,12	1,42	994,70	1,38	993,32	1,34	991,98	1,30	990,68	1,27	989,41	1,23	988,18	1,20	986,98	1,17	985,81	1,14	984,67	1,11
16	998,97	1,51	997,46	1,46	996,00	1,42	994,58	1,38	993,20	1,34	991,86	1,31	990,55	1,27	989,28	1,24	988,04	1,20	986,84	1,18	985,66	1,15	984,51	1,12
17	0,13		0,13		0,13		0,14		0,14		0,14		0,14		0,15		0,15		0,15		0,17		0,18	
18	998,84	1,51	997,33	1,46	995,87	1,42	994,45	1,39	993,06	1,34	991,72	1,31	990,41	1,28	989,13	1,24	987,89	1,22	986,67	1,18	985,49	1,16	984,33	1,13
19	998,70	1,51	997,21	1,46	995,73	1,42	994,31	1,39	992,92	1,35	991,57	1,31	990,26	1,28	988,98	1,25	987,73	1,22	986,50	1,18	985,32	1,17	984,15	1,14
20	998,55	1,51	997,04	1,47	995,57	1,42	994,15	1,39	992,76	1,35	991,41	1,32	990,09	1,28	988,81	1,26	987,55	1,23	986,32	1,19	985,13	1,17	983,96	1,15
21	998,38	1,50	996,88	1,47	995,41	1,42	993,99	1,39	992,60	1,35	991,25	1,33	989,92	1,29	988,63	1,26	987,37	1,24	986,13	1,20	984,93	1,18	983,75	1,16
22	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17

ρ	Título alcoométrico volúmico em %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11												
20	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17
21	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,21		0,22		0,23		0,23	
22	998,01	1,50	996,51	1,47	995,04	1,42	993,62	1,40	992,22	1,36	990,86	1,33	989,53	1,31	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,22	984,48	1,19	983,29	1,17
23	997,81	1,50	996,31	1,46	994,84	1,43	993,42	1,40	992,02	1,36	990,66	1,34	989,32	1,31	988,01	1,28	986,73	1,25	985,48	1,23	984,25	1,20	983,05	1,18
24	997,60	1,50	996,10	1,46	994,63	1,43	993,21	1,40	991,81	1,37	990,44	1,34	989,10	1,31	987,79	1,29	986,50	1,26	985,24	1,23	984,01	1,21	982,80	1,19
25	997,39	1,50	995,89	1,47	994,42	1,43	992,99	1,40	991,59	1,37	990,22	1,35	988,87	1,31	987,56	1,29	986,27	1,27	985,00	1,24	983,76	1,22	982,54	1,20
26	997,16	1,50	995,66	1,47	994,19	1,43	992,76	1,41	991,35	1,37	989,98	1,35	988,63	1,32	987,31	1,29	986,02	1,27	984,75	1,25	983,50	1,23	982,27	1,21
27	0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,24		0,25		0,25		0,26		0,27		0,28	
28	996,93	1,50	995,43	1,47	993,96	1,44	992,52	1,41	991,11	1,37	989,74	1,35	988,39	1,33	987,06	1,30	985,76	1,28	984,48	1,25	983,23	1,24	981,99	1,22
29	996,78	1,50	995,28	1,47	993,81	1,44	992,37	1,41	990,96	1,38	989,58	1,35	988,23	1,33	986,90	1,31	985,59	1,29	984,29	1,26	982,99	1,24	981,70	1,23
30	996,63	1,50	995,13	1,48	993,65	1,44	992,21	1,41	990,80	1,38	989,42	1,36	988,06	1,34	986,72	1,31	985,41	1,29	984,11	1,27	982,82	1,25	981,54	1,23
31	996,43	1,50	994,93	1,48	993,45	1,44	992,01	1,41	990,60	1,38	989,22	1,36	987,86	1,34	986,52	1,31	985,21	1,29	983,92	1,27	982,65	1,25	981,39	1,23
32	996,27	1,51	994,76	1,48	993,28	1,44	991,84	1,41	990,43	1,39	989,04	1,36	987,68	1,34	986,34	1,32	985,03	1,29	983,73	1,28	982,45	1,26	981,19	1,24
33	996,10	1,51	994,60	1,48	993,12	1,44	991,68	1,41	990,27	1,39	988,88	1,36	987,52	1,34	986,18	1,32	984,87	1,29	983,57	1,28	982,29	1,26	981,03	1,24
34	995,90	1,51	994,39	1,48	992,91	1,45	991,46	1,41	990,05	1,39	988,66	1,37	987,29	1,34	985,95	1,32	984,63	1,30	983,33	1,29	982,04	1,27	980,77	1,25
35	0,29		0,29		0,29		0,30		0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,32		0,32		0,32	
36	995,61	1,51	994,10	1,48	992,62	1,45	991,17	1,42	989,75	1,39	988,36	1,37	986,99	1,35	985,64	1,33	984,31	1,30	983,01	1,29	981,72	1,27	980,45	1,26
37	995,42	1,51	993,91	1,48	992,43	1,45	990,98	1,42	989,55	1,40	988,15	1,37	986,78	1,35	985,43	1,33	984,09	1,31	982,79	1,30	981,50	1,28	980,21	1,26
38	995,23	1,52	993,72	1,48	992,24	1,45	990,79	1,43	989,34	1,40	987,91	1,37	986,51	1,36	985,11	1,34	983,74	1,31	982,39	1,31	981,05	1,28	979,77	1,27
39	995,03	1,53	993,52	1,48	992,04	1,45	990,59	1,43	989,14	1,41	987,71	1,38	986,31	1,36	984,94	1,34	983,59	1,32	982,24	1,31	980,91	1,29	979,58	1,28
40	994,84	1,53	993,33	1,48	991,84	1,45	990,39	1,43	988,94	1,41	987,51	1,38	986,11	1,36	984,74	1,34	983,39	1,33	982,04	1,32	980,71	1,30	979,38	1,29
41	0,32		0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37	
42	994,68	1,53	993,17	1,49	991,68	1,46	990,23	1,43	988,78	1,41	987,35	1,39	985,94	1,36	984,57	1,35	983,22	1,33	981,87	1,32	980,54	1,31	979,21	1,29
43	994,53	1,54	993,02	1,49	991,53	1,46	990,08	1,44	988,63	1,41	987,18	1,39	985,77	1,37	984,40	1,35	983,03	1,33	981,66	1,32	980,31	1,31	978,96	1,30
44	994,38	1,54	992,87	1,50	991,38	1,47	990,03	1,44	988,58	1,41	987,13	1,39	985,72	1,37	984,35	1,36	982,98	1,34	981,61	1,32	980,24	1,31	978,87	1,31
45	994,23	1,54	992,72	1,50	991,23	1,47	990,03	1,44	988,58	1,41	987,13	1,39	985,72	1,37	984,35	1,36	982,98	1,34	981,61	1,32	980,24	1,31	978,87	1,31
46	994,08	1,54	992,57	1,51	991,08	1,47	990,03	1,44	988,58	1,41	987,13	1,39	985,72	1,37	984,35	1,36								

		Título alcoométrico volúmico em %																							
ρ		10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
0	0,96	986,63	1,00	985,63	0,96	984,67	0,92	983,75	0,87	982,88	0,84	982,04	0,81	981,23	0,77	980,46	0,75	979,71	0,73	978,98	0,72	978,26	0,70	977,56	0,70
1	-0,03	986,66	1,01	985,65	0,97	984,68	0,93	983,75	0,89	982,86	0,86	982,00	0,82	981,18	0,79	980,39	0,77	979,62	0,75	978,87	0,74	978,13	0,72	977,41	0,72
2	-0,02	986,68	1,02	985,66	0,98	984,68	0,94	983,74	0,91	982,83	0,87	981,96	0,84	981,12	0,81	980,31	0,79	979,52	0,77	978,75	0,76	977,99	0,75	977,24	0,74
3	0,00	986,68	1,03	985,65	0,99	984,66	0,96	983,70	0,92	982,78	0,88	981,90	0,86	981,04	0,83	980,21	0,81	979,40	0,79	978,61	0,78	977,83	0,77	977,06	0,76
4	0,01	986,67	1,04	985,63	1,00	984,63	0,97	983,66	0,93	982,73	0,90	981,83	0,87	980,96	0,85	980,11	0,83	979,28	0,81	978,47	0,80	977,67	0,79	976,88	0,79
5	0,02	986,65	1,05	985,60	1,02	984,58	0,98	983,60	0,95	982,65	0,91	981,74	0,89	980,85	0,87	979,98	0,84	979,14	0,83	978,31	0,82	977,49	0,81	976,68	0,81
6	0,04	986,61	1,07	985,54	1,02	984,52	0,99	983,53	0,96	982,57	0,93	981,64	0,90	980,74	0,89	979,85	0,86	978,99	0,85	978,14	0,84	977,30	0,83	976,47	0,83
7	0,05	986,56	1,08	985,48	1,04	984,44	1,00	983,44	0,97	982,47	0,95	981,52	0,92	980,60	0,90	979,70	0,88	978,82	0,87	977,95	0,85	977,10	0,85	976,25	0,85
8	0,07	986,49	1,09	985,40	1,05	984,35	1,01	983,34	0,98	982,36	0,96	981,40	0,94	980,46	0,92	979,54	0,90	978,64	0,88	977,76	0,87	976,89	0,87	976,02	0,87
9	0,08	986,41	1,09	985,32	1,06	984,26	1,03	983,23	1,00	982,23	0,97	981,26	0,95	980,31	0,93	979,38	0,92	978,48	0,90	977,56	0,89	976,67	0,89	975,78	0,89
10	0,10	986,31	1,10	985,21	1,07	984,14	1,04	983,10	1,01	982,09	0,99	981,10	0,96	980,14	0,94	979,20	0,93	978,27	0,92	977,35	0,91	976,44	0,91	975,53	0,91
11	0,10	986,21	1,11	985,10	1,08	984,02	1,05	982,97	1,03	981,94	1,00	980,94	0,97	979,97	0,96	979,01	0,95	978,06	0,94	977,12	0,93	976,19	0,93	975,26	0,92
12	0,12	986,09	1,12	984,97	1,09	983,88	1,06	982,82	1,04	981,78	1,01	980,77	0,99	979,78	0,98	978,80	0,96	977,84	0,96	976,88	0,95	975,93	0,94	974,99	0,94
13	0,13	985,96	1,13	984,83	1,10	983,73	1,07	982,66	1,05	981,61	1,03	980,58	1,00	979,58	0,99	978,59	0,98	977,61	0,97	976,64	0,97	975,67	0,96	974,71	0,96
14	0,15	985,81	1,14	984,67	1,11	983,56	1,08	982,48	1,06	981,42	1,04	980,38	1,02	979,36	1,00	978,36	0,99	977,37	0,99	976,38	0,98	975,40	0,98	974,42	0,98
15	0,15	985,66	1,15	984,51	1,12	983,39	1,09	982,30	1,07	981,23	1,05	980,18	1,04	979,14	1,02	978,12	1,01	977,11	1,00	976,11	0,99	975,12	1,00	974,12	1,00
16	0,17	985,49	1,16	984,33	1,13	983,20	1,10	982,10	1,08	981,02	1,06	979,96	1,05	978,91	1,04	977,87	1,02	976,85	1,02	975,83	1,01	974,82	1,01	973,81	1,02
17	0,17	985,32	1,17	984,15	1,14	983,01	1,11	981,90	1,09	980,81	1,08	979,73	1,06	978,67	1,05	977,62	1,04	976,58	1,04	975,54	1,02	974,52	1,02	973,50	1,04
18	0,19	985,13	1,17	983,96	1,15	982,81	1,13	981,68	1,11	980,57	1,09	979,48	1,07	978,41	1,06	977,35	1,05	976,30	1,05	975,25	1,04	974,21	1,04	973,17	1,05
19	0,20	984,93	1,18	983,75	1,16	982,59	1,14	981,45	1,12	980,33	1,10	979,23	1,08	978,15	1,07	977,08	1,07	976,01	1,06	974,94	1,05	973,89	1,06	972,83	1,06
20	0,22	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08

		Título alcoométrico volúmico em %																							
ρ		10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
20°	0,98	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
21°	0,23	984,48	1,19	983,29	1,17	982,12	1,16	980,96	1,14	979,82	1,13	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,09	975,39	1,09	974,30	1,09	973,21	1,09	972,12	1,09
22	0,23	984,25	1,20	983,05	1,18	981,97	1,17	980,70	1,15	979,55	1,14	978,41	1,12	977,29	1,12	976,17	1,10	975,07	1,10	973,97	1,10	972,86	1,10	971,76	1,11
23	0,24	984,01	1,21	982,80	1,19	981,61	1,18	980,43	1,16	979,27	1,15	978,12	1,13	976,99	1,13	975,86	1,12	974,74	1,11	973,63	1,12	972,51	1,12	971,39	1,13
24	0,25	983,76	1,22	982,54	1,20	981,34	1,19	980,15	1,17	978,98	1,16	977,82	1,14	976,68	1,14	975,54	1,13	974,41	1,13	973,28	1,13	972,15	1,14	971,01	1,14
25	0,26	983,50	1,23	982,27	1,21	981,06	1,20	979,86	1,18	978,68	1,17	977,51	1,16	976,36	1,15	975,21	1,15	974,06	1,14	972,92	1,15	971,77	1,15	970,62	1,15
26	0,27	983,23	1,24	981,99	1,22	980,77	1,20	979,57	1,19	978,38	1,18	977,20	1,17	976,03	1,16	974,87	1,16	973,71	1,16	972,55	1,16	971,39	1,16	970,23	1,17
27	0,29	982,94	1,24	981,70	1,23	980,47	1,21	979,26	1,20	978,06	1,19	976,87	1,18	975,69	1,18	974,51	1,17	973,34	1,17	972,17	1,17	971,00	1,18	969,82	1,18
28	0,29	982,65	1,25	981,40	1,23	980,17	1,22	978,95	1,21	977,74	1,20	976,54	1,20	975,34	1,19	974,15	1,19	972,96	1,18	971,78	1,18	970,60	1,19	969,41	1,20
29	0,30	982,35	1,26	981,09	1,24	979,85	1,23	978,62	1,22	977,40	1,21	976,19	1,21	974,98	1,20	973,78	1,20	972,58	1,19	971,39	1,19	970,20	1,21	969,01	1,21
30	0,31	982,04	1,27	980,77	1,25	979,52	1,24	978,28	1,23	977,05	1,22	975,83	1,21	974,62	1,21	973,41	1,21	972,20	1,21	970,99	1,21	969,78	1,22	968,56	1,23
31	0,32	981,72	1,27	980,45	1,26	979,19	1,25	977,94	1,24	976,70	1,23	975,47	1,22	974,25	1,22	973,03	1,22	971,81	1,22	970,59	1,23	969,36	1,23	968,13	1,24
32	0,33	981,39	1,28	980,11	1,26	978,85	1,26	977,59	1,25	976,34	1,24	975,10	1,23	973,87	1,23	972,64	1,23	971,41	1,24	970,17	1,24	968,93	1,25	967,68	1,26
33	0,34	981,05	1,28	979,77	1,27	978,50	1,26	977,24	1,26	975,98	1,25	974,73	1,25	973,48	1,24	972,24	1,24	971,00	1,25	969,75	1,25	968,50	1,27	967,23	1,27
34	0,34	980,71	1,29	979,42	1,28	978,14	1,27	976,87	1,27	975,60	1,26	974,34	1,26	973,08	1,25	971,83	1,25	970,58	1,26	969,32	1,27	968,05	1,27	966,78	1,29
35	0,34	980,37	1,30	979,07	1,29	977,78	1,28	976,50	1,28	975,22	1,27	973,95	1,27	972,68	1,26	971,42	1,27	970,15	1,27	968,88	1,28	967,60	1,29	966,31	1,30
36	0,36	980,01	1,31	978,70	1,29	977,41	1,29	976,12	1,28	974,84	1,28	973,56	1,28	972,28	1,28	971,00	1,28	969,72	1,28	968,44	1,29	967,15	1,31	965,84	1,31
37	0,36	979,65	1,32	978,33	1,30	977,03	1,30	975,73	1,29	974,44	1,29	973,15	1,29	971,86	1,29	970,57	1,29	969,28	1,29	967,99	1,30	966,69	1,32	965,37	1,32
38	0,38	979,27	1,32	977,95	1,31	976,64	1,30	975,34	1,30	974,04	1,30	972,74	1,30	971,44	1,30	970,14	1,30	968,84	1,31	967,53	1,31	966,22	1,33	964,89	1,34
39	0,38	978,89	1,33	977,56	1,31	976,25	1,31	974,94	1,31	973,63	1,31	972,32	1,31	971,01	1,31	969,70	1,31	968,39	1,32	967,07	1,33	965,74	1,34	964,40	1,36
40	0,39	978,50	1,33	977,17	1,32	975,85	1,32	974,53	1,32	973,21	1,31	971,90	1,32	970,58	1,33	969,25	1,33	967,92	1,33	966,59	1,34	965,25	1,35	963,90	1,37

P	Titulo alcoométrico volúmico em %																							
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31												
0	978,26	0,70	977,56	0,70	976,86	0,69	976,17	0,70	975,47	0,72	974,75	0,72	974,03	0,74	973,29	0,77	972,52	0,80	971,72	0,83	970,89	0,87	970,02	0,90
1	0,13 978,13	0,72	0,15 977,41	0,72	0,17 976,69	0,72	0,20 975,97	0,72	0,22 975,25	0,74	0,24 974,51	0,75	0,27 973,76	0,77	0,30 972,99	0,79	0,32 972,20	0,83	0,35 971,37	0,85	0,37 970,52	0,89	0,39 969,63	0,93
2	0,14 977,99	0,75	0,17 977,24	0,74	0,19 976,50	0,74	0,21 975,76	0,75	0,24 975,01	0,76	0,26 974,25	0,78	0,29 973,47	0,79	0,31 972,68	0,82	0,34 971,86	0,85	0,36 971,01	0,87	0,38 970,14	0,92	0,41 969,22	0,96
3	0,16 977,83	0,77	0,18 977,06	0,76	0,20 976,30	0,77	0,23 975,53	0,77	0,25 974,76	0,78	0,27 973,98	0,80	0,29 973,18	0,82	0,32 972,36	0,84	0,34 971,52	0,87	0,36 970,65	0,89	0,38 969,76	0,94	0,42 968,82	0,98
4	0,18 977,67	0,79	0,20 976,88	0,79	0,22 976,09	0,79	0,24 975,30	0,79	0,26 974,51	0,81	0,28 973,70	0,82	0,30 972,88	0,84	0,33 972,04	0,86	0,35 971,18	0,89	0,38 970,29	0,92	0,40 969,37	0,96	0,41 968,40	1,00
5	0,19 977,49	0,81	0,21 976,68	0,81	0,23 975,87	0,81	0,25 975,06	0,81	0,27 974,25	0,83	0,30 973,42	0,84	0,33 972,58	0,86	0,34 971,71	0,88	0,37 970,83	0,92	0,39 969,91	0,94	0,41 968,97	0,98	0,43 967,99	1,02
6	0,20 977,30	0,83	0,22 976,47	0,83	0,24 975,64	0,83	0,26 974,81	0,84	0,28 973,97	0,85	0,30 973,12	0,87	0,32 972,25	0,88	0,35 971,37	0,91	0,37 970,46	0,94	0,39 969,52	0,96	0,41 968,56	1,00	0,43 967,56	1,04
7	0,21 977,10	0,85	0,23 976,25	0,85	0,25 975,40	0,85	0,27 974,55	0,86	0,29 973,69	0,87	0,31 972,82	0,89	0,33 971,93	0,91	0,35 971,02	0,93	0,37 970,09	0,96	0,39 969,13	0,98	0,42 968,15	1,02	0,44 967,13	1,06
8	0,22 976,89	0,87	0,24 976,02	0,87	0,26 975,15	0,87	0,28 974,28	0,88	0,30 973,40	0,89	0,32 972,51	0,91	0,34 971,60	0,93	0,36 970,67	0,95	0,39 969,72	0,98	0,41 968,74	1,01	0,43 967,73	1,04	0,45 966,69	1,08
9	0,23 976,67	0,89	0,25 975,78	0,89	0,27 974,89	0,89	0,29 974,00	0,90	0,31 973,10	0,91	0,33 972,19	0,93	0,35 971,26	0,95	0,37 970,31	0,98	0,39 969,33	1,00	0,41 968,33	1,03	0,43 967,30	1,06	0,45 966,24	1,09
10	0,25 976,44	0,91	0,27 975,53	0,91	0,28 974,62	0,91	0,30 973,71	0,92	0,32 972,79	0,93	0,34 971,86	0,95	0,36 970,91	0,97	0,38 969,94	1,00	0,40 968,94	1,02	0,42 967,92	1,05	0,44 966,87	1,08	0,45 965,79	1,11
11	0,26 976,11	0,93	0,27 975,26	0,92	0,29 974,34	0,93	0,31 973,41	0,94	0,33 972,47	0,95	0,35 971,52	0,97	0,37 970,55	0,99	0,39 969,56	1,02	0,40 968,54	1,04	0,42 967,50	1,07	0,44 966,43	1,09	0,45 965,34	1,13
12	0,26 975,93	0,94	0,28 974,99	0,94	0,30 974,05	0,95	0,32 973,10	0,96	0,34 972,14	0,97	0,36 971,17	0,99	0,38 970,18	1,01	0,39 969,17	1,03	0,41 968,14	1,06	0,43 967,08	1,09	0,45 965,99	1,11	0,47 964,88	1,15
13	0,27 975,67	0,96	0,29 974,71	0,96	0,31 973,75	0,97	0,33 972,78	0,98	0,35 971,80	0,99	0,37 970,81	1,01	0,38 969,80	1,02	0,40 968,78	1,05	0,42 967,73	1,08	0,44 966,65	1,11	0,45 965,54	1,13	0,47 964,41	1,17
14	0,28 975,40	0,98	0,30 974,42	0,98	0,32 973,44	0,99	0,33 972,45	1,00	0,35 971,45	1,01	0,37 970,44	1,02	0,38 969,42	1,04	0,41 968,38	1,07	0,43 967,31	1,10	0,45 966,21	1,12	0,47 965,09	1,15	0,49 963,94	1,19
15	0,30 975,12	1,00	0,31 974,12	1,00	0,33 973,12	1,00	0,35 972,12	1,02	0,36 971,10	1,03	0,38 970,07	1,04	0,40 969,03	1,06	0,42 967,97	1,09	0,44 966,88	1,12	0,45 965,76	1,14	0,47 964,62	1,17	0,49 963,45	1,20
16	0,30 974,82	1,01	0,31 973,81	1,02	0,33 972,79	1,02	0,35 971,77	1,03	0,36 970,74	1,05	0,38 969,69	1,06	0,40 968,63	1,08	0,42 967,55	1,11	0,44 966,44	1,13	0,45 965,31	1,16	0,47 964,15	1,19	0,49 962,96	1,22
17	0,30 974,52	1,02	0,31 973,50	1,04	0,33 972,46	1,04	0,35 971,42	1,05	0,37 970,37	1,06	0,38 969,31	1,08	0,40 968,23	1,10	0,42 967,13	1,12	0,43 966,01	1,15	0,45 964,86	1,18	0,47 963,68	1,21	0,49 962,47	1,24
18	0,31 974,21	1,04	0,33 973,17	1,05	0,34 972,12	1,06	0,36 971,06	1,07	0,38 969,99	1,08	0,40 968,91	1,10	0,42 967,81	1,11	0,43 966,70	1,14	0,45 965,56	1,17	0,47 964,39	1,19	0,48 963,20	1,23	0,50 961,97	1,26
19	0,32 973,89	1,06	0,34 972,83	1,06	0,35 971,77	1,07	0,36 970,70	1,09	0,38 969,61	1,10	0,40 968,51	1,11	0,42 967,39	1,13	0,44 966,26	1,16	0,46 965,10	1,18	0,47 963,92	1,21	0,49 962,71	1,24	0,50 961,47	1,28
20	0,33 973,56	1,08	0,35 972,48	1,08	0,37 971,40	1,09	0,39 970,31	1,10	0,40 969,21	1,11	0,42 968,10	1,13	0,44 966,97	1,16	0,45 965,81	1,17	0,47 964,64	1,20	0,49 963,44	1,23	0,50 962,21	1,26	0,52 960,95	1,29

P	Titulo alcoométrico volúmico em %																							
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31												
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,13	966,97	1,16	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29
21	0,35 973,21	1,09	0,36 972,12	1,09	0,37 971,03	1,11	0,39 969,92	1,11	0,40 968,81	1,13	0,42 967,68	1,15	0,44 966,53	1,17	0,45 965,36	1,19	0,47 964,17	1,22	0,49 962,95	1,24	0,50 961,71	1,28	0,52 960,43	1,31
22	0,35 972,86	1,10	0,37 971,76	1,11	0,39 970,65	1,12	0,40 969,53	1,13	0,42 968,40	1,15	0,43 967,25	1,16	0,45 966,09	1,19	0,46 964,90	1,21	0,48 963,69	1,23	0,50 962,46	1,26	0,52 961,20	1,29	0,53 959,91	1,32
23	0,36 972,51	1,12	0,38 971,39	1,13	0,39 970,26	1,13	0,41 969,13	1,15	0,42 967,98	1,16	0,44 966,82	1,18	0,46 965,64	1,20	0,48 964,44	1,23	0,49 963,21	1,25	0,51 961,96	1,28	0,53 960,68	1,30	0,54 959,38	1,33
24	0,38 972,15	1,14	0,39 971,01	1,14	0,40 969,87	1,15	0,42 968,72	1,16	0,44 967,56	1,18	0,45 966,38	1,20	0,46 965,18	1,22	0,48 963,96	1,24	0,50 962,72	1,27	0,51 961,45	1,29	0,53 960,16	1,32	0,54 958,84	1,34
25	0,39 971,77	1,15	0,41 970,62	1,15	0,42 969,47	1,17	0,44 968,30	1,18	0,46 967,12	1,19	0,48 965,93	1,21	0,49 964,72	1,24	0,50 963,48	1,26	0,52 962,22	1,28	0,54 960,94	1,31	0,55 959,63	1,33	0,56 958,30	1,36
26	0,40 971,39	1,16	0,41 970,23	1,17	0,42 969,06	1,18	0,44 967,88	1,20	0,45 966,68	1,21	0,46 965,47	1,23	0,48 964,24	1,25	0,50 962,99	1,27	0,51 961,72	1,30	0,52 960,42	1,32	0,53 959,10	1,35	0,55 957,75	1,38
27	0,40 971,00	1,18	0,41 969,82	1,18	0,43 968,64	1,20	0,44 967,44	1,21	0,46 966,23	1,22	0,48 965,01	1,25	0,49 963,76	1,27	0,50 962,49	1,28	0,52 961,21	1,31	0,53 959,90	1,33	0,55 958,57	1,37	0,56 957,20	1,40
28	0,40 970,60	1,19	0,41 969,41	1,20	0,43 968,21	1,21	0,44 967,00	1,23	0,46 965,77	1,24	0,48 964,53	1,26	0,49 963,27	1,28	0,50 961,99	1,30	0,52 960,69	1,32	0,54 959,37	1,35	0,55 958,02	1,38	0,56 956,64	1,41
29	0,40 970,20	1,21	0,42 968,99	1,21	0,43 967,78	1,23	0,45 966,55	1,24	0,46 965,31	1,26	0,48 964,05	1,27	0,49 962,78	1,29	0,50 961,49	1,32	0,52 960,17	1,34	0,54 958,83	1,36	0,55 957,47	1,39	0,56 956,08	1,43
30	0,42 969,78	1,22	0,43 968,56	1,23	0,44 967,33	1,24	0,45 966,09	1,25	0,47 964,84	1,27	0,49 963,57	1,29	0,51 962,28	1,31	0,52 960,97	1,33	0,53 959,64	1,35	0,55 958,29	1,38	0,56 956,91	1,41	0,58 955,50	1,44
31	0,43 969,36	1,23	0,44 968,13	1,24	0,46 966,89	1,25	0,48 965,64	1,27	0,49 964,37	1,29	0,51 963,08	1,31	0,52 961,77	1,32	0,54 960,45	1,34	0,55 959,11	1,37	0,56 957,74	1,39	0,58 956,35	1,43	0,59 954,92	1,45
32	0,43 968,93	1,25	0,45 967,68	1,25	0,46 966,43	1,27	0,48 965,16	1,28	0,49 963,88	1,30	0,51 962,58	1,32	0,52 961,26	1,33	0,54 959,93	1,36	0,55 958,57	1,39	0,56 957,18	1,40	0,58 955,78	1,44	0,59 954,34	1,47
33	0,43 968,50	1,27	0,45 967,23	1,27	0,47 965,96	1,28																		

TABELA IV

Tabela de correspondência entre os índices de refração a 20 ° C e os títulos alcoométricos a 20 ° C das misturas hidroalcoólicas puras e dos destilados

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

4. EXTRACTO SECO TOTAL

Matérias secas totais

1. DEFINIÇÃO

O extracto seco total ou matérias secas totais é o conjunto de todas as substâncias que em condições físicas determinadas não se volatilizam. Estas condições físicas devem ser fixadas de tal modo que as substâncias componentes desse extracto sofram o mínimo de alterações.

O extracto não redutor é o extracto seco total diminuído dos açúcares totais.

O extracto reduzido é o extracto seco total diminuído dos açúcares totais que excedem 1 g/l, do sulfato de potássio que exceda 1 g/l, do manitol se existir e de todas as substâncias químicas eventualmente adicionadas ao vinho.

O resto de extracto é o extracto não redutor diminuído da acidez fixa, expressa em ácido tartárico.

O extracto é expresso em gramas por litro e deve ser determinado com uma aproximação de 0,5 g.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Método único: método densimétrico

O extracto seco total é calculado indirectamente a partir do valor da densidade do mosto e, no caso do vinho, a partir da densidade do vinho desalcoholizado.

Este extracto seco é expresso pela quantidade de sacarose que, dissolvida numa quantidade de água suficiente para perfazer 1 litro, dá uma solução da mesma densidade que o mosto ou que o vinho desalcoholizado. Esta quantidade é dada pela tabela I.

3. MODO OPERATÓRIO

A densidade relativa d_{20}^{20} do *vinho desalcoholizado* (d_r) é dada pela fórmula:

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

em que d_r = densidade relativa do vinho a 20° C (corrigido da acidez volátil) ⁽¹⁾,

d_r = densidade relativa a 20° C da mistura hidroalcoólica com o mesmo título alcoométrico do vinho,

pode, igualmente, calcular-se d_r a partir das massas volúmicas a 20° C, ρ_v do vinho e ρ_a da mistura hidroalcoólica com o mesmo título alcoométrico pela fórmula:

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

em que o coeficiente 1,0018 pode na prática ser equiparado a 1 quando ρ_v for inferior a 1,05, o que é o caso mais frequente.

4. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Partindo da densidade d_{20}^{20} do vinho desalcoholizado ou da densidade d_{20}^{20} do mosto, utilizar a tabela I a fim de obter o peso do extracto seco total em gramas por litros.

O peso do extracto seco total é expresso em gramas por litro com uma decimal.

⁽¹⁾ Antes de fazer este cálculo, a densidade relativa (ou a massa volúmica) do vinho medida como é indicado anteriormente deve ser corrigida da acção da acidez volátil de acordo com a fórmula:

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

em que a é a acidez volátil, em miliequivalentes por litro.

TABELA I
para o cálculo do teor de extracto seco total (g/l)

Densidade relativa com 2 decimais	Terceira decimal da densidade relativa									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Gramas de extracto por 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	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabela intercalar

4ª decimal da densidade relativa	Gramas de extracto por litro	4ª decimal da densidade relativa	Gramas de extracto por litro	4ª decimal da densidade relativa	Gramas de extracto por 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. AÇÚCARES REDUTORES

1. DEFINIÇÃO

Os açúcares redutores são constituídos pelo conjunto dos açúcares de função cetónica ou aldeídica doseados pela sua acção redutora sobre a solução cupro-alcalina.

2. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

2.1. Defecação

2.1.1. Método de referência: passagem do vinho neutralizado e desalcoholizado por uma coluna permutadora de aniões sob a forma de acetato onde os seus aniões são trocados por iões acéticos, seguida da defecação por acetato neutro de chumbo.

2.1.2. Métodos usuais: o vinho é tratado por um dos seguintes reagentes:

2.1.2.1. Acetato neutro de chumbo.

2.1.2.2. Hexacianoferrato (II) de zinco

2.2. Doseamento

2.2.1. Método único: depois de ter feito reagir o vinho ou o mosto defecado com uma quantidade determinada de solução cupro-alcalina, o excesso de iões cúpricos é doseado por iodometria.

3. DEFECAÇÃO

O líquido em que os açúcares são doseados deve apresentar um teor de açúcares compreendido entre 0,5 e 5 g/l.

Se o vinho for seco deve evitar-se a sua diluição durante a defecação; se for doce é necessário diluí-lo ao mesmo tempo que se procede à sua defecação, de modo a que o teor de açúcares varie entre os referidos limites, de acordo com o quadro seguinte:

Denominação	Teor de açúcares compreendido entre (g/l)	Massa volúmica compreendida entre	Diluição prevista (%)
Mostos e jeropigas	> 125	> 1,038	1
vinhos doces, aguardentados ou não	25 e 125	1,005 e 1,038	4
vinhos adamados	5 e 25	0,997 e 1,005	20
vinhos secos	< 5	< 0,997	não se procede a diluição

4.3.1. Métodos de referência

4.3.1.1. Reagentes

3.1.1.1. Solução de ácido clorídrico (HCl), 1 M

3.1.1.2. Solução de hidróxido de sódio (NaOH), 1 M

3.1.1.3. Solução de ácido acético (CH₃COOH), 4 M

3.1.1.4. Solução de hidróxido de sódio (NaOH), 2 M

3.1.1.5. Resina permutadora de aniões [tipo Dowex 3 (20-50 mesh) ou resina equivalente]

Preparação da coluna de resina permutadora de aniões.

Colocar no fundo da bureta um pequeno tampão de lã de vidro e 15 ml de resina permutadora de aniões (3.1.1.5).

Aquando da utilização da resina, submetê-la a dois ciclos completos de regeneração com passagens alternadas de solução de ácido clorídrico (3.1.1.1) e de hidróxido de sódio (3.1.1.2). Depois da lavagem com 50 ml de água destilada, transvasar a resina para um vaso cilíndrico, juntar 50 ml de solução 4 M de ácido acético (3.1.1.3) e agitar durante 5 minutos. Encher de novo a bureta e fazer passar através da coluna 100 ml de solução 4 M de ácido acético (3.1.1.3). (É preferível ter uma reserva de resina conservada num frasco cheio com esta solução 4 M de ácido acético). Lavar a coluna com água destilada até que o efluente seja neutro.

Regeneração da coluna de resina. Fazer passar 150 ml duma solução 2 M de hidróxido de sódio para eliminar os ácidos e uma grande parte da matéria corante fixada na resina. Lavar com 100 ml de água, fazer passar 100 ml de solução 4 M de ácido acético. Lavar a coluna até que o efluente seja neutro.

3.1.1.6. Solução de acetato neutro de chumbo (aproximadamente saturada):

Acetato neutro de chumbo $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	250 g
Água muito quente q.b. para	500 ml

Agitar até dissolução.

3.1.1.7. Carbonato de cálcio, $CaCO_3$

3.1.2. *Modo operativo*

3.1.2.1. Vinhos secos

50 ml de vinho colocados num vaso cilíndrico de, aproximadamente, 10-12 cm de diâmetro, a que se adicionaram $1/2 (n - 0,5)$ ml de uma solução M de hidróxido de sódio (3.1.1.2) (sendo n o volume de uma solução 0,1 M de hidróxido de sódio utilizado para a dosagem da acidez total em 10 ml de vinho), são evaporados num banho de água a ferver utilizando um jacto de ar quente até que o líquido esteja reduzido a, aproximadamente, 20 ml.

Fazer passar esse líquido através de uma coluna de resina permutadora de aniões sob a forma de acetato (3.1.1.5) à razão de 3 ml todos os 2 minutos. Recolher o efluente num balão graduado de 100 ml. Lavar 6 vezes o vaso e a coluna com 10 ml de água destilada e juntar, agitando, 2,5 ml de solução saturada de acetato de chumbo (3.1.1.6) e 0,5 g de carbonato de cálcio (3.1.1.7), agitar diversas vezes e deixar em repouso, durante, pelo menos, 15 minutos; perfazer com água até ao traço de graduação. Filtrar.

1 ml deste filtrado corresponde a 0,5 ml de vinho.

3.1.2.2. Mostos, jeropigas, vinhos doces e vinhos adamados

As diluições abaixo sugeridas são dadas a título indicativo

1. *Mostos e jeropigas*. Diluir a 10 % o líquido a analisar e recolher 10 ml desta diluição.
2. *Vinhos doces, aguardentados ou não*, cuja massa volúmica está compreendida entre 1,005 e 1,038. Recolher 20 ml de líquido a analisar, previamente diluído a 20 %.
3. *Vinhos adamados*, cuja massa volúmica está compreendida entre 0,997 e 1,005. Recolher 20 ml de vinho não diluído.

Fazer passar o volume de vinho ou de mosto anteriormente indicado através de uma coluna permutadora de aniões sob a forma de acetato, à razão de 3 ml todos os 2 minutos. Recolher o efluente num balão graduado de 100 ml, lavar a coluna com água até à obtenção de, aproximadamente, 90 ml de efluente. Juntar 0,5 g de carbonato de cálcio e 1 ml de acetato de chumbo em solução saturada; agitar e deixar em repouso durante pelo menos 15 minutos agitando de tempos a tempos; perfazer com água até ao traço de graduação. Filtrar.

No caso:

1. 1 ml de filtrado corresponde a 0,01 ml de mosto ou de jeropiga.
2. 1 ml de filtrado corresponde a 0,04 ml de vinho doce.
3. 1 ml de filtrado corresponde a 0,20 ml de vinho adamado.

3.2. Métodos usuais

3.2.1. Defecação com acetato neutro de chumbo

3.2.1.1. Reagentes

Solução de acetato neutro de chumbo (aproximadamente saturada) (ver 3.1.1.6).

Carbonato de cálcio.

3.2.1.2. Modo operativo

3.2.1.2.1. Vinhos secos

Colocar 50 ml de vinho num balão graduado de 100 ml; juntar 1/2 (n-0,5) ml de solução M de hidróxido de sódio (3.1.1.2) sendo n o volume de solução 0,1 M utilizado para dosear a acidez total de 10 ml de vinho. Juntar, agitando, 2,5 ml de solução saturada de acetato de chumbo (3.1.1.6) e 0,5 g de carbonato de cálcio; (3.1.1.7) agitar diversas vezes e deixar em repouso durante, pelo menos, 15 minutos; perfazer com água até ao traço de graduação. Filtrar.

1 ml de filtrado corresponde a 0,5 ml de vinho.

3.2.1.2.2. Mostos, jeropigas, vinhos doces e vinhos adamados

Num balão graduado de 100 ml, colocar um volume de vinho (ou de mosto ou de jeropigas) assim definido, sendo as diluições seguintes dadas a título indicativo:

1. *Mostos e jeropigas.* Diluir a 10 % o líquido a analisar, recolher 10 ml desta diluição.
2. *Vinhos doces, aguardentados ou não,* cuja massa volúmica esteja compreendida entre 1,005 e 1,038. Recolher 20 ml de líquido a analisar previamente diluído a 20 %.
3. *Vinhos adamados,* cuja massa volúmica seja compreendida entre 0,997 e 1,005. Recolher 20 ml de vinho não diluído.

Juntar 0,5 g de carbonato de cálcio, aproximadamente 60 ml de água e 0,5 ou 1 ou 2 ml de acetato de chumbo em solução saturada, agitar e deixar em repouso durante, pelo menos, 15 minutos, agitando de tempos a tempos. Perfazer com água até ao traço da graduação. Filtrar.

No caso:

1. 1 ml de filtrado corresponde a 0,01 ml de mosto ou de jeropiga.
2. 1 ml de filtrado corresponde a 0,04 ml de vinho doce.
3. 1 ml de filtrado corresponde a 0,20 ml de vinho adamado.

3.2.2. Defecação por hexacianoferrato (II) de zinco

Este processo de defecação deve apenas ser utilizado para os vinhos brancos, vinhos doces pouco corados e mostos.

3.2.2.1. Reagentes

3.2.2.1.1. Solução de hexacianoferrato (II) de potássio.

Hexacianoferrato (II) de potássio ($K_4 Fe (CN)_6 \cdot 3H_2O$)	150 g
Água q.b. para	1000 ml

3.2.2.1.2. Solução II de sulfato de zinco:

Sulfato de zinco ($Zn SO_4 \cdot 7 H_2O$)	300 g
Água q.b. para	1000 ml

3.2.2.2. **Modo operatório**

Num balão graduado de 100 ml, colocar um volume de vinho (ou de mosto ou de jero-piga) assim definido, sendo as diluições seguintes dadas a título indicativo:

1. *Mostos e jero-pigas*: Diluir a 10 % o líquido a analisar, recolher 10 ml desta diluição.
2. *Vinhos doces, aguardentados ou não*, cuja massa volúmica esteja compreendida entre 1,005 e 1,0038. Recolher 20 ml de líquido a analisar, previamente diluído a 20 %.
3. *Vinhos adamados*, cuja massa volúmica esteja compreendida entre 0,997 e 1,005. Recolher 20 ml de vinho não diluído.
4. *Vinhos secos*, recolher 50 ml de vinho não diluído.

Juntar 5 ml de solução de hixacionaferrato (II) de potássio (3.2.2.1.1) e 5 ml de solução II de sulfato de zinco (3.2.2.1.2). Homogeneizar. Perfazer com água até ao traço de graduação. Esperar 10 m. Filtrar.

No caso:

1. 1 ml de filtrado correspondente a 0,01 ml de mosto ou de jero-piga.
2. 1 ml de filtrado correspondente a 0,04 ml de vinho doce.
3. 1 ml de filtrado correspondente a 0,20 ml de vinho adamado.
4. 1 ml de filtrado correspondente a 0,50 ml de vinho seco.

4. **DOSEAMENTO**4.1. **Reagentes**4.1.1. *Solução cuproalcalina*

Sulfato de cobre puro ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$)	25 g
Ácido cítrico ($\text{C}_6 \text{H}_8 \text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	50 g
Carbonato de sódio cristalizado ($\text{Na}_2 \text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$)	388 g
Água q.b. para	1000 ml

Dissolver o sulfato de cobre em 100 ml de água, o ácido cítrico em 300 ml de água e o carbonato de sódio em 300 a 400 ml de água quente. Misturar a solução de ácido cítrico e a solução de carbonato de sódio. Em seguida, juntar a solução do sulfato de cobre e perfazer até ao litro.

4.1.2. *Solução de iodeto de potássio a 30 %:*

iodeto de potássio (KI)	30 g
Água q.b. para	100 ml.

Conservar em frasco de vidro de cor.

4.1.3. *Ácido sulfúrico a 25 %:*

Ácido sulfúrico (H_2SO_4) $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$	25 g
Água q.b. para	100 ml

Deitar o ácido na água, deixar arrefecer e levar o volume a 100 ml.

4.1.4. *Goma de amido a 5 g/l:*

Diluir 5 g de amido em aproximadamente 500 ml de água. Levar a ebulição agitando e manter a ebulição durante 10 minutos. Adicionar 200 g de cloreto de sódio (NaCl). Perfazer um litro depois do arrefecimento.

- Tiosulfato de sódio, 0,1 M
- Solução de açúcar invertido a 5 g/l:
Solução a utilizar para verificar a técnica de dosagem.

Num balão graduado de 200 ml, colocar:

Sacarose pura ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	4,75 g
Água, aproximadamente	100 ml
Ácido clorídrico puro (HCl) $\rho_{20} = 1,16-1,19$ g/ml	5 ml

Mergulhar o balão em banho de água a 60° C durante o tempo suficiente para a temperatura da solução atingir 50° C, temperatura essa que se mantém durante 15 minutos. Em seguida, deixar o balão arrefecer espontaneamente durante 30 minutos; arrefecer depois por imersão num banho de água fria. Transvasar num balão graduado de 1 l, perfazer até ao litro. Esta solução conserva-se bem durante um mês. No momento da utilização, neutralizar a toma de ensaio (esta solução é, aproximadamente, 0,06M ácida), com uma solução de hidróxido de sódio.

4.2. Modo operatório

Num balão cónico de 300 ml deitar 25 ml de solução cuproalcalina, 15 ml de água e 10 ml de solução proveniente da defecação. Este volume de solução açucarada não deve conter mais de 60 mg de açúcar invertido.

Juntar alguns grãos de pedra-pomes. Adaptar ao balão um refrigerante de refluxo e levar à ebulição, que deve ser alcançada em 2 minutos. Mantê-la durante, exactamente, 10 minutos.

Arrefecer imediatamente debaixo de uma corrente de água fria. Depois do arrefecimento completo, juntar 10 ml de solução de iodeto de potássio a 30 % (4.1.2), 25 ml de ácido sulfúrico a 25 % (4.1.3) e 2 ml de goma de amido (4.1.4).

Titular com a solução 0,1M de tiosulfato de sódio (4.1.5), ou seja, no número de mililitros utilizados.

Paralelamente, efectuar uma dosagem testemunha em que 10 ml de água destilada substituem os 10 ml de solução açucarada, sendo n' o volume de tiosulfato utilizado.

4.3. Expressão dos resultados

4.3.1. Cálculos

A quantidade de açúcar, expressa em açúcar invertido, contida na toma de ensaio, é dada no quadro seguinte em função do número n' — n de mililitros de tiosulfato utilizados.

Exprimir o teor do vinho em gramas de açúcar invertido por litro com um decimal, tendo em conta as diluições efectuadas no decurso da defecação e o volume da toma de ensaio.

4.3.2. Repetibilidade

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = concentração de açúcar invertido em g/l da amostra.

4.3.3. Reprodutibilidade

$$R = 0,058 x_i$$

x_i = concentração do açúcar invertido em g/l da amostra.

Quadro de correspondência entre o volume de solução 0,1 M de tiosulfato de sódio, (n' - n) ml, e a quantidade de açúcares redutores em miligramas					
Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Açúcares redutores (em miligramas)	Diff.	Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Açúcares redutores (em miligramas)	Diferença
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. SACAROSE

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

- I. Método de pesquisa qualitativa por cromatografia em camada fina. A sacarose é separada dos outros açúcares por cromatografia em camada fina de celulose e revelada pelo reagente ureia-ácido clorídrico, em estufa a 105° C.
- II. Método de pesquisa e dosagem por cromatografia líquida de elevada resolução. A sacarose é separada numa coluna de sílica ligada com alquilamina e detectada por refractometria. A quantificação é feita relativamente a um padrão externo analisado nas mesmas condições.

Nota:

A autenticidade de um mosto ou de um vinho pode ser controlada pelo método que utiliza a RMN de deutério descrito para a detecção de enriquecimento dos mostos, mostos concentrados rectificadros e de vinhos.

Para a pesquisa e a dosagem da sacarose pode ser igualmente utilizada a cromatografia em fase gasosa descrita na alinea f) do capítulo 42.

2. MÉTODO DE PESQUISA QUALITATIVA POR CROMATOGRÁFIA EM CAMADA FINA

2.1. Material

- 2.1.1. Placas para cromatografia cobertas por uma camada fina de celulose.
- 2.1.2. *Cuba para cromatografia*
- 2.1.3. *Seringa micrométrica ou micropipeta*
- 2.1.4. *Estufa regulável a 105 ± 2° C*

2.2. Reagentes

- 2.2.1. *Carvão descorante*
- 2.2.2. *Fase móvel: cloreto de metileno-ácido acético ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) — etanol — metanol — água (50 : 25 : 9 : 6 : 10).*
- 2.2.3. *Revelador*

Ureia	5 g
Ácido clorídrico 2 M	20 ml
Etanol	100 ml

2.2.4. *Solução de referência*

Glicose	35 g
Frutose	35 g
Sacarose	0,5 g
Água q. b. para	1 000 ml

2.3. *Modo operativo*

2.3.1. *Preparação da amostra*

Quando o mosto ou o vinho são muito corados, proceder à remoção da cor tratando-os com carvão activo.

No caso do mosto concentrado rectificado, utilizar a solução cujo teor de açúcares é de 25 % (m/m) (25° Brix), preparada como indicado na capítulo «Determinação do pH», no

ponto 4.1.2, e diluí-la a um quarto, levando com água, 25 ml de amostra a um volume de 100 ml, utilizando um balão aferido.

2.3.2. *Obtenção do cromatograma*

A 2,5 cm do bordo inferior da placa depositar:

- 10µl da amostra,
- 10µl da solução de referência.

Colocar a placa na cuba para cromatografia saturada com os vapores da fase móvel e deixar migrar o líquido até 1 cm do bordo superior. Retirar a placa e secá-la sob uma corrente de ar quente. Repetir duas vezes a migração secando de cada vez a placa. Pulverizar uniformemente a placa com 15 ml do revelador e mantê-la na estufa a 105° C durante 5 minutos.

2.4. **Resultados**

A sacarose e a frutose aparecem sob a forma de manchas com cor azul escuro sobre fundo branco. A glicose dá uma mancha esverdeada menos intensa.

3. **MÉTODO DE PESQUISA E DOSAGEM POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ELEVADA RESOLUÇÃO**

As condições cromatográficas são apenas dadas a título indicativo.

3.1. **Aparelhos**

3.1.1. *Cromatógrafo de fase líquida de elevada resolução equipado com:*

1. Um injector com «loop» de 10 µl.
2. Um detector, refractómetro diferencial ou refractómetro interferómetro.
3. Uma coluna de sílica ligada a alkilamida (250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno).
4. Uma pré-coluna cheia com a mesma fase.
5. Um dispositivo de isolamento ou de termostatização a 30° C para o conjunto da pré-coluna/coluna.
6. Um registador, eventualmente um integrador.
7. Débito da fase móvel: 1 ml/min.

3.1.2. *Dispositivo de filtração com membrana (0,45µm)*

3.2. **Reagentes**

3.2.1. *Água bidestilada*

3.2.2. *Acetonitrilo (CH₃CN) de qualidade própria para HPLC*

3.2.3. *Fase móvel: acetonitrilo-água, previamente filtrados sobre membrana (0,45 µm), (80-20, v/v).*

Esta fase móvel deve ser desgaseificada antes da utilização.

3.2.4. *Solução de referência: solução aquosa de sacarose a 1,2 g/l. Filtrá-la por membrana (0,45 µm).*

3.3. Modo operativo**3.3.1. Preparação da amostra**

— Caso dos vinhos e dos mostos.
Filtrar com membrana (0,45 μm).

— Caso dos mostos concentrados rectificadados.

Utilizar a solução obtida diluindo o mosto concentrado rectificado a 40 % (m/v) como indicado na capítulo «Acidez total» em 5.1.2 e filtrá-la com membrana (0,45 μm).

3.3.2. Determinação cromatográfica

Injectar sucessivamente no cromatógrafo 10 μl da solução de referência e 10 μl da amostra preparada como indicado em 3.3.1. Repetir estas injeções na mesma ordem.

Registrar o cromatograma.

O tempo de retenção da sacarose é próximo de 10 minutos.

3.4. Cálculos

Utilizar para o cálculo a média das duas respostas quer para a solução de referência quer para a amostra.

3.4.1. Caso dos vinhos e dos mostos

Calcular o teor em g/l.

3.4.2. Caso dos mostos concentrados rectificadados

Seja C g/l o teor de sacarose da solução de mosto concentrado rectificado a 40 % (m/v).

Teor de sacarose em gramas por quilograma de mostos concentrado rectificados: $2,5 \cdot C$.

3.5. Expressão dos resultados

O teor de sacarose dos vinhos, mostos e mostos concentrados rectificadados é expresso em gramas por litro (vinhos e mostos) e em gramas por quilograma (mostos concentrados rectificadados) com um decimal.

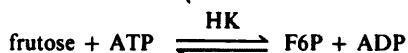
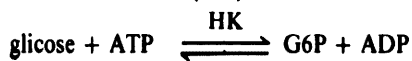
7. GLICOSE E FRUTOSE

1. DEFINIÇÃO

A glicose e a frutose podem ser doseadas individualmente por método enzimático, com vista unicamente ao cálculo da relação glicose/frutose.

2. PRINCÍPIO

A glicose e a frutose são fosforiladas pelo adenosina-trifosfato (ATP) no decurso de uma reacção enzimática-catalizada pela hexoquinase (HK) e originam glicose-6-fosfato (G6P) e frutose-6-fosfato (F6P):



Numa primeira fase o glicose-6-fosfato é oxidado em gluconato-6-fosfato pelo nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADP), em presença da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PDH). A quantidade de nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reduzido (NADPH) surgido corresponde à quantidade de glicose-6-fosfato e, portanto, à de glicose.



É o nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reduzido que é doseado tendo por base a sua absorvência a 340 nm.

Quando esta reacção termina, o frutose-6-fosfato é transformado, sob a acção da fosfoglicose-isomerase (PGI), em glicose-6-fosfato.



O glicose-6-fosfato reage de novo com o nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato para originar gluconato-6-fosfato e nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reduzido; este será doseado.

3. APARELHAGEM

- Espectrofotómetro que permita efectuar a medição a 340 nm, máximo de absorção do NADPH. Dado que se trata de medições absolutas (sem calibração, mas com referência ao coeficiente de extinção do NADPH) as escalas dos comprimentos de onda e das absorvências do aparelho devem ser controladas.

Na ausência, utilizar um espectrofotómetro de espectro descontínuo que permita efectuar medições a 334 nm ou a 365 nm,

- Cubas de vidro de 1 cm de trajecto óptico ou cubas de utilização única,
- Pipetas para teste enzimático de 0,02 - 0,05 - 0,1 - 0,2 ml.

4. REAGENTES

- 4.1. **Solução 1:** tampão (trietanolamina 0,3 M; pH = 7,6; $4 \cdot 10^{-3}$ M em Mg^{2+}): 11,2 g de cloridrato de trietanolamina ($\text{C}_2\text{H}_5\text{N} \cdot \text{HCl}$) e 0,2 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ são dissolvidos em 150 ml de água bidestilada; adicionar aproximadamente 4 ml da solução 5 M de hidróxido de sódio (NaOH) para obter um pH de 7,6 e levar o volume a 200 ml.

Esta solução tampão pode conservar-se 4 semanas a $+4^\circ\text{C}$.

- 4.2. **Solução 2:** solução de nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (cerca de $11,5 \cdot 10^{-3}$ M: dissolvem-se 50 mg de nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato-dissódico em 5 ml de água bidestilada.

A solução conserva-se a +4 °C durante 4 semanas.

- 4.3. **Solução 3:** solução de adenosina-5'-trifosfato (aproximadamente $81 \cdot 10^{-3}M$: são dissolvidos 250 mg de adenosina-5'-trifosfato dissódico e 250 mg de hidrogenocarbonato de sódio ($NaHCO_3$) em 5 ml de água bidestilada.

Esta solução conserva-se durante 4 semanas a +4 °C.

- 4.4. **Solução 4:** Hexoquinase/glicose-6-fosfato-desidrogenase : misturar 0,5 ml de hexoquinase (2 mg de proteína/ml ou seja 280 U/ml) e 0,5 ml de glicose-6-fosfato-desidrogenase (1 mg de proteína por ml).

A solução conserva-se durante um ano a +4 °C.

- 4.5. **Solução 5:** Fosfoglicose-isomerase (2 mg de proteína por ml, ou seja 700 U/ml). A suspensão é utilizada sem diluição.

A solução conserva-se um ano a +4 °C.

Nota:

O conjunto dos reagentes necessários para este doseamento está comercializado.

5. MODO OPERATÓRIO

5.1. Preparação da amostra

Em função da quantidade estimada de glicose + frutose por litro, efectuar as seguintes diluições:

Medição a 340 e 334 nm	365 nm	Diluição com água	Factor F de diluição
Até 0,4 g/l	0,8 g/l	—	—
Até 4,0 g/l	8,0 g/l	1 + 9	10
Até 10,0 g/l	20,0 g/l	1 + 24	25
Até 20,0 g/l	40,0 g/l	1 + 49	50
Até 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 99	100
acima de 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1 000

5.2. Dosagem

Com o espectrofotómetro regulado no comprimento de onda 340 nm, efectuar as medições em relação ao ar (sem cuba no trajecto óptico) ou em relação à água.

Temperatura 20 a 25 °C.

Em 2 cubas de 1 cm de trajecto óptico, introduzir:

	Testemunha	Dosagem
Solução 1 (4.1) (referida a 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Solução 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Solução 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Amostra a dosear	—	0,20 ml
Água bidestilada	0,20 ml	—

Misturar e, depois de aproximadamente 3 minutos, ler a absorvência das soluções (A_1). Desencadear a reacção adicionando:

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

Misturar; esperar 15 minutos; efectuar a medição da absorvência e verificar a paragem da reacção após 2 minutos. (A_2).

Adicionar imediatamente:

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

Misturar; efectuar a leitura ao fim de 10 minutos; verificar a paragem da reacção após 2 minutos. (A_3).

Determinar as diferenças de absorvência:

— $A_2 - A_1$ corresponde à glicose,

— $A_3 - A_2$ corresponde à frutose.

Para a testemunha e para a dosagem.

Deduzir a diferença de absorvência da testemunha (ΔA_T) e a do doseamento (ΔA_D) e estabelecer:

para a glicose: $\Delta A_G = \Delta A_D - \Delta A_T$

para a frutose: $\Delta A_F = \Delta A_D - \Delta A_T$.

Nota:

O tempo necessário para a acção dos enzimas pode variar de um lote para outro. Ele só é dado aqui a título indicativo. Recomenda-se que seja determinado, sempre, para cada lote.

5.3. Expressão dos resultados

5.3.1. Cálculo

A fórmula geral para o cálculo das concentrações é a seguinte:

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

V = volume do teste (ml)

v = volume da amostra (ml)

PM = massa molecular da substância a dosear

d = trajecto óptico da cuba (cm)

ϵ = coeficiente de absorção do NADPH a 340 nm = 6,3 (mmole⁻¹ · l · cm⁻¹)

V = 2,92 ml para o doseamento da glicose

V = 2,94 ml para o doseamento da frutose

v = 0,20 ml

PM = 180

d = 1

Obtém-se:

para a glicose: $C_g/l = 0,417 \cdot \Delta A_G$

para a frutose: $C_g/l = 0,420 \cdot \Delta A_F$

Se tiver sido efectuada uma diluição aquando da preparação da amostra, multiplicar o resultado pelo factor F.

Nota:

Se as medidas forem feitas nos comprimentos de onda 334 ou 365 nm, obtém-se:

— medida a 334 nm: $\epsilon = 6,2$ (mmole · l · cm⁻¹)

para a glicose: $C_g/l = 0,425 \cdot \Delta A_G$

para a frutose: $C_g/l = 0,428 \cdot \Delta A_F$

— medida a 365 nm: $\epsilon = 3,4$ (mmole · l · cm⁻¹)

para a glicose: $C_g/l = 0,773 \cdot \Delta A_G$

para a frutose: $C_g/l = 0,778 \cdot \Delta A_F$

5.3.2. Repetibilidade (r)

$r = 0,056 x_i$

5.3.3. Reprodutibilidade (R)

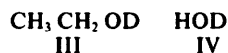
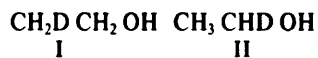
$R = 0,12 + 0,076 x_i$

x_i = teor em glicose ou frutose em g/l

8. DETECÇÃO DO ENRIQUECIMENTO DOS MOSTOS DE UVAS, MOSTOS DE UVAS CONCENTRADOS, MOSTOS DE UVAS CONCENTRADOS RECTIFICADOS E DE VINHOS POR APLICAÇÃO DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DO DEUTÉRIO (RMN-FINS/SNIF-NMR)

1. DEFINIÇÃO

Os átomos de deutério existentes nos açúcares e na água de um mosto de uma uva vão ser redistribuídos após a fermentação nas moléculas I, II, III e IV do vinho:



A adição de açúcares exógenos (chaptalização) antes da fermentação do mosto reflectir-se-á na redistribuição do deutério.

Por comparação com os valores dos parâmetros relativos a um vinho testemunha natural da mesma região, o enriquecimento com um açúcar exógeno traduzir-se-á pelas seguintes variações:

Vinho	Parâmetros	(D/H) _I	(D/H) _{II}	(D/H) _W ^Q	R
— Natural		→	→	→	→
— Enriquecido					
— açúcar de beterraba	}	→	→	→	→
— açúcar de cana		→	→	→	→
— açúcar de milho		→	→	→	→

(D/H)_I : relação isotópica associada à molécula I

(D/H)_{II} : relação isotópica associada à molécula II

(D/H)_W^Q : relação isotópica da água do vinho.

$R = 2(D/H)_{II}/(D/H)_I$, exprime a distribuição relativa do deutério nas moléculas I e II; R é medido directamente a partir das intensidades h dos picos sendo $R = 3h_{II}/h_I$.

(D/H)_I, caracteriza principalmente a espécie vegetal que sintetizou o açúcar e, em menor grau, a geografia do local de colheita (natureza da água utilizada no decurso da fotossíntese).

(D/H)_{II} representa a climatologia do local de produção das uvas (natureza da água da chuva e condições meteorológicas) e, em menor grau, a concentração em açúcares do mosto inicial.

(D/H)_W^Q representa a climatologia do local de produção e a riqueza em açúcares do mosto inicial.

2. PRINCÍPIO

A determinação dos parâmetros anteriormente definidos [determinação de R, (D/H)_I, (D/H)_{II}], é efectuada por RNM do deutério no etanol extraído do vinho ou dos produtos da fermentação do mosto, do mosto concentrado ou do mosto concentrado rectificado obtidos em determinadas condições e é eventualmente completada pela determinação da relação isotópica da água extraída do vinho (D/H)_W^Q e pela determinação da relação isotópica ¹³C/¹²C do etanol.

Enquanto se espera a constituição de um banco de dados comunitário;

- no caso dos vinhos, as recolhas de controlo efectuadas nas zonas de produção devem ser acompanhadas por recolhas de amostras testemunhas naturais (pelo menos três) da mesma origem (local geográfico e colheitas); estas diversas colheitas são efectuadas em três exemplares.
- no caso dos mostos, mostos concentrados, mostos concentrados rectificados, as amostras testemunhas (pelo menos três) são constituídas por mostos naturais da mesma origem (local geográfico e colheita).

Para o controlo dos produtos elaborados no seu próprio território, e até que se constitua um banco de dados comunitário, os Estados-membros podem utilizar um banco de dados nacional provisório.

3. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA PARA ANÁLISE

3.1. Extracção do etanol e da água do vinho

Nota: Pode ser utilizado qualquer dispositivo de extracção do etanol desde que permita recuperar de 98 a 98,5 % do etanol do vinho ou do produto fermentado num destilado cujo teor será de 92 a 93 % mas (95 % vol.).

3.1.1. *Aparelhagem e reagentes*

Dispositivo para a extracção do etanol (fig. 1) constituído por:

- Placa de aquecimento eléctrico regulável,
 - Balão esmerilado de 1 l,
 - Coluna Cadiot de banda giratória (móvel em Teflon),
 - Balões cónicos esmerilados de 125 ml,
 - Frascos de rolha plástica de 125 e 60 ml.
- Reagentes para a dosagem da água segundo a técnica de Karl Fischer (por exemplo Merck 9241 e 9243).

3.1.2. *Modo operativo*

3.1.2.1. Determinar o título alcoométrico do vinho, t^v , com a uma aproximação igual ou superior a 0,05 % vol.

3.1.2.2. Extracção do etanol

Introduzir uma toma homogénea de 500 ml de vinho de título alcoométrico t^v no balão do aparelho de destilação com uma taxa de refluxo constante de, aproximadamente, 0,9. Colocar um balão cónico esmerilado de 125 ml, previamente tarado, para receber o destilado. Recolher do líquido em ebulição, entre 78,0 e 78,2 °C, aproximadamente, 40 a 60 ml. Quando a temperatura exceder 78,5 °C parar a recolha durante 5 minutos.

Quando a temperatura voltar a 78 °C recolher de novo o destilado até 78,5 °C e repetir esta operação até que a temperatura, após paragem da recolha e funcionamento em circuito fechado, não volte a descer. A destilação completa dura cerca de 5 horas. Este procedimento permite recuperar entre 98 a 98,5 % do álcool total do vinho num destilado que apresenta um título alcoométrico entre 92 e 93 % mas (95 % vol.), título para o qual as condições RMN descritas no nº 4 foram estabelecidas.

O etanol recuperado é pesado.

É conservada num frasco de 60 ml uma toma de ensaio homogénea de 60 ml das fracções finais de destilação que representa a água do vinho. A sua relação isotópica será eventualmente determinada.

Nota: Se se dispõe dum espectómetro equipado com uma sonda de 10 mm (cf. 4), é suficiente uma toma homogénea de 300 ml de vinho.

3.1.2.3. Determinação do título alcoométrico do álcool extraído

Pelo método de Karl Fischer, determina-se a massa de água, p^g , existente numa toma de ensaio de cerca de 0,5 ml de álcool de massa p , conhecida com exactidão.

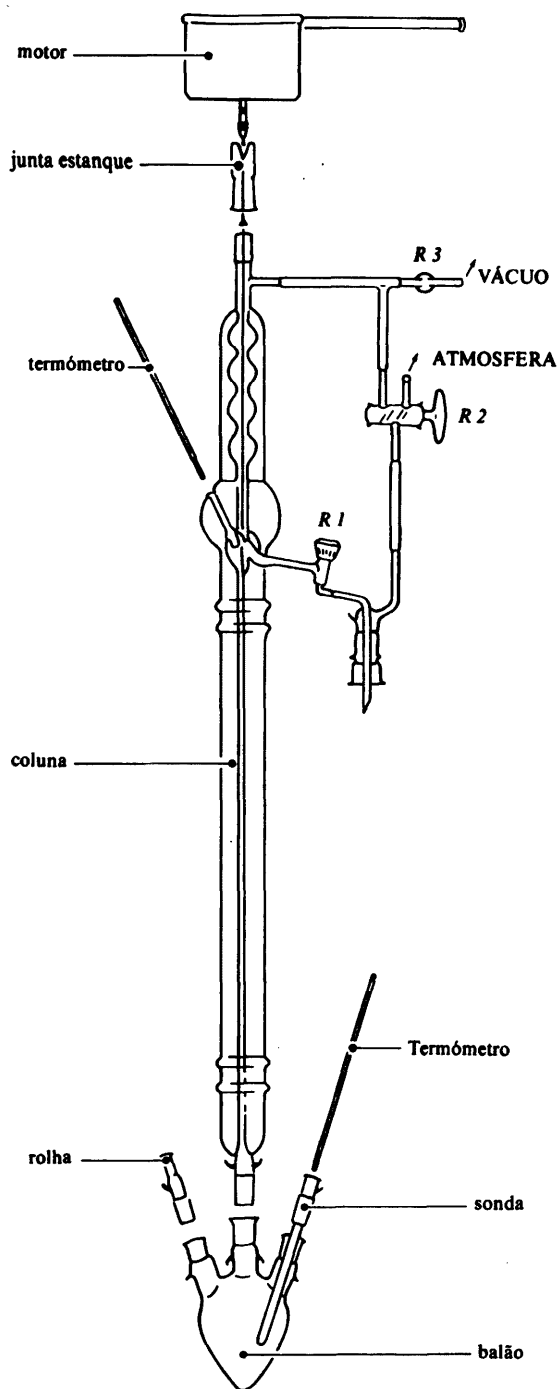


Figura 1

Dispositivo para extracção do etanol

O teor mássico de etanol é dado por:

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

3.2. Fermentação dos mostos, mostos concentrados e mostos concentrados rectificadoss

3.2.1. Material e reagentes

- Ácido tartárico,
- Bacto Yeast Nitrogen (Base without amino acids) DIFCO,
- Leveduras secas activas (*Saccharomyces cerevisiae*).

Se se conhecer a relação isotópica da água do mosto, podem reactivar-se as leveduras, previamente à inoculação durante 15 minutos num mínimo de água morna (1 g em 50 ml) não destilada, que tenha uma relação isotópica vizinha à da água do mosto.

Quando não se conhecer a relação isotópica da água do mosto, é preferível inocular directamente.

A quantidade de leveduras secas a utilizar é da ordem de 1 g ou seja à volta de 10^{10} células para 1 l de mosto.

Recipiente para a fermentação, com uma capacidade de 1,5 l, munido de um dispositivo que permita operar ao abrigo do ar e condensar os vapores do álcool, pois não é tolerável a perda de etanol durante a fermentação. A taxa de conversão dos açúcares fermentescíveis em etanol deve ser superior a 98 %.

3.2.2. *Modo operativo*

3.2.2.1. Caso dos mostos

— Mostos frescos

Colocar 1 l de mosto cuja concentração em açúcares redutores fermentescíveis foi previamente determinada, no recipiente previsto para a fermentação. Adicionar 1 g de leveduras secas previamente reactivadas. Instalar um dispositivo que permita operar ao abrigo do ar. Conduzir a fermentação a uma temperatura próxima de 20 °C até ao esgotamento dos açúcares. Após determinação do título alcoométrico do produto da fermentação e cálculo da taxa de conversão dos açúcares em álcool, o líquido fermentado obtido é centrifugado e submetido à destilação para extrair o etanol.

— Mostos amuados com dióxido de enxofre

Dessulfitar um volume de mosto ligeiramente superior a 1 l (1,2 l) fazendo borbulhar uma corrente de azoto no mosto levado a banho-maria com refluxo, a 70-80 °C, até que o teor total em dióxido de enxofre seja inferior a 200 mg/l. Evitar provocar qualquer concentração de mosto por evaporação da água, utilizando para tal um refrigerante eficaz.

Colocar 1 l de mosto dessulfitado num recipiente para fermentação e prosseguir tal como é indicado para os mostos frescos.

Nota: Se se tiver utilizado metabissulfito de potássio para sulfitar o mosto, é necessário, antes de dessulfitar, adicionar ao mosto ácido sulfúrico à razão de 0,25 ml de ácido sulfúrico concentrado ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) por grama de metabissulfito utilizado em cada litro de mosto.

3.2.2.2. Caso dos mostos concentrados

No recipiente para fermentação, colocar um volume V ml de mosto concentrado contendo uma quantidade conhecida de açúcar, próxima de 170 g. Perfazer o volume de 1 l com (1 000-V) ml de água com a mesma relação isotópica que a água do mosto natural testemunha. Inocular como está indicado em 3.2.1, adicionar 3 g de Bacto Yeast Nitrogen (Base Without amino acids) DIFCO. Homogeneizar e prosseguir como anteriormente.

3.2.2.3. Caso dos mostos concentrados rectificadados

Proceder segundo a técnica descrita no ponto 3.2.2.2, perfazendo o volume de 1 l com (1 000-V) ml de água com a mesma relação isotópica que a água do mosto natural testemunha, no qual serão dissolvidos 3 g de ácido tartárico.

Nota: Reservar um volume de 50 ml de amostra de mosto, de mosto dessulfitado ou do mosto concentrado, ou de mosto concentrado rectificado com vista à eventual extracção de água e à determinação da sua relação isotópica (D/H)_∞.

A extracção da água dos mostos poderá ser feita muito simplesmente através da destilação azeotrópica com tolueno.

3.3. Preparação da amostra de álcool para a medida RMN

3.3.1. Reagentes

N,N-tetrametilureia (TMU); utilizar uma amostra de TMU de referência de relação isotópica D/H dada e controlada. Esta amostra pode ser fornecida por:

- Direcção-Geral da Ciência, Investigação e Desenvolvimento,
Gabinete Comunitário de Referência,
Rue de la Loi 200,
B-1049 Bruxelas.

3.3.2. Modo operativo

- Sonda RMN de 15 mm de diâmetro:

Num frasco previamente tarado, introduzir 7 ml do álcool obtido como em 3.1.2 e pesá-lo com uma aproximação de 0,1 mg, ou seja m_A ; colher, em seguida, 3 ml do padrão interno (TMU) e pesar com uma aproximação de 0,1 mg, ou seja m_u . Homogeneizar a mistura por agitação,

- Sonda RMN de 10 mm de diâmetro:

São suficientes 3,2 ml de álcool e 1,3 ml de TMU. Conforme o tipo de espectómetro e de sonda utilizados (Cf. nº 4), adicionar uma quantidade suficiente de hexafluorobenzeno como substância da estabilização campo-frequência (*lock*).

Espectómetro	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. Preparação da amostra de água para a medida de RMN, com vista à eventual determinação da sua relação isotópica

3.4.1. Reagentes

N,N-tetrametilureia (TMU) : ver ponto 3.3.1.

3.4.2. Modo operativo

Num frasco tarado, introduzir 3 ml de água obtida como em 3.1.2 ou 3.2 (nota). Pesá-los a 0,1 mg aproximadamente, ou seja m'_E ; introduzir em seguida 4 ml do padrão interno (TMU) e pesá-los a 0,1 mg aproximadamente, ou seja m'_u . Homogeneizar por agitação.

Nota: Se o laboratório dispuser de um espectómetro de massa de relações isotópicas, esta medida poderá ser determinada com este aparelho, de modo a aligeirar a carga do espectómetro RMN, dado que é necessário calibrar a relação T_{IV} (5.2) para cada série de vinhos estudados.

4. REGISTO DO ESPECTRO RMN 2H DO ÁLCOOL E DA ÁGUA

Determinação dos parâmetros isotópicos.

4.1. Material

- Espectómetro RMN munido de um sonda específica «deutério» regulado na frequência característica, do campo B_0 (por exemplo, para $B_0 = 7,05$ T, $V_0 = 46,05$ MHz e para $B_0 = 9,4$ T, $V_0 = 61,4$ MHz), possuidor de um canal de separação do próton B_2 e de um canal de estabilização campo-frequência (*lock*) na frequência do

flúor. A resolução, medida sobre o espectro, transformada sem multiplicação exponencial (isto é, $LB = 0$) (fig. 2b) e expressa pela largura medida a meia altura dos picos de metilo e metileno do etanol e do pico metilo do TMU, deve ser inferior a 0,5 Hz.

A sensibilidade medida com um factor de multiplicação exponencial LB igual a 2 (fig. 2a) deve ser igual ou superior a 150 para o pico metilo do etanol com teor alcoólico 95 % vol (93,5 % mas). Nestas condições, o intervalo de confiança da medida da altura do pico calculado com uma probabilidade de 97,5 % (teste a 1 aile) e 10 repetições do espectro, é de 0,35 %.

- Dispositivo de troca automática de amostras (eventualmente),
- Equipamento para o tratamento de dados,
- Tubos de amostras de 15 mm ou 10 mm, consoante a «performance» do espectómetro.

4.2. Regulação do espectómetro e verificações

4.2.1. Regulação

Proceder às regulações habituais da homogeneidade e da sensibilidade, segundo as indicações do fabricante.

4.2.2. Verificação da validade das regulações

Utilizar etanóis de referência designados pelas letras C (etanol da cana do açúcar), V (etanol do vinho), B (etanol da beterraba), que apresentem um teor isotópico diferente, mas precisamente calibrado. O seu significado é o seguinte: C — álcool de cana de açúcar ou de milho; V — álcool de vinho e B — álcool de beterraba. Estas amostras são fornecidas pelo «Bureau communautaire de référence».

Seguindo o modo operatório descrito em 4.3 determinar os valores isotópicos dos álcoois já designados, anotando C_{mes} , V_{mes} , B_{mes} (ver 5.3)

Compará-los com os valores de referência correspondentes, designados anotando C_{st} , B_{st} , V_{st} (ver 5.3).

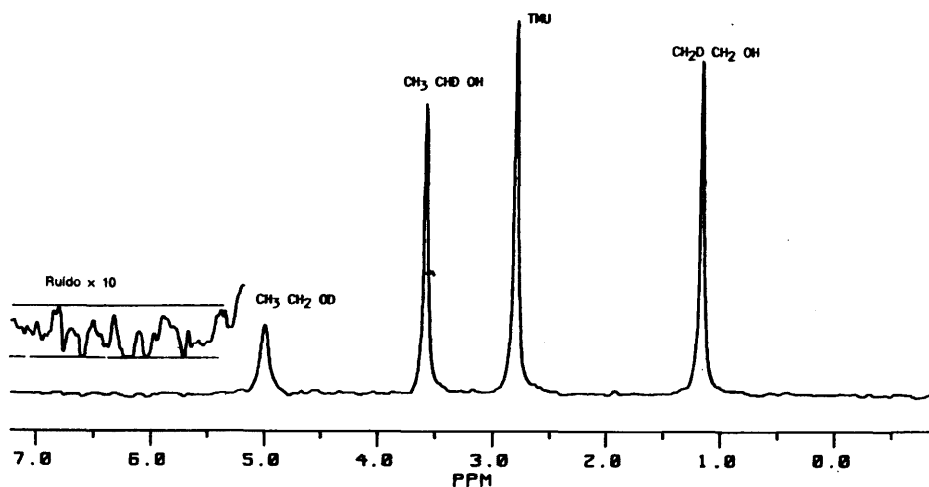


Figura 2a

Espectro RMN 1H de um etanol de vinho com um padrão interno (TMU : N,N-tetrametilureia)

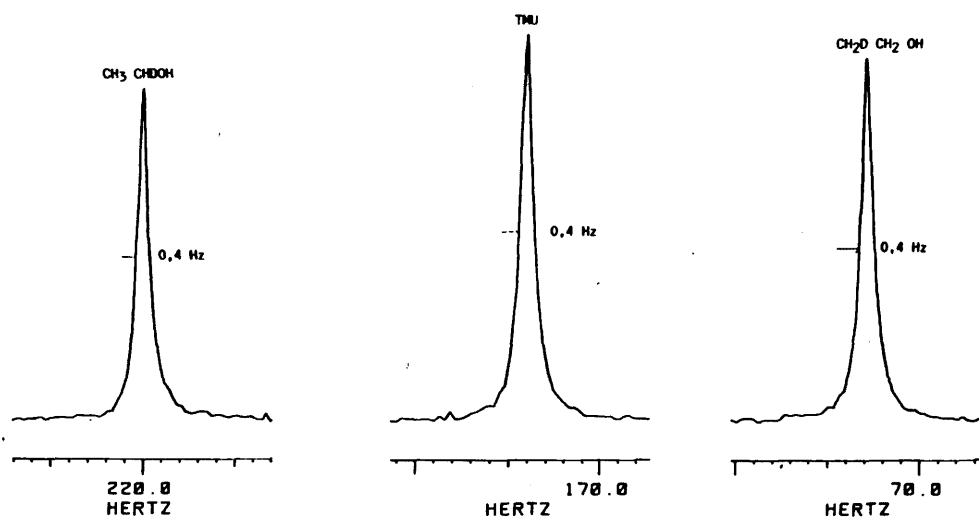


Figura 2b

Espectro ^2H do etanol realizado nas mesmas condições que as da figura 2a, mas sem multiplicação exponencial ($\text{LB} = 0$)

O desvio-padrão da repetibilidade obtido com a média de 10 repetições de cada espectro deve ser inferior a 0,01 para a relação R e inferior a 0,3 ppm para $(\text{D}/\text{H})_i$ e $(\text{D}/\text{H})_{ii}$.

Os valores médios obtidos para os diferentes parâmetros isotópicos [R , $(\text{D}/\text{H})_i$, $(\text{D}/\text{H})_{ii}$] devem situar-se no desvio-padrão da repetibilidade correspondente, dado, para estes parâmetros, para os três álcoois de referência, pelo «Bureau communautaire de référence». Caso contrário, refazer as regulações.

4.3. Condições de obtenção dos espectros RMN

Colocar a amostra de álcool preparada como em 3.3 (ou a amostra de água preparada em 3.4) num tubo de 10 ou 15 mm e introduzir na sonda.

As condições de aquisição de espectros RMN são as seguintes:

- a temperatura da sonda deve ser constante (por exemplo 302 K),
- tempo de aquisição de 6,8 s, pelo menos, para 1200 Hz de largura do espectro. (Memória 16K) a 61,4 Mz, isto é, aproximadamente 20 ppm a 61,4 MHz ou 27 ppm a 46,1 MHz,
- impulsão: 90° ,
- regular o prazo da aquisição; o seu valor deve ser da mesma ordem de grandeza que o tempo de amostragem (*dwell time*),
- detecção em quadratura: fixar o «offset» 01 entre os sinais de referência -OD e -CHD para o etanol e entre os sinais de referência HOD e TMU para a água,
- determinar o valor do «offset» de separação 02 a partir do espectro protónico medido pela bobina de separação no mesmo tubo. É obtida uma boa separação quando O_2 se situar no meio do intervalo de frequência existente entre os grupos CH_3 - e $-\text{CH}_2$ -. Utilizar o método de separação por banda larga.

Efectuar um número NS suficiente de acumulações para cada espectro a fim de obter a relação sinal/ruído dado em n.º 4-1 e repetir NE = 10 vezes esta série de NS acumulações. Os valores de NS dependem do tipo de espectómetro e da sonda utilizados (cf. n.º 4) e escolher-se-á, por exemplo:

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

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Caso do etanol

Para cada um dos 10 espectros determinar (ver espectro RMN do etanol, fig. 2a):

Determinar:

$$- R = 3 \frac{h_{II}}{h_I} = 3 \cdot \frac{\text{altura do pico II (CH}_3\text{ CHD OH)}}{\text{altura do pico I (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}$$

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

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

sendo

$$- T_I = \frac{\text{altura do pico I (CH}_2\text{D CH}_2\text{ OH)}}{\text{altura do pico do padrão interno (TMU)}}$$

$$- T_{II} = \frac{\text{altura do pico II (CH}_3\text{T CHD OH)}}{\text{altura do pico do padrão interno (TMU)}}$$

— CH₃ CHDOH m_{SI} e m_A ver 3.3.2

— t_m^D ver 3.1.2.3.

— (D/H)_{SI} = relação isotópica do padrão interno

(TMU) indicado no frasco fornecido pelo «Bureau communautaire de référence» (BCR).

A utilização das alturas dos sinais, dado que tem mais precisão do que as áreas mensuráveis, pressupõe larguras de pico a meia-altura iguais, o que é uma aproximação razoável (figura 2b).

5.2. Caso da água

Quando a relação isotópica da água é determinada por RMN, a partir da mistura água — TMU, utiliza-se a seguinte relação:

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

sendo

$$- T_{IV} = \frac{\text{Área do pico (HOD) da água extraída do vinho}}{\text{Área do pico do padrão interno (TMU)}}$$

— m'_{SI} e m'_E ver 3.4.2,

— (D/H)_{SI} = relação isotópica do padrão interno (TMU) indicado no frasco fornecido pelo «Bureau communautaire de référence» (BCR).

5.3. Para cada um dos parâmetros isotópicos, calcular a média de 10 determinações e o intervalo de confiança.

É possível efectuar estes cálculos em série utilizando um equipamento de tratamento de dados adaptável ao computador do espectómetro (Exemplo: RMN-FINS).

Nota: Se após a regulação do espectómetro, existir um desvio sistemático entre os valores médios obtidos para as características isotópicas dos álcoois de referência (4.2.2) e os valores indicados pelo «Bureau communautaire de référence», com uma aproximação ao desvio-padrão, pode aplicar-se a correcção seguinte para encontrar o valor verdadeiro numa amostra X, qualquer.

A interpolação efectuar-se-á tomando os valores das amostras de referência que enquadram as da amostra X.

Sendo $(D/H)_i^{X_{mes}}$ o valor medido e $(D/H)_i^{X_{corr}}$ o valor corrigido, ter-se-á:

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

$$\text{com } \alpha = \frac{(D/H)_i^{Y_{st}} - (D/H)_i^{B_{st}}}{(D/H)_i^{Y_{mes}} - (D/H)_i^{B_{mes}}}$$

Exemplo:

Amostras de referência fornecidas e padronizadas pelo Gabinete Comunitário de Referências:

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

Amostras de referência analisadas pelo laboratório:

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

Amostra suspeita, não corrigida

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

$$\text{Calcula-se } \alpha = 1,0255 \text{ e } (D/H)_i^{X_{corr}} = 99,3 \text{ ppm.}$$

6. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Comparar o valor R^X obtido para a relação R da amostra suspeita com as relações obtidas para os vinhos testemunha. Se R^X se afastar mais de 2 desvios-padrão do valor médio R^T obtido para os vinhos testemunha, deve presumir-se que houve adulteração.

6.1. Enriquecimento com açúcar de beterraba, açúcar de cana ou glicose de milho

6.1.1. Caso dos vinhos

R^X superior a R^T : suspeita de adição de açúcar de beterraba.

R^X inferior a R^T : suspeita de adição de açúcar de cana ou de açúcar de milho.

Notar que $(D/H)_i^X$ e $(D/H)_i^{Q^X}$ se apresentam aumentados.

Examinar $(D/H)_i^X$. Existe suspeita de:

— enriquecimento com açúcar de beterraba:

$(D/H)_i^X$ da amostra suspeita é inferior a $(D/H)_i^T$, valor médio obtido para as amostras testemunhas, em mais de um desvio-padrão da medição,

— enriquecimento com açúcar de cana ou açúcar de milho:

$(D/H)_i^X$ é superior a $(D/H)_i^T$, em mais de um desvio-padrão.

Cálculo de enriquecimento, E, expresso em % vol. de etanol:

— Caso de um enriquecimento com açúcar de beterraba:

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

$(D/H)_i^B$ = relação isotópica para a situação I do álcool de beterraba:

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

t^v = título alcoométrico do vinho analisado (X).

— Caso de um enriquecimento com açúcar de cana ou de milho:

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

(¹) Estes valores são dados, enquanto se espera a constituição de um banco de dados comunitário.

$(D/H)_f^c$ = relação isotópica para a situação do álcool de cana de açúcar ou de milho: $(D/H)_f^c = 110,5$ ⁽¹⁾,

t^v = título alcoométrico do vinho analisado (X).

6.1.2. *Caso dos mostos, mostos concentrados e mostos concentrados rectificados*

Os valores dos parâmetros isotópicos do álcool extraído, como indicado em 3.1, do produto fermentado obtido (3.2) a partir do mosto, mosto concentrado e mosto concentrado rectificado são examinados, de acordo com as prescrições do ponto 6. «Interpretação dos resultados», ponto 6.1.1, comparativamente ao álcool extraído do produto de fermentação dos mostos naturais testemunha.

O enriquecimento, E % vol, exprime o volume de álcool adicionado ao produto fermentado. Conhecendo a diluição eventualmente efectuada antes da fermentação (mostos concentrados e mostos concentrados rectificados) e admitindo que 16,83 g de açúcar dão origem a 1 % vol de álcool, calcular a quantidade, em massa, de açúcar adicionado por litro de mosto, mosto concentrado ou mosto concentrado rectificado.

6.2. **Enriquecimento com uma mistura de açúcar de beterraba e de açúcar de cana ou de glicose de milho**

As relações isotópicas $(D/H)_f$ e R são menos alteradas do que no caso do enriquecimento com um único tipo de açúcar.

$(D/H)_{f1}$ é aumentado, bem como $(D/H)_w^Q$.

A confirmação destas adições pode ser feita através da determinação da relação $^{13}C/^{12}C$ do etanol por espectrometria de massa; neste caso, essa relação é aumentada.

⁽¹⁾ Estes valores são dados, enquanto se espera a constituição de um banco de dados comunitário.

9. CINZAS

1. DEFINIÇÃO

Chama-se cinzas ao conjunto dos produtos da incineração do resíduo da evaporação do vinho, conduzida de modo a obter a totalidade dos catiões (excluindo o amónio) sob a forma de carbonatos e outros sais minerais anidros.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Incineração do extracto do vinho conduzida entre 500 °C e 550 °C até à combustão completa do carbono.

3. APARELHAGEM E UTENSÍLIOS

- 3.1. Banho de água a 100 °C.
- 3.2. Balança sensível a 1/10 de miligrama.
- 3.3. Placa de aquecimento ou evaporador de infra-vermelho.
- 3.4. Forno eléctrico com regulação da temperatura.
- 3.5. Exsicador.
- 3.6. Cápsula de platina de 70 mm de diâmetro e 25 mm de altura de fundo plano.

4. MODO OPERATÓRIO

Colocar 20 ml de vinho numa cápsula de platina, previamente tarada (P_0 g). Evaporar em banho de água a 100 °C e aquecer o resíduo numa placa de aquecimento a 200 °C ou debaixo do evaporador de infra-vermelho até à carbonização. Quando o resíduo não emitir vapor, colocar a cápsula no forno eléctrico levado a 525 °C \pm 25 °C. Após 15 min. de carbonização, retirar a cápsula do forno, juntar 5 ml de água destilada que se evapora em banho de água ou debaixo do evaporador de infra-vermelho, e aquecer de novo a 525 °C durante dez minutos.

Se a combustão das partículas carbonizadas não for total, recommear as operações de lavagem das partículas carbonizadas, de evaporação de água e de incineração.

Em relação aos vinhos ricos em açúcares, recomenda-se a adição de algumas gotas de óleo vegetal puro ao extracto, antes da primeira incineração, para evitar o transbordar do conteúdo.

Após arrefecimento no exsicador, a cápsula é pesada, sendo P_1 g.

O peso de cinzas correspondente à toma de ensaio é: $p = (P_1 - P_0)$ g.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Modo de cálculo

O peso p das cinzas expresso em gramas por litro com dois decimais é: $P = 50 \cdot p$.

10. ALCALINIDADE DAS CINZAS**1. DEFINIÇÃO**

Chama-se alcalinidade das cinzas à soma dos catiões, com excepção do amónio, combinados com os ácidos orgânicos do vinho.

2. FUNDAMENTO DO MÉTODO

Titulação, em presença de metil-laranja, das cinzas solubilizadas a quente por um excesso conhecido de ácido titulado.

3. REAGENTES E MATERIAL

- 3.1. Solução 0,05 M de ácido sulfúrico (H_2SO_4).
- 3.2. Solução 0,1 M de hidróxido de sódio (NaOH).
- 3.3. Solução de metil-laranja a 0,1 g p. 100 ml em água destilada.
- 3.4. Banho de água a 100 °C.

4. MODO OPERATÓRIO

Na cápsula de platina que contém as cinzas de 20 ml de vinho, colocar 10 ml de solução 0,05 M de ácido sulfúrico (3.1); colocar num banho de água a 100 °C durante aproximadamente 15 min., esmagando o resíduo com uma vareta de vidro para activar a dissolução. Em seguida, juntar duas gotas de solução de metil-laranja e titular o excesso de ácido sulfúrico com a solução de hidróxido de sódio (3.2) até à viragem do indicador para amarelo.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Modo de cálculo

A alcalinidade das cinzas, expressa em miliequivalentes por litro, com um decimal é:

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

n = número de mililitros de hidróxido de sódio 0,1 M.

11. CLORETOS

1. FUNDAMENTO DO MÉTODO

Os cloretos são doseados directamente no vinho por potenciometria utilizando o eléctrodo Ag/AgCl.

2. APARELHAGEM

- 2.1. Medidor de pH milivoltímetro graduado de 2 em 2 mV, pelo menos.
- 2.2. Agitador magnético.
- 2.3. Eléctrodo Ag/AgCl, com uma solução saturada de nitrato de potássio como electrólito.
- 2.4. Microbureta graduada em 1/100 de ml.
- 2.5. Cronómetro.

3. REAGENTES

- 3.1. Solução-padrão de cloretos; dissolvem-se em água destilada 2,1027 g de cloreto de potássio, KCl (max. 0,005 % ° Brix), desidratados antes da utilização por conservação durante alguns dias num exsiccador; perfazer um litro; 1 ml desta solução contém 1 mg de Cl⁻.
- 3.2. Solução titulada de nitrato de prata: dissolvem-se 4,7912 g de nitrato de prata, AgNO₃, para análise e perfaz-se 1 litro com uma solução alcoólica a 10 p. 100 (v/v): 1 ml desta solução corresponde a 1 mg de Cl⁻.
- 3.3. Ácido nítrico puro a, pelo menos, 65 p. 100 ($\rho_{20} = 1,40$ g/ml).

4. MODO OPERATÓRIO

- 4.1. Introduzem-se 5,0 ml de solução-padrão de cloretos num vaso cilíndrico de 150 ml colocado sobre um agitador magnético, dilui-se até cerca de 100 ml com água destilada e acidifica-se com 1,0 ml de ácido nítrico a 65 p. 100, no mínimo. Depois de se mergulhar o eléctrodo, titular, adicionando com a microbureta, a solução titulada de nitrato de prata, agitando moderadamente. As adições efectuadas são de início de 1,00 ml para os quatro primeiros ml; ler os valores correspondentes em milivolts. Seguidamente, adicionar os 2 ml seguintes por fracções de 0,20 ml; por fim, retomar as adições por fracções de 1 ml até que se tenha deitado 10 ml no total. Após cada adição, esperar cerca de 30 s antes de efectuar a leitura dos milivolts correspondentes. Registrar os valores obtidos em papel milimétrico, em função dos mililitros de solução titulada correspondentes e determinar o potencial do ponto de equivalência segundo o ponto de inflexão da curva obtida.
- 4.2. Introduzem-se 5 ml da solução-padrão de cloretos num vaso cilíndrico de 150 ml, bem como 95 ml de água destilada e 1 ml de ácido nítrico a 65 p. 100, no mínimo. Mergulhar o eléctrodo e titular, agitando até à obtenção do potencial do ponto de equivalência. Repete-se esta determinação até que se tenha obtido uma boa concordância dos resultados. É necessário efectuar este controlo antes de cada série de doseamentos de cloretos nas amostras.
- 4.3. Deitam-se 50 ml de vinho a analisar num vaso cilíndrico de 150 ml. Adicionam-se 50 ml de água destilada e 1 ml de ácido nítrico a, pelo menos, 65 p. 100 e titula-se como indicado em 4.2.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Cálculos

Se n representar o número de mililitros de solução titulada de nitrato de prata, o teor em cloreto de líquido estudado é:

- 20 × n expresso em miligramas de Cl por litro,
 0,5633 × n expresso em miliequivalentes por litro,
 32,9 × n expresso em miligramas de cloreto de sódio por litro.

5.2. **Repetibilidade (r):**

- r = 1,2 mg de Cl por litro
 r = 0,03 mé/l
 r = 2,0 mg NaCl/l.

5.3. **Reprodutibilidade (R):**

- R = 4,1 mg de Cl por litro
 R = 0,12 mé/l
 R = 6,8 mg NaCl/l.

6. **Nota: Doseamento muito preciso**

Faz-se utilizando a curva de titulação completa obtida no decurso do doseamento do líquido estudado com a solução-padrão de nitrato de prata.

- a) Deitar 50 ml de vinho a analisar num vaso cilíndrico de 150 ml. Adicionar 50 ml de água destilada e 1 ml de ácido nítrico a, pelo menos, 65 p. 100. Titular com a solução de nitrato de prata, procedendo a adições de 0,5 ml em relação às quais se regista o potencial correspondente em milivolts. Deduzir desta primeira titulação o volume aproximado de solução de nitrato de prata necessário
- b) Recomeçar o doseamento nas mesmas condições. Em primeiro lugar, proceder a adições de 0,5 ml de solução titulante até que o volume adicionado seja inferior em 1,5 a 2 ml ao volume determinado em a). Proceder de seguida a adições de 0,2 ml; continuar as adições para além do ponto de equivalência aproximadamente detectado, de um modo simétrico, por adição de 0,2 ml, e, depois, de 0,5 ml.

O ponto final do doseamento e o volume de solução de nitrato de prata exactamente gasto é obtido:

- quer traçando a curva e determinado o ponto de equivalência,
- quer pelo cálculo:

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

sendo:

- V = volume de solução titulada no ponto de equivalência.
- V' = volume de solução titulada antes do maior salto de potencial.
- ΔV_i = volume constante adicionado das fracções de solução titulada, ou seja 0,2 ml.
- $\Delta\Delta E_1$ = segunda diferença de potencial antes da maior variação do potencial.
- $\Delta\Delta E_2$ = segunda diferença de potencial depois da maior variação do potencial.

Exemplo:

Volume de solução titulada de AgNO ₃	Potencial E em mV	Diferença ΔE	Segunda diferença 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	

Neste exemplo, o ponto final da titulação situa-se entre 1,6 e 1,8 ml: pois é neste intervalo que aparece o maior salto de potencial ($\Delta E = 44$ mV). O volume de solução titulada de nitrato de prata consumido para dosear os cloretos na toma de ensaio é:

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

12. SULFATOS

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método de referência

Precipitação do sulfato de bário e pesagem. O fosfato de bário precipitado nas mesmas condições é eliminado através de uma lavagem do precipitado com ácido clorídrico.

No caso dos mostos ou dos vinhos ricos em dióxido de enxofre, deve ser realizada uma dessulfitação prévia por ebulição ao abrigo do ar.

1.2. Método rápido de ensaio

Classificação dos vinhos em várias categorias pelo método dito dos limites, baseado na precipitação do sulfato de bário mediante utilização de uma solução titulada do ião bário.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA

2.1. Reagentes

2.1.1. Ácido clorídrico em solução 2 M.

2.1.2. Cloreto de bário em solução a 200 g/l de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

2.2. Modo operativo

2.2.1. Caso geral

Deitar 40 ml da amostra a analisar num tubo de centrifugação de 50 ml; adicionar 2 ml de ácido clorídrico 2 M e 2 ml de solução de cloreto de bário a 200 g/l; agitar com uma vareta de vidro; lavar a vareta com um pouco de água destilada e deixar em repouso durante 5 minutos. Centrifugar durante 5 min. e, depois, decantar com precaução o líquido sobrenadante.

De seguida, lavar o precipitado de sulfato de bário procedendo do seguinte modo: adicionar 10 ml de ácido clorídrico 2 M, colocar o precipitado em suspensão e centrifugar durante 5 min. Separar com precaução o líquido sobrenadante. Repetir duas vezes a lavagem do precipitado nas mesmas condições com 15 ml de água destilada de cada vez.

Transvasar quantitativamente, lavando com água destilada, o precipitado para uma cápsula de platina tarada que se coloca sobre um banho de água a 100 °C até evaporação a seco. O precipitado seco é calcinado várias vezes durante pouco tempo sobre uma chama até à obtenção de um resíduo branco. Deixar arrefecer num exsiccador e pesar.

Sendo m a massa em miligramas de sulfato de bário obtida.

2.2.2. Caso particular: mostos sulfitados e vinho com elevado teor em dióxido de enxofre

Realizar previamente a eliminação do dióxido de enxofre.

Num balão cónico de 500 ml, munido de uma ampola com torneira e de um tubo de escape, introduzir 25 ml de água e 1 ml de ácido clorídrico puro ($\rho_{20} = 1,15 - 1,18 \text{ g/ml}$). Levantar esta solução à ebulição para expulsar o ar e introduzir 100 ml de vinho pela ampola com torneira, mantendo a solução em ebulição. Prosseguir a ebulição até que o volume de líquido contido no balão cónico esteja reduzido a cerca de 75 ml; transvasar quantitativamente, após arrefecimento, para um balão graduado de 100 ml. Completar até ao traço de referência com água. Proceder ao doseamento dos sulfatos a partir duma toma de ensaio de 40 ml, tal como indicado em 2.2.1.

2.3. **Expressão dos resultados**2.3.1. **Cálculos**

O teor em sulfatos, expresso em miligramas por litro de sulfato de potássio, K_2SO_4 , é:

$$18,67 \times m.$$

O teor do mosto ou do vinho em sulfatos é expresso em miligramas por litro de sulfato de potássio, sem decimal.

2.3.2. **Repetibilidade:**

até 1 000 mg/l : r = 27 mg/l

cerca de 1 500 mg/l : r = 41 mg/l.

2.3.3. **Reprodutibilidade:**

até 1 000 mg/l : R = 51 mg/l

cerca de 1 500 mg/l : R = 81 mg/l.

3. **MÉTODO RÁPIDO DE ENSAIO**3.1. **Reagentes**3.1.1. **Solução titulada de cloreto de bário**

Dissolvem-se 2,804 g de cloreto de bário, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$, e 10 ml de ácido clorídrico ($\rho_{20} = 1,15$ a $1,18$ g/ml) numa quantidade de água suficiente para obter 1 litro de solução; 1 ml desta solução precipita uma quantidade de iões sulfato equivalente a 2 mg de sulfato de potássio.

3.1.2. **Ácido sulfúrico ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) em solução diluída 1/10 (m/v).**3.2. **Modo operatório**

Em três tubos de ensaio, deitar 10 ml de mosto ou de vinho; adicionar ao tubo nº 1: 3,5 ml, ao nº 2: 5 ml e ao nº 3: 10 ml da solução de cloreto de bário. Agitar e levar à ebulição; deixar repousar uma a duas horas. O líquido de cada tubo, decantado, é filtrado e dividido em duas partes. A uma, adicionar algumas gotas da solução diluída de ácido sulfúrico, à outra adicionar algumas gotas da solução de cloreto de bário. Examinar cada tubo e anotar a sua limpidez ou o seu aspecto turvo. A interpretação é dada no quadro seguinte.

	Vinho	Cloreto de bário	Vinho filtrado +	
			ácido sulfúrico diluído	solução de cloreto de bário
	(ml)	(ml)	turvo	límpido
1º ensaio	10	3,5	(menos de 0,7 g K_2SO_4 /l) límpido turvo (mais de 0,7 g K_2SO_4 /l)	
2º ensaio	10	5	turvo	límpido
			(menos de 1 g K_2SO_4 /l) límpido turvo (mais de 1 g K_2SO_4 /l)	
3º ensaio	10	10	turvo	límpido
			(menos de 2 g K_2SO_4 /l) límpido turvo (mais de 2 g K_2SO_4 /l)	

13. ACIDEZ TOTAL

1. DEFINIÇÃO

A acidez total do vinho é a soma dos ácidos tituláveis quando se leva o pH do vinho a 7 por adição de uma solução alcalina titulada.

O dióxido de carbono não está incluído na acidez total.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Titulação potenciométrica, ou titulação em presença de azul de bromotimol, como indicador do fim da reacção, por comparação com um padrão de cor.

3. REAGENTES

3.1. Solução tampão pH 7,0:

Fosfato monopotássico KH_2PO_4 : 107,3 g
Solução M de hidróxido de sódio (NaOH) : 500 ml,
Água q.b. para : 1 000 ml.

As soluções tampão de referência comerciais podem igualmente ser utilizadas.

3.2. Solução 0,1 M de hidróxido de sódio (NaOH).

3.3. Solução de azul de bromotimol a 4 g/l.

Azul de bromotimol ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$)	4 g
Álcool neutro a 96 % vol.	200 ml
Após solubilidade, juntar:	
Água isenta de CO_2	200 ml
Solução M de hidróxido de sódio	
q.b. para coloração azul-verde (pH 7)	7,5 ml
Água q.b. para	1 000 ml

4. APARELHAGEM

4.1. Trompa de vácuo de água.

4.2. Balão de vácuo de 500 ml.

4.3. Potenciómetro de escala calibrada em unidades pH e eléctrodos. O eléctrodo de vidro deve ser conservado em água destilada. O eléctrodo de calomel-cloreto de potássio saturado deve ser conservado numa solução saturada de cloreto de potássio. Um eléctrodo combinado é o mais frequentemente utilizado; deve conservar-se em água destilada.

4.4. Vaso cilíndrico de 50 ml de capacidade (caso dos vinhos) e de 100 ml de capacidade (caso dos mostos concentrados rectificadas).

5. MODO OPERATÓRIO

5.1. Preparação da amostra

5.1.1. Caso dos vinhos

Eliminação do dióxido de carbono. Colocar cerca de 50 ml de vinho num balão de vácuo; agitar e, simultaneamente, fazer o vácuo por meio da trompa de vácuo de água. A agitação deve durar 1 a 2 min.

5.1.2. *Caso dos mostos concentrados rectificad*

Introduzir 20 ml de mosto concentrado rectificado, pesado exactamente, num balão aferido de 500 ml. Completar com água até ao traço. Homogeneizar.

5.2. **Titulação potenciométrica**

5.2.1. *Calibração do potenciómetro*

A calibração do potenciómetro faz-se a 20 °C seguindo as indicações dadas para o aparelho utilizado com a solução-tampão de pH 7,00 a 20 °C.

5.2.2. *Técnica de uma medição*

Num vaso cilíndrico (4.4) colocar um volume de amostra preparado como indicado em 5.1, igual a 10 ml no caso do vinho e a 50 ml no caso do mosto concentrado rectificado. Juntar aproximadamente 10 ml de água destilada e deitar por meio de bureta a solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2) até que o pH seja igual a 7,0 a 20 °C. A adição do licor alcalino deve ser efectuada lentamente e a solução agitada de um modo constante. Seja n o número de mililitros de NaOH 0,1 M adicionados.

5.3. **Titulação com indicador (azul de bromotimol)**

5.3.1. *Ensaio prévio: estabelecimento do padrão de cor*

Num vaso cilíndrico (4.4), deitar 25 ml de água destilada fervida, 1 ml de solução de azul de bromotimol (3.3) e um volume de amostra preparado como indicado em 5.1, igual a 10 ml no caso do vinho e a 50 ml no caso do mosto concentrado rectificado. Adicionar a solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2) até à obtenção de uma coloração azul-verde. Juntar 5 ml da solução-tampão pH 7 (3.1).

5.3.2. *Dosagem*

Num vaso cilíndrico (4.4), deitar 30 ml de água destilada fervida, 1 ml de solução de azul de bromotimol (3.3) e um volume preparado como indicado em 5.1, igual a 10 ml no caso do vinho e a 50 ml no caso do mosto concentrado rectificado. Adicionar a solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2) até à obtenção de uma coloração idêntica à obtida no ensaio prévio (5.3.1). Seja n o número de mililitros de solução de hidróxido de sódio 0,1 M adicionados.

6. **EXPRESSÃO DOS RESULTADOS**

6.1. **Modo de cálculo**

6.1.1. *Caso dos vinhos*

A acidez total, expressa em miliequivalentes por litro, será:

$$A = 10 \cdot n.$$

É expressa com um decimal.

A acidez total, expressa em gramas de ácido tartárico por litro, será:

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

É dada com um decimal.

6.1.2. *Caso dos mostos concentrados rectificad*

— Acidez total expressa em miliequivalentes por quilo de mosto concentrado rectificado:

$$a = 5 \cdot n.$$

— Acidez total expressa em miliequivalentes por quilo de açúcares totais:

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

P = teor p. 100 (m/m) de açúcares totais.
É expressa com um decimal.

6.2. **Repetibilidade (r)** para a titulação com indicador

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

$$r = 0,07 \text{ g de ácido tartárico/l}$$

para vinhos brancos, rosados e tintos.

6.3. **Reprodutibilidade (R):** para a titulação com indicador (5.3)

Para os vinhos brancos e rosados:

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

$$R = 0,3 \text{ g de ácido tartárico/l.}$$

Para os vinhos tintos:

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

$$R = 0,4 \text{ g de ácido tartárico/l.}$$

14. ACIDEZ VOLÁTIL

1. DEFINIÇÃO

A acidez volátil é constituída pelos ácidos que pertencem à série acética e que se encontram no vinho quer no estado livre quer sob a forma de sais.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Titulação dos ácidos voláteis, separados do vinho, por arrastamento com vapor de água e rectificação dos vapores.

O vinho é previamente desembaraçado do dióxido de carbono.

A acidez do dióxido de enxofre livre e do dióxido de enxofre combinado destilado nestas condições deve ser descontada da acidez do destilado.

A acidez do ácido sórbico eventualmente adicionado ao vinho deve igualmente ser descontada.

Nota: O ácido salicílico utilizado em alguns países para estabilizar os vinhos previamente à análise, encontra-se em parte no destilado. É necessário doseá-lo e descontá-lo na acidez. O método de doseamento é dado no nº 7 deste capítulo.

3. REAGENTES

3.1. Ácido tartárico cristalizado ($C_4H_6O_6$)

3.2. Solução 0,1 M de hidróxido de sódio (NaOH)

3.3. Solução de fenolftaleína a 1 por 100 em álcool a 96 % vol. neutro

3.4. Ácido clorídrico ($\rho_{20} = 1,18$ a $1,19$ g/ml) diluído $\frac{1}{4}$ (v/v)

3.5. Solução 0,005 M de iodo (I_2)

3.6. Iodeto de potássio cristalizado (KI)

3.7. Goma de amido a 5 g/l

Dissolver 5 g de amido em aproximadamente 500 ml de água. Levar à ebulição, agitando e mantendo a ebulição durante 10 minutos; adicionar 200 g de cloreto de sódio. Levar o volume ao litro depois de arrefecer.

3.8. Solução saturada de borato de sódio ($Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$), aproximadamente 55 g/l a 20 °C

4. APARELHOS

4.1. Aparelho de arrastamento de vapor de água composto por:

1. Um gerador de vapor de água; o vapor de água produzido deve estar isento de dióxido de carbono;
2. Um borbulhador;
3. Uma coluna rectificadora;
4. Um refrigerante.

Este aparelho deve corresponder aos três ensaios seguintes:

- a) Colocar no borbulhador 20 ml de água fervida; recolher 250 ml de destilado e adicionar 0,1 ml de solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2) e 2 gotas de solução de fenolftaleína (3.3), a coloração rosa deve ser estável durante, pelo menos, 10 segundos (vapor de água isento de dióxido de carbono).
- b) Colocar no borbulhador 20 ml de uma solução 0,1 M de ácido acético. Recolher 250 ml de destilado. Titular com a solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2). O volume empregue deve ser inferior ou igual a 19,9 ml. (Ácido acético arrastado $> 99,5\%$.)

- c) Colocar no borbulhador 20 ml de uma solução M de ácido láctico. Recolher 250 ml de destilado e titular com a solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2). O volume empregue deve ser inferior ou igual a 1,0 ml. (Ácido láctico destilado < 0,5%.)

Qualquer aparelho ou técnica que satisfaça estes ensaios constitui um aparelho ou uma técnica oficial internacional.

4.2. Trompa de vácuo de água

4.3. Balão de vácuo

5. MODO OPERATÓRIO

5.1. **Preparação da amostra:** eliminação do dióxido de carbono. Colocar cerca de 50 ml de vinho num balão de vácuo; agitar e, simultaneamente, fazer o vácuo por meio de uma trompa de vácuo de água. A agitação deve durar 1 a 2 min.

5.2. **Arrastamento por vapor de água**

Colocar no borbulhador 20 ml de vinho ao qual foi retirado o dióxido de carbono como indicado em 5.1. Juntar aproximadamente 0,5 g de ácido tartárico (3.1). Recolher pelo menos 250 ml de destilado.

5.3. **Titulação**

Titular com a solução 0,1 M de hidróxido de sódio (3.2) em presença de duas gotas de solução de fenolftaleína (3.3), sendo n ml o volume utilizado.

Adicionar 4 gotas de ácido clorídrico diluído $\frac{1}{4}$ (3.4), 2 ml de goma de amido (3.7) e alguns cristais de iodeto de potássio (3.6). Titular o dióxido de enxofre livre com a solução 0,005 M de iodo (3.5), sendo n' ml o volume empregue.

Juntar a solução saturada de borato de sódio (3.8) até ao reaparecimento da coloração rosa. Titular o dióxido de enxofre combinado com a solução 0,005 M de iodo (3.5), sendo n'' ml o volume empregue.

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

6.1. **Modo de cálculo**

A acidez volátil expressa em miliequivalentes por litro, com um decimal, será:

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

A acidez volátil, expressa em g de ácido acético por litro, com dois decimais, será:

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

6.2. **Repetibilidade (r)**

$$r = 0,7 \text{ mé/l}$$

$$r = 0,04 \text{ g de ácido acético/l.}$$

6.3. **Reprodutibilidade (R)**

$$R = 1,3 \text{ mé/l}$$

$$R = 0,08 \text{ g de ácido acético/l.}$$

6.4. Caso de um vinho adicionado de ácido sórbico

Dado que o ácido sórbico é susceptível de arrastamento pelo vapor de água a 96 % para um volume de destilado de 250 ml, a sua acidez deve ser deduzida da acidez volátil, tendo em conta que 100 mg de ácido sórbico correspondem a uma acidez de 0,89 miliequivalentes ou a 0,053 g de ácido acético e conhecendo o teor de ácido sórbico (mg/l) determinado pelo método correspondente.

7. DOSAGEM DO ÁCIDO SALICÍLICO ARRASTADO NO DESTILADO DA ACIDEZ VOLÁTIL**7.1. Fundamento**

Após dosagem da acidez volátil e correcção do dióxido de enxofre, a presença do ácido salicílico é caracterizada, após acidificação, pela coloração violeta que surge pela adição de um sal de ferro III.

A dosagem do ácido salicílico arrastado com a acidez volátil para o destilado é efectuada num segundo destilado, de volume igual àquele com que foi feita a dosagem da acidez volátil. Neste destilado, o ácido salicílico é doseado por um método colorimétrico de comparação, sendo depois deduzido da acidez do destilado da acidez volátil.

7.2. Reagentes

7.2.1. Ácido clorídrico (HCL) ($\rho_{20} = 1,18$ à $1,19$ g/ml)

7.2.2. Tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) 0,1 M

7.2.3. Solução de sulfato de ferro III e de amónia [$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24 \text{H}_2\text{O}$] a 10 p. 100 (m/v)

7.2.4. Solução de salicilato de sódio 0,01 M. Solução contendo 1,60 g/l de salicilato de sódio ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$)

7.3. Modo operatório**7.3.1. Caracterização do ácido salicílico no destilado da acidez volátil**

Imediatamente após dosagem da acidez volátil e à correcção do dióxido de enxofre livre e combinado, juntar no balão cónico 0,5 ml de ácido clorídrico (7.2.1), 3 ml da solução 0,1 M de tiosulfato de sódio (7.2.2) e 1 ml da solução de sulfato de ferro III e de amónia (7.2.3).

Em presença de ácido salicílico, surge uma coloração violeta.

7.3.2. Dosagem do ácido salicílico

No balão cónico mencionado anteriormente, marcar com um traço de referência o volume de destilado. Esvaziar e lavar o balão.

Submeter uma nova toma de 20 ml de vinho ao arrastamento com vapor de água e recolher o destilado no balão cónico até ao traço de referência. Juntar 0,3 ml de ácido clorídrico puro (7.2.1) e 1 ml da solução de sulfato de ferro III e de amónia (7.2.3). O conteúdo do balão cónico adquire uma coloração violeta.

Num balão cónico idêntico ao balão com o traço de referência, deitar água destilada até ao mesmo nível que o do destilado. Juntar 0,3 ml de ácido clorídrico puro (7.2.1) e 1 ml de solução de sulfato de ferro III e de amónia (7.2.3). Deitar por meio de bureta a solução de salicilato de sódio 0,01 M (7.2.4) até à obtenção de uma coloração violeta da mesma intensidade que a do balão cónico que contém o destilado de vinho.

Seja n'' o número de mililitros gastos.

7.4. Correção da acidez volátil

Subtrair o volume $0,1 \cdot n''$ ml do volume n ml de solução de hidróxido de sódio 0,1 M utilizada para titular a acidez do destilado usado na dosagem da acidez volátil.

15. ACIDEZ FIXA

1. PRINCÍPIO

A acidez fixa é determinada pela diferença entre a acidez total e a acidez volátil.

2. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

A acidez fixa é expressa:

- Em miliequivalentes por litro;
- Em gramas de ácido tartárico por litro.

16. ÁCIDO TARTÁRICO

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método de referência

O ácido tartárico, precipitado sob a forma de racemato de cálcio, é doseado por gravimetria. Este doseamento pode ser completado por um doseamento volumétrico de comparação. As condições de precipitação — pH, volume total empregado, concentração dos iões precipitantes — são tais que a precipitação do racemato de cálcio é total, enquanto que o D.(–) tartarato de cálcio fica em solução.

Quando o vinho tiver sido adicionado de ácido metatartárico, este deverá ser previamente hidrolizado, pois induz a uma precipitação incompleta do racemato de cálcio.

1.2. Método usual

O ácido tartárico, isolado com a ajuda de uma coluna permutadora de aniões, é doseado colorimetricamente no eluído, graças à coloração vermelha que produz em reacção com o ácido vanádico. Este eluído contém ainda ácido málico e ácido láctico que não são interferentes.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA

2.1. Método ponderal

2.1.1. Reagentes

2.1.1.1. Solução de acetato de cálcio contendo 10 g/l de cálcio

Carbonato de cálcio puro: Ca CO_3	25 g
Ácido acético ($\text{CH}_3 \text{COOH}$) ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$)	40 ml
Água, q.b. para:	1 l

2.1.1.2. Racemato de cálcio cristalizado: $\text{Ca C}_4 \text{O}_6 \text{H}_4, 4\text{H}_2\text{O}$

Num vaso cilíndrico de 400 ml, introduzir 20 ml de uma solução de ácido L (+) tartárico a 5 g/l, 20 ml de uma solução de D (–) tartarato de amónio a 6,126 g/l e 6 ml da solução de acetato de cálcio a 10 g/l de cálcio (2.1.1.1).

Deixar precipitar durante duas horas. Recolher o precipitado sobre um cadinho filtrante de porosidade nº 4, lavá-lo três vezes com 30 ml de água destilada (aproximadamente). Secar na estufa a 70 °C até peso constante. Com as quantidades de reagente utilizadas, obtêm-se aproximadamente 340 mg de racemato de cálcio cristalizado.

Conservar num frasco tapado.

2.1.1.3.	Licor de precipitação (pH 4,75)	
—	ácido D (-) tartárico	122 mg
—	Hidróxido de amónio ($\rho_{20} = 0,97$ g/ml) diluído a 25 % (v/v)	0,3 ml
—	solução de acetato de cálcio a 10 g por litro	8,8 ml
—	Água q.b.:	1 000 ml

Dissolver o ácido D (-) tartárico e adicionar o hidróxido de amónio; levar o volume aproximadamente a 900 ml; adicionar 8,8 ml de solução de acetato de cálcio (2.1.1.1) e, depois de misturar, ajustar o pH a 4,75 com ácido acético.

Acertar o litro.

O racemato de cálcio, sendo ligeiramente solúvel neste licor, convém aí introduzir 5 mg de racemato de cálcio por litro, submetê-lo a agitação durante 12 h e filtrá-lo.

2.1.2. *Modo operativo*

2.1.2.1. Caso dos vinhos não adicionados de ácido metatartárico

Num vaso cilíndrico de 600 ml, colocar 500 ml de licor de precipitação e 10 ml de vinho. Misturar, friccionando as paredes do vaso com a extremidade de uma vareta de vidro. Deixar precipitar durante 12 horas (uma noite).

Filtrar por um cadinho filtrante, de porosidade nº 4, tarado e disposto sobre um balão de vácuo limpo, arrastando o precipitado. Lavar o frasco onde se efectuou a precipitação com o filtrado e arrastar as últimas partículas de precipitado.

Secar na estufa a 70 °C até peso constante. Pesar, sendo p o peso de racemato de cálcio $\text{Ca C}_4\text{O}_6\text{H}_4$ cristalizado com 4 moléculas de água.

2.1.2.2. Caso dos vinhos adicionados de ácido metatartárico

Quando se trabalha com um vinho a que foi adicionado ácido metatartárico ou quando se suspeita desta adição, deve proceder-se à hidrólise do ácido nas condições seguintes.

Num balão cónico de 50 ml, colocar 10 ml de vinho e 0,4 ml de ácido acético puro (CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05$ g/ml). Fechar o balão com uma rolha munida de um descarregador e levar à ebulição durante 30 minutos.

Depois de arrefecer, transvasar o líquido contido no balão cónico para um vaso cilíndrico; enxaguar o balão cónico 2 vezes com 5 ml de água e continuar como está indicado no modo acima referido.

No resultado do doseamento, o ácido metatartárico é contabilizado como ácido tartárico.

2.1.3. *Expressão dos resultados*

Uma molécula de racemato de cálcio corresponde a meia molécula de ácido L (+) tartárico do vinho.

A quantidade de ácido tartárico por litro de vinho, expressa em miliequivalentes, é igual a: 384,5 p.

Ela é dada com uma casa decimal.

A quantidade de ácido tartárico por litro de vinho expresso em gramas de ácido tartárico, é igual a: 28,84 p.

Ela é dada com uma casa decimal.

A quantidade de ácido tartárico por litro de vinho, expressa em gramas de tartarato ácido de potássio, é igual a: 36,15 p.

Ela é dada com uma casa decimal.

2.2. Doseamento volumétrico de comparação

2.2.1. Reagentes

2.2.1.1. Ácido clorídrico (HCL) ($\rho_{20} = 1,18$ a $1,19$ g/ml) diluído a 1/5 (v/v).

2.2.1.2. Solução de EDTA 0,05 M

EDTA (sal dissódico bihidratado do ácido etilenodiamino-tetracético ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$) 18,61 g

Água destilada q.b. 1 000 ml

2.2.1.3. Solução de hidróxido de sódio a 40 % (m/v)

Hidróxido de sódio (NaOH) 40 g

Água destilada q.b. 100 ml

2.2.1.4. Indicador complexométrico com ácido calcon-carbónico: 1 % (m/m)

Ácido calcon-carbónico ou ácido 2-hidroxi-4-sulfo-1-naftilazo-3-naftoico ($C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$) 1 g

Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) 100 g

2.2.2. Modo operativo

Após pesagem, colocar de novo o cadinho filtrante contendo o racemato de cálcio no balão de vácuo. Dissolver o precipitado com 10 ml de ácido clorídrico diluído (2.2.1.1). Lavar o cadinho com 50 ml de água destilada.

Adicionar 5 ml da solução de hidróxido de sódio a 40 % (2.2.1.3) e cerca de 30 mg do indicador (2.2.1.4). Titular com EDTA 0,05 M (2.2.1.2). Seja n o número de mililitros gastos.

2.2.3. Expressão de resultados

A quantidade de ácido tartárico por litro de vinho, expresso em miliequivalentes, é igual a: $5n$.

É dada com um decimal.

A quantidade de ácido tartárico por litro de vinho, expressa em gramas de ácido tartárico, é igual a: $0,375n$.

É dada com um decimal.

A quantidade de ácido tartárico por litro de vinho, expressa em gramas de tartarato ácido de potássio, é igual a: $0,470n$.

É dada com um decimal.

3. MÉTODO USUAL

3.1. Reagentes

3.1.1. Para o tratamento preliminar do vinho

3.1.1.1. Ácido acético (CH_3COOH $\rho_{20} = 1,05$ g/ml) diluído a 30 p. 100 (v/v).

3.1.1.2. Permutador de aniões de forte basicidade (ex: permutador de aniões III da Merck de 20–50 mesh) sob a forma de acetato. Preparar uma suspensão do permutador (100 g aproximadamente) em 200 ml de ácido acético diluído a 30 % (3.1.1.1); deixar em contacto,

pelo menos, 24 h antes de o utilizar. Conservar o permutador em ácido acético diluído a 30 p. 100 até doseamentos posteriores.

3.1.1.3. Ácido acético (CH_3COOH $\rho_{20} = 1,05$ g/ml) diluído a 0,5 p. 100 (v/v).

3.1.1.4. Solução de sulfato de sódio a 7,1 g p. 100 ml (0,5 M)

Dissolver 71 g de sulfato de sódio (Na_2SO_4) anidro em água destilada e perfazer o volume de 1 000 ml com água destilada.

3.1.2. *Para o doseamento do ácido tartárico:*

3.1.2.1. Solução de acetato de sódio ($\text{Na CH}_3\text{COO}$) a 27 p. 100 (m/v)

Dissolver 270 g de acetato de sódio anidro, $\text{Na CH}_3\text{COO}$, em água destilada e completar até ao volume de 1 000 ml.

3.1.2.2. Reagente vanádico

Dissolver 10 g de meta-vanadato de amónio, (NH_4VO_3), em 150 ml de solução de hidróxido de sódio M (3.1.2.10). Transvasar esta solução para um balão graduado de 500 ml e juntar 200 ml da solução de acetato de sódio a 27 p. 100 (3.1.2.1). Levar o volume a 500 ml com água destilada.

3.1.2.3. Solução de H_2SO_4 1 M

3.1.2.4. Solução de H_2SO_4 0,5 M

3.1.2.5. Solução de H_2SO_4 0,05 M

3.1.2.6. Solução de ácido periódico 0,05 M

Num balão graduado de 1 000 ml, introduzir 10,696 g de periodato de sódio Na IO_4 , 50 ml de ácido sulfúrico 0,5 M (3.1.2.4) e completar até 1 000 ml com água destilada.

3.1.2.7. Solução de glicerol a 10 p. 100 (m/v)

Num balão graduado de 100 ml, colocar 10 g de glicerol $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$; completar até 100 ml com água destilada.

3.1.2.8. Solução de sulfato de sódio a 7,1 g p. 100 ml (ver 3.1.1.4)

3.1.2.9. Solução de ácido tartárico a 1 g/l

Num balão graduado de 500 ml, introduzir 0,5 g de ácido tartárico, 6,66 ml de solução de hidróxido de sódio M (3.1.2.10) e completar até 500 ml com a solução de sulfato de sódio a 7,1 p. 100 (ver 3.1.1.4).

3.1.2.10. Solução de hidróxido de sódio, NaOH , 1M.

3.2. **Aparelhagem**

3.2.1. Coluna de vidro de 300 mm, aproximadamente, de comprimento e 10–11 mm de diâmetro interno, munida de uma torneira.

3.2.2. Espectrofotómetro que permita a medição da absorvência no comprimento de onda de 490 nm, com cubas de 10 mm de trajecto óptico.

3.3. **Modo operativo**

3.3.1. **Preparação da coluna permutadora de iões**

Colocar na coluna de vidro, acima da torneira (3.2.1), um tampão de algodão de vidro. Impregnar este tampão com água destilada. Deitar na coluna 10 ml da suspensão do per-

mutador de iões na fase acetato (3.1.1.2). Deixar decantar. Colocar um tampão de algodão de vidro na superfície do permutador depositado (de modo a evitar, no decurso das lavagens posteriores, que o permutador entre de novo em suspensão).

O permutador deve ser utilizado apenas numa única operação.

3.3.2. *Isolamento dos ácidos orgânicos*

Uma vez aberta a torneira, deixar correr a solução de ácido acético até aproximadamente 2-3 mm acima do tampão de algodão de vidro, colocado acima do permutador.

Juntar 10 ml de solução de ácido acético a 0,5 p. 100 (3.1.1.3) e deixar depois correr o líquido até ao mesmo nível da operação anterior. Repetir 4 vezes esta operação de lavagem.

Após a última lavagem, fechar a torneira e deitar, sobre o permutador, 10 ml de vinho ou de mosto. Deixar o vinho escoar gota a gota (débito médio de 1 gota/segundo) e parar o escoamento exactamente acima do permutador. Deitar de novo, na coluna, 10 ml de solução de ácido acético a 0,5/100 (3.1.1.3), deixar escoar à mesma velocidade da operação anterior e repetir 7 vezes a operação de lavagem, utilizando 10 ml de água de cada vez. Na última lavagem, fechar a torneira logo que o nível do líquido se encontre um pouco acima do tampão de algodão de vidro superior.

Eluir os ácidos fixados no permutador com a solução de sulfato de sódio a 7,1/100 (3.1.1.4), recolher o eluído, num balão graduado de 100 ml, até ao traço de referência.

3.3.3. *Dosagem do ácido tartárico*

3.3.3.1. **Caso dos vinhos aos quais não foi adicionado ácido metatartárico**

O balão *a* é utilizado no doseamento, enquanto o balão *b*, no qual o ácido tartárico é destruído pelo ácido periódico, constitui a testemunha.

Introduzir no balão *a*:

- 2 ml de H_2SO_4 M (3.1.2.3)
- 5 ml de H_2SO_4 0,05 M (3.1.2.5)
- 1 ml de glicerol a 10 p. 100 (3.1.2.7).

Introduzir no balão *b*:

- 2 ml de H_2SO_4 M (3.1.2.3)
- 5 ml de solução de ácido periódico 0,05 M (3.1.2.6)

Após 15 minutos juntar:

- 1 ml de solução de glicerol a 10 p. 100 (3.1.2.7) para destruir o excesso de ácido periódico.

Esperar 2 min.

Deitar, agitando, primeiro no balão *b* e depois no balão *a*, 5 ml de reagente vanádico (3.1.2.2). Ligar imediatamente um cronómetro e colocar o conteúdo dos balões *a* e *b* nas cubas do espectrofotómetro. Passados 90 segundos, medir a absorvência a 490 nm do líquido proveniente do balão *a* (doseamento) em relação à testemunha (balão *b*).

Se o eluído é muito rico em ácido tartárico e se a absorvência for muito elevada, diluir o eluído com a solução de sulfato de sódio a 7,1 p. 100 e proceder à medição sobre a solução diluída.

3.3.3.2. Caso dos vinhos aos quais foi adicionado ácido metatartárico

No caso de um vinho ao qual foi adicionado ácido metatartárico, ou se se suspeitar dessa adição, proceder à hidrólise deste ácido como é indicado no método de referência.

Após arrefecimento, o conteúdo do balão cónico é introduzido na coluna do que contém o permutador, bem como as águas de lavagem do balão (2 vezes 5 ml).

Continuar como está indicado anteriormente.

No resultado do doseamento, o ácido metatartárico é contabilizado como ácido tartárico.

3.3.4. Determinação da curva de calibração

Introduzir 10, 20, 30, 40 e 50 ml da solução de ácido tartárico a 1 g/l (3.1.2.9) em balões graduados de 100 ml e completar até 100 ml com a solução de sulfato de sódio a 7,1 p. 100 ml (3.1.1.4). As concentrações destas soluções correspondem aos eluídos obtidos a partir de vinhos que contenham 1, 2, 3, 4 e 5 g de ácido tartárico por litro.

Em 2 balões cónicos *a* e *b*, introduzir 20 ml destas soluções e continuar como indicado para o eluído do vinho.

A representação gráfica das absorvências destas soluções, em função do teor de ácido tartárico, é uma recta que curva ligeiramente para o ponto zero. Especificar, se necessário, esta parte da curva, submetendo-a à medição de soluções de título exactamente conhecido inferior a 1,0 g/l.

3.3.5. Expressão dos resultados

Relacionar a absorvência medida para o eluído, utilizando a curva de calibração para obter o teor de ácido tartárico no vinho, expresso em gramas por litro.

Este teor é expresso com 1 decimal.

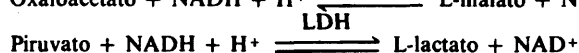
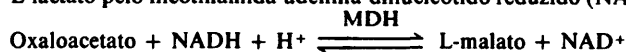
17. ÁCIDO CÍTRICO

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O ácido cítrico é transformado em oxaloacetato e acetato numa reacção catalizada pela citrato-liase (CL):



Na presença da malato-desidrogenase (MDH) e da lactato-desidrogenase (LDH), o oxaloacetato e o seu derivado de descarboxilação, o piruvato, são reduzidos em L-malato e L-lactato pelo nicotinamida-adenina-dinucleótido reduzido (NADH):



Nestas reacções, a quantidade de NADH oxidado em NAD⁺ é proporcional ao citrato presente. A oxidação do NADH é medida pela diminuição da sua absorvência no comprimento de onda 340 nm.

2. REAGENTES

2.1. Tampão pH 7,8

(glicilglicina 0,51 M; pH = 7,8; Zn²⁺: 0,6 · 10⁻³ M)

Dissolver 7,13 g de glicilglicina em aproximadamente 70 ml de água bidestilada; ajustar o pH a 7,8, com cerca de 13 ml de solução de hidróxido de sódio NaOH 5 M; juntar 10 ml de solução de cloreto de zinco ZnCl₂, de 80 mg em 100 ml e levar a 100 ml com água bidestilada.

A solução permanece estável durante pelo menos 4 semanas a + 4 °C.

2.2. Solução de nicotinamida-adenina-dinucleótido reduzida (NADH), aproximadamente 6.10⁻³ M. Dissolver 30 mg NADH e 60 mg NaHCO₃ em 6 ml de água bidestilada.

2.3. Solução de malato desidrogenase/lactato desidrogenase, (MDH/LDH) (0,5 mg MDH/ml; 2,5 mg LDH/ml). Mistura-se 0,1 ml MDH (5 mg MDH/ml), 0,4 ml de solução de sulfato de amónio (3,2 M) e 0,5 ml LDH (5 mg/ml).

Esta suspensão é estável durante pelo menos um ano a + 4 °C.

2.4. Citrato-liase CL (5 mg de proteína/ml). Dissolver 168 mg do liofilizado em 1 ml de água gelada.

A solução é estável durante pelo menos uma semana a + 4 °C e durante pelo menos 4 semanas na forma congelada.

Recomenda-se que se proceda, previamente ao doseamento, à verificação da actividade da enzima.

2.5. Polivinilpirrolidona (PVPP)

Nota: O conjunto dos reagentes necessários para este doseamento, estão comercializados.

3. APARELHAGEM

3.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições a 340 nm, máximo de absorção do NADH

Na sua ausência, fotómetro de espectro descontínuo que permita efectuar as medições a 334 nm ou a 365 nm. Dado tratar-se de medições absolutas de absorvência (sem série de calibragens, mas com referência ao coeficiente de extinção do NADH), as escalas dos comprimentos de onda e das absorvências do aparelho devem ser controladas.

3.2. Cubas de vidro de 1 cm de trajecto óptico ou cubas de utilização única

3.3. Micropipetas que permitam recolher volumes compreendidos entre 0,02 e 2 ml

4. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

De um modo geral, o doseamento do citrato efectua-se directamente no vinho sem descoloração prévia nem diluição, desde que o teor de ácido cítrico seja inferior a 400 mg/l. Caso contrário, proceder à diluição do vinho de modo a que a concentração em citrato se situe entre 20 e 400 mg/l (quantidade de citrato na toma de ensaio compreendida entre 5 µg e 80 µg).

No caso de um vinho tinto rico em compostos fenólicos, é aconselhável tratá-lo previamente pela PVPP:

Colocar em suspensão em água 0,2 g de PVPP, aproximadamente, deixar repousar 15 minutos. Filtrar através de um filtro plissado.

Juntar a 10 ml de vinho colocado num balão cónico de 50 ml o PVPP húmido tirado com uma espátula do filtro. Agitar durante 2 a 3 minutos. Filtrar.

5. MODO OPERATÓRIO

Dado o espectrofotómetro ser regulado no comprimento de onda de 340 nm, as medições da absorvência são feitas em cubas de 1 cm, sendo a absorvência zero regulada em relação ao ar (sem cuba no trajecto óptico). Introduzir nas cubas de 1 cm de espessura:

	Testemunha	Dosagem
Solução 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Solução 2.2	0,10 ml	0,10 ml
Amostra	—	0,20 ml
Água bidestilada	2,00 ml	1,80 ml
Solução 2.3	0,02 ml	0,02 ml.

Misturar; após cerca de 5 min. ler as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_1).

Juntar:

Solução 2.4	0,02 ml	0,02 ml.
-------------	---------	----------

Misturar; esperar o fim da reacção (cerca de 5 minutos) e ler as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_2).

Determinar as diferenças de absorvências ($A_1 - A_2$) da testemunha e da solução de doseamento.

Deduzir a diferença de absorvências da testemunha da diferença de absorvências do doseamento.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Nota: O tempo necessário à acção das enzimas pode variar de lote para lote; o que foi mencionado anteriormente foi-o apenas a título indicativo. Recomenda-se a sua determinação para cada lote.

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

O teor em ácido cítrico é dado em miligramas por litro (mg/l), sem decimais.

6.1. Modo de cálculo

A concentração em miligramas por litro é dada pela fórmula geral:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta A$$

V = volume do teste em ml (neste caso 3,14 ml)

v = volume da amostra em ml (neste caso 0,2 ml)

P.M. = massa molecular da substância a dosear (neste caso ácido cítrico anidro = 192,1)

d = trajecto óptico da cuba em cm (neste caso 1 cm)

ϵ = coeficiente de absorção do NADH a 340 nm,

$\epsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Obtém-se:

$C = 479 \cdot \Delta A$.

Se uma diluição tiver sido efectuada aquando da preparação da amostra, multiplicar o resultado pelo factor de diluição.

Nota:

a 334 nm : $C = 488 \cdot \Delta A$ (= $6,2 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

a 365 nm : $C = 887 \cdot \Delta A$ (= $3,4 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

6.2. Repetibilidade (r)

Teor em ácido cítrico inferior a 400 mg/l : r = 14 mg/l.

Teor em ácido cítrico superior a 400 mg/l : r = 28 mg/l.

6.3. Reprodutibilidade (R)

Teor em ácido cítrico inferior a 400 mg/l : R = 39 mg/l.

Teor em ácido cítrico superior a 400 mg/l : R = 65 mg/l.

18. ÁCIDO LÁCTICO

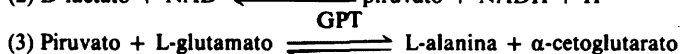
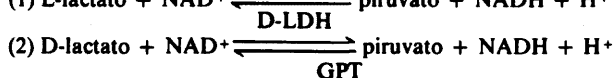
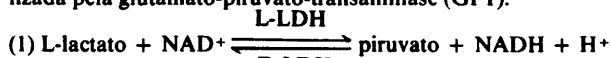
1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método de referência

Em presença do nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD), o ácido láctico total (L-lactato e D-lactato) é oxidado em piruvato numa reacção catalizada pelas L-lactato desidrogenase (L-LDH) e D-lactato desidrogenase (D-LDH).

O equilíbrio da reacção é em favor do lactato. A eliminação do piruvato do meio de reacção desloca o equilíbrio no sentido da formação de piruvato.

Em presença de L-glutamato, o piruvato é transformado em L-alanina, reacção que é catalizada pela glutamato-piruvato-transaminase (GPT).



A formação de NADH, medida pelo aumento da absorvência no comprimento de onda de 340 nm, é proporcional à quantidade de lactato presente.

Nota:

O ácido L-láctico pode ser determinado individualmente pela aplicação das reacções (1) e (3).

O ácido D-láctico pode ser determinado individualmente pela aplicação das reacções (2) e (3).

1.2. Método usual

Após separação do ácido láctico numa coluna de resina permutadora de aniões, este composto é oxidado em etanal e doseado por colorimetria após reacção com o nitroprussiato de sódio e a piperidina.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA

2.1. Reagentes

2.1.1. Solução tampão pH 10 (glicilglicina 0,6 mole/l; L-glutamato 0,1 mole/l)

Dissolver 4,75 g de glicilglicina, 0,88 g de ácido L-glutâmico em cerca de 50 ml de água bidestilada; ajustar o pH a 10 com alguns mililitros de solução de hidróxido de sódio 10 M e acertar a 60 ml com água bidestilada. A solução permanece estável durante pelo menos 12 semanas a + 4 °C.

2.1.2. Solução de nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD) cerca de $40 \cdot 10^{-3}$ M. Dissolver 900 mg de NAD em 30 ml de água bidestilada. A solução permanece estável durante pelo menos 4 semanas a + 4 °C.

2.1.3. Suspensão de glutamato-piruvato-transaminase (GPT) a 20 mg/ml

A suspensão é estável durante pelo menos um ano a + 4 °C.

2.1.4. Suspensão de L-lactato-desidrogenase (L-LDH) a 5 mg/ml

A suspensão é estável durante pelo menos um ano a + 4 °C.

2.1.5. Suspensão de D-lactato-desidrogenase (D-LDH) a 5 mg/ml

A suspensão é estável durante pelo menos um ano a + 4 °C.

É aconselhável proceder, antes do doseamento, à verificação da actividade da enzima.

Nota: O conjunto dos reagentes necessários para este doseamento está comercializado.

2.2. Aparelhagem

2.2.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições a 340 nm, máximo de absorção de NADH

Na sua ausência, fotómetro de espectro descontínuo que permita efectuar medições a 334 nm ou a 365 nm.

Dado tratar-se de medições absolutas de absorvência (sem série de calibragens, mas com referência ao coeficiente de extinção do NADH), as escalas dos comprimentos de onda e das absorvências do aparelho devem ser controladas.

2.2.2. Cubas de vidro de 1 cm de trajecto óptico ou cubas de utilização única

2.2.3. Micropipetas que permitam recolher volumes compreendidos entre 0,02 e 2 ml

2.3. Preparação da amostra

Evitar tocar com os dedos nos vidros que entram em contacto com o meio de reacção, dado que tal poderá provocar um aumento de ácido L-láctico que falsearia os resultados.

De um modo geral, o doseamento do lactato é efectuado directamente no vinho sem descoloração prévia e sem diluição, quando a concentração em ácido láctico for inferior a 100 mg/l. Se a concentração do vinho em ácido láctico for compreendida entre:

100 mg/l e 1 g/l — diluir 1/10 com água bidestilada;

1 g/l e 2,5 g/l — diluir 1/25 com água bidestilada;

2,5 g/l e 5 g/l — diluir 1/50 com água bidestilada.

2.4. Modo operativo

2.4.1. Doseamento do ácido láctico total

A solução-tampão deve estar com uma temperatura entre 20-25 °C antes de se proceder ao doseamento.

Dado o espectrofotómetro ser regulado no comprimento de onda de 340 nm, as medições da absorvência são feitas em cubas de 1 cm de trajecto óptico, sendo a absorvência zero regulada em relação ao ar (sem cuba no trajecto óptico) ou em relação à água.

Nas cubas de 1 cm de trajecto óptico, introduzir:

	Testemunha	Dosagem
Solução 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Solução 2.1.2	0,20 ml	0,20 ml
Água bidestilada	1,00 ml	0,80 ml
Suspensão 2.1.3	0,02 ml	0,02 ml
Amostra	-	0,20 ml

Misturar com a ajuda de um agitador de vidro ou de uma vareta em matéria sintética com extremidade plana; após cerca de 5 min., medir as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_1).

Juntar 0,02 ml de solução 2.1.4 e 0,05 ml de solução 2.1.5, homogeneizar, esperar o final da reacção (cerca de 30 min.) e medir as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_2).

Determinar as diferenças de absorvência ($A_2 - A_1$) da testemunha e do doseamento.

Deduzir a diferença de absorvência da testemunha da diferença de absorvência do doseamento.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T.$$

2.4.2. *Doseamento do ácido L-láctico e do ácido D-láctico*

O doseamento do ácido L-láctico e ácido D-láctico pode ser efectuado individualmente aplicando a técnica indicada para o ácido láctico total, desde que A_1 tenha sido previamente determinado:

Juntar 0,02 ml da solução 2.1.4, homogeneizar, esperar o final da reacção (aproximadamente 20 min.) e medir as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_2).

Adicionar 0,05 ml da solução 2.1.5, homogeneizar, esperar o fim da reacção (cerca de 30 min.) e medir as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_3).

Determinar as diferenças de absorvência ($A_2 - A_1$) para o ácido L-láctico e ($A_3 - A_2$) para o ácido D-láctico no caso da testemunha e no caso do doseamento.

Deduzir a diferença de absorvência da testemunha da diferença de absorvência do doseamento.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T.$$

Nota: O tempo necessário à acção das enzimas pode variar de lote para lote; o tempo mencionado anteriormente apenas o foi a título indicativo. Recomenda-se a sua determinação para cada lote. Quando se doseia apenas o ácido L-láctico, o tempo de incubação após a adição da L-lactato desidrogenase pode ser alterado para 10 minutos.

2.5. **Expressão dos resultados**

A concentração de ácido láctico é dada em gramas por litro (g/l) com 1 decimal.

2.5.1. *Modo de cálculo*

A concentração em gramas por litro é calculada pela fórmula geral:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta A$$

V = volume do teste em ml ($V = 2,24$ ml para o ácido L-láctico, $V = 2,29$ ml para o ácido D-láctico e o ácido láctico total)

v = volume da amostra em ml (neste caso 0,2 ml)

PM = massa molecular da substância a dosear (neste caso DL láctico = 90,08)

d = trajecto óptico da cuba em cm (neste caso 1 cm)

ϵ = coeficiente de absorção do NADH a 340 nm

ϵ = 6,3 (mmole⁻¹ · l · cm⁻¹).

2.5.1.1. **Ácido láctico total e ácido D-láctico**

$$C = 0,164 \cdot \Delta A.$$

Se foi efectuada uma diluição aquando da preparação da amostra, multiplicar o resultado pelo factor de diluição.

Nota:

Medição a 334 nm : $C = 0,167 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 6,2$ mmole⁻¹ · l · cm⁻¹).

Medição a 365 nm : $C = 0,303 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 3,4$ mmole⁻¹ · l · cm⁻¹).

2.5.1.2. Ácido L-láctico

$$C = 0,160 \cdot \Delta A.$$

Se foi efectuada uma diluição aquando da preparação da amostra, multiplicar o resultado pelo factor de diluição.

Nota:

Medição a 334 nm : $C = 0,163 \cdot \Delta A$ ($\epsilon = 6,2 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Medição 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. Repetibilidade (*r*)

$$r = 0,02 + 0,07 x_1 \text{ g/l}$$

x_1 = concentração de ácido láctico da amostra em g/l.

2.5.3. Reprodutibilidade (*R*)

$$R = 0,05 + 0,125 x_1 \text{ g/l}$$

x_1 = concentração de ácido láctico da amostra em g/l.

3. MÉTODO USUAL

3.1.1. Para o tratamento preliminar do vinho

Reportar-se ao capítulo «Ácido Tartárico», método usual, em 3.1.1.

3.1.2. Para o doseamento do ácido láctico

3.1.2.1. Solução 0,1 M de sulfato de cério IV em ácido sulfúrico 0,35 M

Dissolver, a frio, 40,431 g de sulfato de cério IV, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, em 350 ml de uma solução M de ácido sulfúrico exactamente titulada (3.1.2.4). Levar o volume a 1 000 ml com água destilada.

3.1.2.2. Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 2,5 M

3.1.2.3. Solução de acetato de sódio a 270 g por litro (preparada a partir de acetato de sódio seco, $\text{Na CH}_3 \text{COO}$)3.1.2.4. Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1 M3.1.2.5. Solução de nitroprussiato de sódio [$\text{Na}_2(\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] a 2 p. 100 (m/v)

Conservar o frasco bem fechado e ao abrigo da luz.
Limite de conservação da solução: 8 dias.

3.1.2.6. Solução de piperidina ($\text{C}_5 \text{H}_{11} \text{N}$) a 10 p. 100 (v/v)

3.1.2.7. Solução de ácido láctico M

Diluir 100 ml de ácido láctico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) em 400 ml de água. Esta solução, colocada numa cápsula, é aquecida num banho de água fervente durante 4 horas, sendo o volume completado, de tempos a tempos, com água destilada. Levar o volume a 1 litro após arrefecimento. Titular o ácido láctico existente em 10 ml desta solução com uma solução de hidróxido de sódio M (3.1.2.8). Ajustar a solução a 1 M de ácido láctico (90 g).

3.1.2.8. Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M

3.2. Aparelhagem

3.2.1. Coluna de vidro de, aproximadamente, 300 mm de comprimento e 10–11 mm de diâmetro interno, munida de um regulador de débito (torneira)

3.2.2. Banho de água termostaticado a 65 °C

3.2.3. Espectrofotómetro que permita medições de absorvência no comprimento de onda de 570 nm com cubas de 1 cm de trajecto óptico

3.3. Modo operativo**3.3.1. Preparação da coluna permutadora de iões**

Ver capítulo «Ácido tartárico», método usual, em 3.3.1.

3.3.2. Isolamento dos ácidos orgânicos

Reportar-se ao capítulo «Ácido tartárico», método usual, em 3.3.2.

3.3.3. Doseamento do ácido láctico

Introduzir 10 ml de eluído num tubo de vidro de 50 ml de capacidade munido de rolha esmerilhada e juntar 10 ml de solução de sulfato de cério (3.1.2.1). Agitar; colocar o tubo num banho de água com termóstato, a 65 °C, durante exactamente 10 minutos. No momento da imersão, retirar durante alguns segundos a rolha de vidro, de modo a compensar a pressão devido ao aquecimento, e, em seguida, voltar a fechar hermeticamente, de forma a evitar perdas do etanal formado. Retirar o tubo, arrefecer sob fluxo de água para obter uma temperatura próxima de 20 °C, juntar 5 ml da solução de hidróxido de sódio 2,5 M (3.1.2.2), misturar e filtrar.

Recolher 15 ml de filtrado, deitá-los num balão de 50 ml, com rolha esmerilhada, que contenha já uma mistura homogênea de 5 ml de solução de acetato de sódio a 27 p. 100 (3.1.2.1), e de 2 ml de ácido sulfúrico M (3.1.2.4). Juntar 5 ml da solução de nitroprussiato de sódio (3.1.2.5), misturar, adicionar 5 ml da solução de piperidina (3.1.2.6), misturar com rapidez e introduzir imediatamente esta solução na cuba do espectrofotómetro. A coloração produzida, que varia do verde ao violeta, é medida a 570 nm em relação ao ar (sem cuba no trajecto óptico). Esta coloração aumenta, para diminuir em seguida rapidamente.

Seguir a evolução da absorvência correspondente e escolher como valor definitivo o seu valor máximo.

Se o eluído for demasiado rico em ácido láctico e a absorvência demasiado elevada, diluir o eluído com a solução de sulfato de sódio a 7,1 p. 100 (3.1.1) e proceder à medição na solução diluída.

3.3.4. Determinação da curva de calibração

Introduzir 10 ml da solução de ácido láctico 1 M (3.1.2.7) e 10 ml de solução titulada de hidróxido de sódio 1 M (3.1.2.8) num balão graduado de 1 000 ml até ao traço com a solução de sulfato de sódio a 7,1 p. 100 (3.1.1). Recolher, em balão, 5, 10, 15, 20 e 25 ml e introduzi-los em balões graduados de 100 ml. Completar até ao traço de referência com a solução de sulfato de sódio a 7,1 p. 100. Recolher 10 ml das soluções assim obtidas e determinar para cada uma o valor da absorvência, de acordo com a técnica descrita em 3.3.3 para o eluído.

Estas soluções correspondem aos eluídos obtidos a partir de vinhos que contenham 0,45 – 0,90 – 1,35 – 1,80 e 2,25 g/l de ácido láctico.

A representação gráfica das absorvências destas soluções, em função do teor de ácido láctico, é uma recta.

3.4. Expressão dos resultados

A partir da absorvência medida para o eluído, e utilizando a curva de calibração, obtém-se o teor de ácido láctico do vinho, expresso em gramas por litro.

Este teor é expresso com 1 decimal.

Nota: Os vinhos que contêm mais de 250 mg/l de dióxido de enxofre podem apresentar um teor de ácido etanalsulfónico que é contabilizado como ácido láctico. Neste caso, é necessário corrigir o resultado do doseamento pelo obtido pela seguinte operação complementar: numa proveta com rolha esmerilada são misturados 15 ml de eluído com 5 ml de acetato de sódio a 27 p. 100 (3.1.2.3) e 2 ml de H₂SO₄ 0,775 M (77,5 ml de H₂SO₄ M são completados, até 100 ml, com água destilada). Seguidamente, tal como no doseamento do ácido láctico, adicionam-se 5 ml de nitroprussiato de sódio (3.1.2.5) a 2 p. 100 e 5 ml de piperidina a 10 p. 100 (3.1.2.6). Depois de ter misturado, medir a absorvência nas condições descritas para o doseamento de ácido láctico. A partir desta absorvência, utilizar a curva de calibração para obter o valor aparente B de ácido láctico, expresso em gramas por litro, devido ao ácido etanalsulfónico. Se L' for o teor aparente de ácido láctico do vinho, em gramas por litro, o teor real L de ácido láctico é obtido pela fórmula:

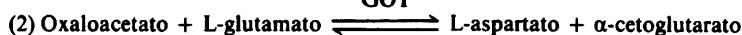
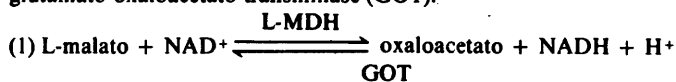
$$L = L' - B \cdot 0,4 \text{ (g/l)}.$$

19. ÁCIDO L-MÁLICO

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Em presença do nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD) o ácido L-málico (L-malato) é oxidado em oxaloacetato numa reacção catalizada pela L-malato desidrogenase (L-MDH).

O equilíbrio da reacção é a favor do malato. A eliminação do oxaloacetato do meio de reacção desloca o seu equilíbrio no sentido da formação de oxaloacetato. Em presença de L-glutamato, o oxaloacetato é transformado em L-aspartato, reacção que é catalizada pela glutamato-oxaloacetato-transaminase (GOT).



A formação de NADH, medida pelo aumento da absorvência no comprimento de onda de 340 nm, é proporcional à quantidade de L-malato presente.

2. REAGENTES

2.1. Tampão pH 10
(Glicilglicina 0,60 M, L-glutamato 0,1 M)

Dissolver 4,75 g de glicilglicina e 0,88 g de ácido L-glutâmico em cerca de 50 ml de água bidestilada; ajustar o pH a 10 com aproximadamente 4,6 ml de solução de hidróxido de sódio 10 M e completar o volume a 60 ml com água bidestilada.

A solução permanece estável durante pelo menos 12 semanas a + 4 °C.

2.2. Solução de nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD), cerca de $47 \cdot 10^{-3}$ M

Dissolver 420 mg de NAD em 12 ml de água bidestilada. A solução permanece estável durante pelo menos 4 semanas a + 4 °C.

2.3. Suspensão de glutamato-oxaloacetato-transaminase (GOT) a 2 mg/ml

A suspensão é estável durante pelo menos um ano a + 4 °C.

2.4. Solução de L-malato-desidrogenase (L-MDH) a 5 mg/ml

A solução é estável durante pelo menos um ano a + 4 °C.

Nota: O conjunto dos reagentes necessários para este doseamento estão comercializados.

3. APARELHAGEM

3.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições a 340 nm, máximo de absorção do NADH

Na sua ausência, fotómetro de espectro descontínuo que permita efectuar medições a 334 nm ou a 365 nm.

Dado tratar-se de medições absolutas de absorvência (sem série de calibragens, mas com referência ao coeficiente de extinção do NADH), as escalas dos comprimentos de onda e das absorvências do aparelho devem ser controladas.

3.2. Cubas de vidro de 1 cm de trajecto óptico ou cubas de utilização única

3.3. Micropipetas que permitam recolher volumes compreendidos entre 0,01 e 2 ml

4. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

De um modo geral, o doseamento do L-malato é efectuado directamente no vinho sem descoloração prévia e sem diluição, desde que o teor em ácido L-málico seja inferior a

350 mg/l (medição a 365 nm). Caso contrário, proceder à diluição do vinho com água bidestilada, de modo a que a concentração de L-malato se situe entre 30 e 350 mg/l (quantidade de L-malato na toma de ensaio compreendida entre 3 e 35 µg).

Se a concentração em malato no vinho for inferior a 30 mg/l, o volume da toma de ensaio pode ser aumentado até 1 ml. Neste caso, o volume de água a juntar é reduzido de modo a que os volumes totais sejam os mesmos nas duas cubas.

5. MODO OPERATÓRIO

Dado que o espectrofotómetro é regulado no comprimento de onda de 340 nm, as medições de absorvência são feitas em cubas de 1 cm de trajecto óptico, sendo a absorvência zero regulada em relação ao ar (sem cuba no trajecto óptico) ou em relação à água.

Nas cubas de 1 cm de trajecto óptico introduzir:

	Testemunha	Doseamento
Solução 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Solução 2.2	0,20 ml	0,20 ml
Água bidestilada	1,00 ml	0,90 ml
Suspensão 2.3	0,01 ml	0,01 ml
Amostra	—	0,10 ml.

Misturar; após cerca de 3 min., medir as absorvências das soluções testemunha e de doseamento (A_1).

Juntar:

Solução 2.4	0,01 ml	0,01 ml.
-------------	---------	----------

Misturar; esperar o final da reacção (cerca de 5 a 10 min.) e medir as absorvências das soluções testemunhas e doseamento (A_2).

Determinar as diferenças de absorvência ($A_2 - A_1$) da testemunha e do doseamento.

Deduzir a diferença de absorvência da testemunha da diferença de absorvência do doseamento.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T.$$

Nota: O tempo necessário à acção das enzimas pode variar de um lote para outro; o tempo que foi mencionado anteriormente apenas o foi a título indicativo. Recomenda-se a sua determinação para cada lote.

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

A concentração de ácido L-málico é dada em gramas por litro (g/l) com 1 decimal.

6.1. Modo de cálculo

A concentração em gramas por litro é calculada pela fórmula geral:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta A$$

V = volume do teste em ml (neste caso 2,22 ml)

v = volume da amostra em ml (neste caso 0,1 ml)

PM = massa molecular da substância a dosear (neste caso ácido L-málico = 134,09)

d = trajecto óptico da cuba em cm (neste caso 1 cm)

ϵ = coeficiente de absorção do NADH, a 340 nm $\epsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Obtem-se para o L-malato:

$$C = 0,473 \cdot \Delta A \text{ g/l.}$$

Se foi efectuada uma diluição aquando da preparação da amostra, multiplicar o resultado pelo factor de diluição.

Nota:

medição a 334 nm $C = 0,482 \times \Delta A$

medição a 365 nm $C = 0,876 \times \Delta A$.

6.2. **Repetibilidade (r)**

$$r = 0,03 + 0,034 x_i$$

x_i = concentração em ácido málico da amostra, em g/l.

6.3. **Reprodutibilidade (R)**

$$R = 0,05 + 0,071 x_i$$

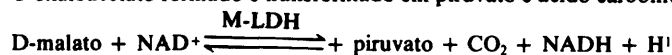
x_i = concentração em ácido málico da amostra em g/l.

20. ÁCIDO D-MÁLICO (método enzimático)

TESTE — COMBINAÇÃO PARA CERCA DE 30 DETERMINAÇÕES

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Em presença do D-malato-desidrogenase-dexcarboxil (D-MDH), o ácido D-málico (D-malato) é oxidado em oxaloacetato pela nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD). O oxaloacetato formado é transformado em piruvato e ácido carbónico.



A formação de NADH, medido pelo aumento de absorvência no comprimento de onda de 334, 340 e 365 nm é proporcional à quantidade de D-malato presente.

2. COMPOSIÇÃO DO COFRE (KIT)

- a) Frasco 1, contendo cerca de 30 ml de solução-tampão Hepes, 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetano-ácido sulfónico pH = 9,0 e estabilizadores
- b) Frasco 2, contendo cerca de 210 mg de liofilizado-NAD
- c) Três frascos 3, contendo o liofilizado de D-MDH, cada um com cerca de 8 U.

2.1. Preparação das soluções

- 2.1.1. Utilizar o conteúdo do frasco 2.a) sem diluição. Termostatar as soluções a 20-25 °C antes do seu emprego.
- 2.1.2. Dissolver o conteúdo do frasco 2.b) em 4 ml de água bidestilada.
- 2.1.3. Dissolver o conteúdo de um dos frascos 2.c) em 0,6 ml de água bidestilada. Termostatar a solução a 20-25 °C antes do seu emprego.

2.2. Estabilidade das soluções

O conteúdo do frasco 2.1.1 conserva-se pelo menos um ano a + 4 °C. A solução 2.1.2 conserva-se cerca de 3 semanas a + 4 °C e 2 meses a - 20 °C.

A solução 2.1.3 conserva-se 5 dias a + 4 °C.

3. APARELHAGEM

- 3.1. Espectrofotómetro permitindo que se efectuem as leituras a 340 nm, máximo de absorção do NADH e do NADPH
Na sua falta, utilizar um fotómetro de espectro descontínuo que permita efectuar as leituras a 334 nm ou a 365 nm.
- 3.2. Cubas de vidro de 1 cm de trajecto óptico ou cubas de utilização única
- 3.3. Micropipetas que permitam tomas de volumes compreendidos entre 0,01 e 2 ml

4. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

A quantidade de D-malato na cuba deve estar compreendida entre 2 µg e 50 µg. Diluir, portanto, a solução de ensaio de tal forma que a concentração em malato esteja compreendida entre 0,02 e 0,5 g/l resp. 0,02 e 0,3 g/l.

Se a diferença de absorção ΔA é $< 0,100$, o volume do ensaio pode ser aumentado até 1,80 ml, reduzindo o volume de água a adicionar, a fim de que os volumes totais sejam os mesmos nas duas cubas (ensaio e testemunha).

5. MODO OPERATÓRIO

Temperatura: 20 a 25 °C

Volume do teste: 2,95 ml

Leitura contra o ar (sem cuba no trajecto óptico) ou contra a água.

Introduzir nas cubas	Testemunha	Ensaio
Solução 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Solução 2.1.2	0,10 ml	0,10 ml
Água bidestilada	1,80 ml	1,70 ml
Ensaio	—	0,10 ml

Misturar. Cerca de 6 min. depois, ler as absorvências das soluções (A_1). Desencadear a reacção por adição de:

Solução 2.1.3	0,05 ml	0,05 ml
---------------	---------	---------

Misturar. No fim da reacção (cerca de 20 mn.), ler as absorvências das soluções (A_2).

Determinar as diferenças de absorvências ($A_2 - A_1$), do testemunho e do ensaio. Deduzir a diferença de absorvência da testemunha da do ensaio.

$$\Delta A = \Delta A_e - \Delta A_t$$

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

A concentração em ácido D-málico é dada em gramas por litro (g/l) com 1 decimal.

6.1. Modo de cálculo

A fórmula geral para o cálculo das concentrações é a seguinte:

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

V = volume do teste (ml)

v = volume do ensaio (ml)

PM = peso molecular da substância a dosear

d = espessura da cuba (cm)

ϵ = coeficiente de absorção do NADH

$$340 \text{ nm} = 6,3 \text{ (mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 \text{ (mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,4 \text{ (mmole}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

Obtém-se assim para o D-malato

$$C = \frac{2,95 \times 134,9}{\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} \times \Delta A = \frac{3,956}{\epsilon} \times \Delta A \text{ (g de D-malato/l de solução de ensaio)}$$

Se se efectuou uma diluição quando se fez a preparação da amostra, multiplicar o resultado pelo factor de diluição F.

6.2. Repetibilidade (r)

$$r = 0,05 \times X_i$$

6.3. Reprodutibilidade (R)

$$R = 0,1 \times X_i$$

X_i = Concentração em ácido D-málico em g/l.

21. ÁCIDO MÁLICO TOTAL

MÉTODO USUAL

1. FUNDAMENTO DO MÉTODO

O ácido málico, isolado com a ajuda de uma coluna de resina permutadora de aniões, doseia-se colorimetricamente no eluído, graças à coloração amarela que ele dá, sob acção do ácido sulfúrico a 96 p. 100 e do ácido cromotrópico. As substâncias contidas no eluído interferem nesta reacção. Contrariamente ao ácido málico, estas substâncias reagem com o ácido sulfúrico a 86 p. 100 e com o ácido cromotrópico. Para eliminar esta interferência, basta subtrair, da absorvência obtida depois da reacção com o ácido cromotrópico e o ácido sulfúrico a 96 p. 100, a absorvência obtida pela reacção do ácido cromotrópico com o ácido sulfúrico a 86 p. 100.

2. APARELHAGEM

- 2.1. Coluna de vidro com 250 mm de comprimento e de 35 mm de diâmetro interno, munida de uma torneira
- 2.2. Coluna de vidro de aproximadamente 300 mm de comprimento e 10-11 mm de diâmetro interno, munida de uma torneira
- 2.3. Banho de água a 100 °C
- 2.4. Espectrofotómetro que permita efectuar medições da absorvência no comprimento de onda de 420 nm com cubas de 10 mm de trajecto óptico

3. REAGENTES

- 3.1. Permutador de aniões de forte basicidade (p.e. Merck III)
- 3.2. Hidróxido de sódio a 5 p. 100 (m/v)
- 3.3. Ácido acético a 30 p. 100 (m/v)
- 3.4. Ácido acético a 0,5 p. 100 (m/v)
- 3.5. Solução de sulfato de sódio (Na_2SO_4) a 10 p. 100 (m/v)
- 3.6. Ácido sulfúrico concentrado a 95-97 % (m/m)
- 3.7. Ácido sulfúrico a 86 p. 100 (m/m)
- 3.8. Solução de ácido cromotrópico a 5 p. 100 (m/v)

A preparar extemporaneamente, antes de cada doseamento, dissolvendo 500 mg de cromotropato de sódio ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em 10 ml de água destilada.

- 3.9. Solução de ácido DL-málico a 0,5 g/l.

Dissolver 250 mg/l de ácido málico ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$) numa quantidade suficiente de solução de sulfato de sódio a 10 p. 100 (3.5) para obter 500 ml.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação do permutador de iões

Colocar na coluna de vidro de 35 × 250 mm acima da torneira, um tampão de algodão de vidro impregnado de água destilada. Deitar na coluna o permutador de iões posto em sus-

ensão em água, de forma a ter um espaço livre, de cerca de 50 mm, por cima da superfície do permutador de iões. Depois de lavar com 1000 ml de água destilada, encher a coluna com a solução de hidróxido de sódio a 5 p. 100, e deixar correr o líquido até cerca de 2-3 mm acima da superfície do permutador de iões; repetir ainda duas vezes esta operação de deixar em contacto durante 1 hora. Lavar com 1000 ml de água destilada. Em seguida, encher a coluna com a solução de ácido acético, a 30 p. 100, e deixar correr o líquido até cerca de 2-3 mm acima da superfície do permutador de iões; repetir a operação 2 vezes e deixar em contacto, pelo menos 24 h, antes de a utilizar. Conservar o permutador de iões em ácido acético a 30 p. 100 para doseamentos posteriores.

4.2. Preparação da coluna de permutadores de iões

Colocar na coluna de vidro de 11 × 300 mm acima da torneira um tampão de algodão de vidro. Deitar na coluna o permutador de iões, preparado como se descreveu em 4.1, com uma altura de 10 cm. Estando a torneira aberta, deixar passar a solução de ácido acético a 30 p. 100 até cerca de 2-3 mm acima da superfície do permutador. Lavar o permutador com 50 ml da solução de ácido acético a 0,5 p. 100.

4.3. Isolamento do ácido DL-málico

Deitar sobre o permutador, preparado como se descreveu em 4.2, 10 ml de vinho ou de mosto. Deixar passar o vinho, gota a gota (débito médio uma gota por segundo), até cerca de 2-3 mm acima da superfície do permutador de iões. Lavar a coluna então com cerca de 50 ml da solução de ácido acético a 0,5 p. 100 e, depois, com cerca de 50 ml de água destilada; deixar escoar estes líquidos com a mesma velocidade da do vinho.

Eluir os ácidos fixados sobre o permutador de iões com a ajuda da solução de sulfato de sódio a 10 p. 100 com a mesma velocidade das operações precedentes (1 gota/seg.); recolher o eluído num balão graduado de 100 ml até atingir o traço de referência.

Pode regenerar-se o permutador como se descreveu em 4.1.

4.4. Doseamento do ácido málico

Tomar dois tubos de abertura larga de 30 ml, esmerilados e fechados, «A» e «B». Introduzir em cada tubo 1,0 ml do eluído e 1,0 ml da solução de ácido cromotrópico a 5 p. 100. Juntar no tubo «A» 10,0 ml de ácido sulfúrico a 86 p. 100 (testemunha) e no tubo «B» 10,0 ml de ácido sulfúrico a 96 p. 100 (doseamento). Fechar e agitar para obter uma homogeneidade perfeita, sem molhar o esmerilado. Mergulhar os tubos durante 10 minutos exactamente num banho de água levada previamente a ebulição. Arrefecer os tubos a 20 °C na obscuridade. Exactamente 90 minutos depois do começo do arrefecimento, medir a absorvência do tubo «B» em relação à testemunha (tubo «A») no comprimento de onda de 420 nm, nas cubas de 1 cm de trajecto óptico.

4.5. Determinação da curva-padrão

Recolher 5-10-15 e 20 ml da solução de ácido málico a 0,5 g/l e introduzi-los em balões graduados de 50 ml; levar ao traço de referência, com a solução de sulfato de sódio a 10 p. 100.

As soluções assim obtidas correspondem aos eluídos obtidos a partir de vinhos contendo 0,5-1, 0-1,5 e 2,0 g de ácido DL-málico por litro.

Continuar como se indicou em 4.4.

Os valores da absorvência obtidos com estas soluções-padrão, relacionadas em função dos teores de ácido málico correspondentes, alinham-se numa recta que passa pela origem.

Sabendo-se que a intensidade da colocação depende muito da concentração do ácido sulfúrico, é necessário verificar a curva-padrão, pelo menos num ponto, sempre em cada série de medições, para pôr em evidência uma eventual mudança na concentração do ácido sulfúrico.

5. EXPRESSÃO DE RESULTADOS

Relacionar a absorvência medida para o eluído sobre a curva-padrão para obter o teor de ácido DL-málico em gramas por litro. Este teor é expresso com 1 decimal.

Repetibilidade:

Teor < 2 g/l : r = 0,1 g/l

Teor > 2 g/l : r = 0,2 g/l.

Reprodutibilidade:

R = 0,3 g/l.

22. ÁCIDO SÓRBICO

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1 Método de doseamento por espectrofotometria de absorção no ultra-violeta

O ácido sórbico (ácido hexadieno — 2,4 óico trans, trans), extraído por arrastamento pelo vapor de água, é doseado no destilado de vinho por espectrofotometria de absorção no ultra-violeta. As substâncias interferentes, medidas na mesma absorção no ultra-violeta, são eliminadas por evaporação a seco da toma de ensaios do destilado, ligeiramente alcalinizado por uma solução de hidróxido de cálcio. Os teores inferiores a 20 mg/l devem ser confirmados pela caracterização por cromatografia em camada fina (sensibilidade: 1 mg/l).

1.2 Método de doseamento por cromatografia gasosa

O ácido sórbico extraído pelo éter etílico é doseado por cromatografia em fase gasosa em presença de um padrão interno.

1.3 Método de pesquisa de vestígios por cromatografia em camada fina

O ácido sórbico extraído pelo éter etílico é separado por cromatografia em camada fina e a sua concentração é avaliada semi-quantitativamente.

2. MÉTODO DE DOSEAMENTO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NO ULTRA-VIOLETA

2.1 Reagentes

2.1.1 Ácido tartárico, $C_4H_6O_6$, cristalizado

2.1.2 Solução de hidróxido de cálcio $Ca(OH)_2$ aproximadamente 0,02 M

2.1.3 Solução de referência de ácido sórbico a 20 mg por litro

Dissolver 20 mg de ácido sórbico, $C_6H_8O_2$, em aproximadamente 2 ml de solução 0,1 M de hidróxido de sódio. Deitar num balão graduado de 1 000 ml e ajustar ao traço de referência com água. Pode, igualmente, dissolver-se 26,8 mg de sorbato de potássio $C_6H_7KO_2$ em água e completar até 1 000 ml com água.

2.2 Aparelhagem

2.2.1 Aparelho de arrastamento pelo vapor de água (cf. Acidez volátil)

2.2.2 Banho de água a 100 °C

2.2.3 Espectrofotómetro que permita efectuar medições no comprimento de onda 256 nm com cubas de quartzo de 1 cm de trajecto óptico

2.3 Modo operativo

2.3.1 Destilação

Colocar no borbulhador do aparelho de arrastamento pelo vapor de água 10 ml de vinho adicionados de 1 a 2 g de ácido tartárico (2.1.1). Recolher 250 ml de destilado.

2.3.2 Curva de calibração

Preparar, por meio de diluições com água a partir da solução de referência (2.1.3), quatro soluções de referência diluídas que titulem, respectivamente, 0,5 - 1,0 - 2,5 e 5,0 mg de

ácido sórbico por litro; medir por meio de espectrofotómetro as suas absorvências a 256 nm em relação à água destilada. Traçar a curva das variações da absorvência em função das concentrações das soluções. A variação é linear.

2.3.3. *Doseamento*

Numa cápsula de 55 mm de diâmetro, colocar 5 ml de destilado e juntar 1 ml de solução de hidróxido de cálcio (2.1.2). Evaporar à secura num banho de água em ebulição. Com alguns mililitros de água destilada, arrastar o residuo para um balão graduado de 20 ml e ajustar o volume ao traço de referência com as águas de lavagem. Medir a absorvência a 256 nm, por meio de espectrofotómetro, comparativamente a uma solução testemunha obtida por diluição de 1 ml de solução de hidróxido de cálcio (2.1.2) em 20 ml de água. A partir do valor da absorvência medida, utilizar a curva de calibração para obter a concentração C, da solução, em ácido sórbico.

Nota: Na prática corrente, esta evaporação a seco, pode não ser feita. Ler directamente a absorvência no destilado diluído a 1/4 em relação à água destilada.

2.4. *Expressão dos resultados*

2.4.1. *Modo de cálculo*

A concentração de ácido sórbico do vinho é expressa em miligramas por litro e é igual a:

$$100 \times C$$

C = concentração de ácido sórbico da solução, analisada por espectrofotometria, expressa em miligramas por litro.

3. MÉTODO DE DOSEAMENTO POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA

3.1. *Reagentes*

3.1.1. Éter etílico, (C₂H₅)₂O, destilado no momento de utilização

3.1.2. Solução de padrão interno: solução de ácido undecanóico, C₁₁H₂₂O₂, em etanol a 95 p. 100 (vol.), que titule 1 g por litro

3.1.3. Solução aquosa de ácido sulfúrico, H₂SO₄ (ρ₂₀ = 1,84 g/ml), diluído 1/3 (v/v)

3.2. *Aparelhagem*

3.2.1. Cromatógrafo de fase gasosa equipado com um detector de ionização de chama e uma coluna de aço inoxidável (4 m × 1/8 de polegada) previamente tratada com dimetildiclorosilano e cheia com uma fase estacionária, constituída por uma mistura de dietilenoglicol succinato (5 %) e ácido fosfórico (1 %) (DEGS - H₃PO₄) ou por uma mistura de dietilenoglicol adipato (7 %) e ácido fosfórico (1 %) (DEGA - H₃PO₄) fixada em Gaschrom Q80 - 100 mesh

Para o tratamento do dimetildiclorosilano (DMDCS), fazer passar na coluna uma solução que titule 2 a 3 g de DMDCS no tolueno. Lavar imediatamente a coluna com metanol; fazer passar uma corrente de azoto e, seguidamente, de hexano e, de novo, uma corrente de azoto. Encher seguidamente.

Condições operatórias:

Temperatura do forno: 175 °C.

Temperatura do injecto e do detector: 230 °C.

Gás vector: azoto (débito: 20 ml/min.).

3.2.2. Microseringa de 10 microlitros de capacidade graduada em 0,1 microlitros

Nota: Podem igualmente usar-se outros tipos de colunas, que permitam uma boa separação, especialmente a coluna capilar (p.e. FFAP). O modo operativo, descrito abaixo, é dado a título de exemplo.

3.3. **Modo operativo**

3.3.1. *Preparação da amostra a analisar*

Num tubo de vidro, de aproximadamente 40 ml de capacidade, munido de rolha esmerilhada, introduzir 20 ml de vinho e juntar 2 ml de solução de padrão interno (3.1.2) e 1 ml de solução diluída de ácido sulfúrico (3.1.3).

Após agitação por viragens sucessivas, juntar ao conteúdo do tubo 10 ml de éter etílico (3.1.1). Extrair o ácido sórbico na fase orgânica por agitação do tubo durante 5 minutos. Deixar decantar.

3.3.2. *Preparação da solução de referência*

Seleccionar um vinho cujo cromatograma do produto extraído pelo éter não apresente qualquer pico ao nível da eluição sórbica. Enriquecer este vinho em ácido sórbico com uma concentração de 100 mg por litro. Tratar 20 ml da amostra assim preparada de acordo com a técnica descrita em 3.3.1.

3.3.3. *Cromatografia*

Injectar sucessivamente no cromatógrafo com uma micro-seringa, 2 µl da fase etérea obtida em 3.3.2 e 2 µl da fase etérea obtida em 3.3.1.

Registar os cromatogramas respectivos: verificar a identidade dos tempos de retenção do ácido sórbico e do padrão interno. Medir a altura (ou a superfície) de cada um dos picos registados.

3.4. **Expressão dos resultados**

3.4.1. *Modo de cálculo*

A concentração de ácido sórbico do vinho analisado, expressa em miligramas por litro, é igual a

$$100 \cdot \frac{h}{H} \cdot \frac{I}{i}$$

H = altura do pico do ácido sórbico na solução de referência

h = altura do pico do ácido sórbico na amostra a analisar

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

i = altura do pico do padrão interno na amostra a analisar.

Nota: A concentração de ácido sórbico pode ser determinada do mesmo modo, a partir das medidas da superfície dos respectivos picos.

4. **MÉTODO DE PESQUISA DE VESTÍGIOS DE ÁCIDO SÓRBICO POR CROMATOLOGRAFIA EM CAMADA FINA**

4.1. **Reagentes**

4.1.1. Éter etílico, (C₂H₅)₂O

- 4.1.2. Solução aquosa de ácido sulfúrico H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), diluído a 1/3 (v/v)
- 4.1.3. Solução de referência de ácido sórbico numa mistura hidro-etanólica a 10 % de etanol (vol.) que titule aproximadamente 20 mg por litro
- 4.1.4. Fase móvel: hexano – pentano – ácido acético (20:20:3)
(C_6H_{14} – C_5H_{12} – CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05$ g/ml)
- 4.2. **Aparelhagem**
- 4.2.1. Placas para cromatografia em camada fina prontas para utilizar, 20×20 cm, cobertas de gel de poliamida (espessura de 0,15 mm) adicionado de um indicador de fluorescência
- 4.2.2. Cuba para cromatografia em camada fina
- 4.2.3. Micropipeta ou micro-seringa que permita medir volumes de 5 microlitros, com uma aproximação de $\pm 0,1$ microlitros
- 4.2.4. Lâmpada de radiações ultra-violetas (254 nm)
- 4.3. **Modo operativo**
- 4.3.1. *Preparação da amostra a analisar*
- Num tubo de vidro de aproximadamente 25 ml, munido de rolha esmerilhada, introduzir 10 ml de vinho e adicionar 1 ml de solução de ácido sulfúrico diluído (4.1.2) e 5 ml de éter etílico (4.1.1). Agitar por viragens sucessivas. Deixar decantar.
- 4.3.2. *Preparação de soluções diluídas de referência*
- A partir da solução 4.1.3, preparar cinco soluções diluídas de referência que titulem, respectivamente, 2 - 4 - 6 - 8 e 10 mg de ácido sórbico por litro.
- 4.3.3. *Cromatografia*
- A 2 cm do bordo inferior da placa, colocar com micro-seringa ou micropipeta, 5 μ l de fase etérea obtida em 4.3.1 e 5 μ l de cada uma das soluções diluídas de referência (4.3.2); a distância entre os pontos em que se colocarem as soluções deverá ser de 2 cm.
- Colocar a fase móvel (4.1.4) na cuba para cromatografia até uma altura de cerca de 0,5 cm e deixar a atmosfera da cuba ficar saturada dos vapores dos solventes. Colocar a placa na cuba. Deixar desenvolver o cromatograma em 12 a 15 cm (a duração do desenvolvimento é, aproximadamente, de 30 minutos). Secar a placa numa corrente de ar frio; examinar o cromatograma com uma lâmpada de radiação ultra-violeta a 254 nm.
- As manchas relativas ao ácido sórbico surgem com uma cor violeta-escuro, sobre o fundo amarelo fluorescente da placa.
- 4.4. **Expressão dos resultados**
- A comparação da intensidade da mancha da amostra a analisar e das manchas das soluções de referência permite avaliar semi-quantitativamente a concentração do ácido sórbico entre 2 e 10 mg por litro. Poderá ser determinada uma concentração igual a 1 mg por litro com um depósito de 10 μ l de solução da amostra a analisar. As concentrações superiores a 10 mg por litro poderão ser determinadas com um volume de depósito da solução a analisar inferior a 5 μ l (medida com uma micro-seringa).

23. ÁCIDO L — ASCÓRBICO**1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS**

Os métodos propostos permitem dosear o ácido L-ascórbico e o ácido dehidroascórbico presentes nos vinhos ou nos mostos.

1.1. Método de referência (fluorimétrico)

O ácido L-ascórbico é oxidado por acção do carvão activo em ácido dehidroascórbico. Este composto forma um outro composto fluorescente por reacção com a ortofenilenodiamina (OPDA). A realização de um ensaio testemunha em presença de ácido bórico permite determinar a fluorescência parasita (por formação de um complexo ácido bórico-ácido dehidroascórbico) e de a deduzir do doseamento fluorimétrico.

1.2. Método usual (colorimétrico)

O ácido L-ascórbico é oxidado pelo iodo em ácido dehidroascórbico, que precipita com a 2,4 dinitrofenilhidrazina na forma bis (2,4 — dinitrofenilhidrazona). Após a separação por cromatografia em camada fina e solubilização em meio acético, este composto, corado de vermelho, é doseado colorimetricamente a 500 nm.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA (MÉTODO FLUORIMÉTRICO)**2.1. Reagentes**

2.1.1. Solução de dihidrocloreto de ortofenilenodiamina ($C_6H_{10}Cl_2N_2$) a 0,02 g por 100 ml, preparado no momento.

2.1.2. Solução de acetato de sódio trihidratado ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$), a 500 g/litro.

2.1.3. Solução mista de ácido bórico e de acetato de sódio.

Dissolver 3 g de ácido bórico (H_3BO_3), em 100 ml de solução de acetato de sódio (2.1.2). Esta solução deve ser preparada no momento.

2.1.4. Solução de ácido acético cristalizável CH_3COOH , ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) diluído a 56 p. 100 (v/v) de pH vizinho de 1,2.

2.1.5. Solução de referência de ácido L-ascórbico a 1 g por litro.

Dissolver, no momento de utilização, 50 mg de ácido L-ascórbico ($C_6H_8O_6$), previamente desidratado, num exsiccador ao abrigo da luz, em 50 ml de solução de ácido acético (2.1.4).

2.1.6. Carvão activo muito puro para análise (1)

Introduzir 100 g de carvão activo num balão cónico de 2 l de capacidade e juntar 500 ml de uma solução de ácido clorídrico (HCl), ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml) a 10 p. 100 (v/v). Levar à ebulição, e filtrar por filtro de vidro calcinado de porosidade 3. Recolher o carvão assim tratado num balão cónico de 2 l de capacidade, juntar 1 l de água, agitar e filtrar por filtro de vidro calcinado de porosidade 3. Repetir duas vezes esta operação. Colocar o residuo numa estufa regulada a $115^\circ C \pm 5^\circ C$ durante 12 horas (uma noite por exemplo).

2.2. Aparelhagem

2.2.1. Fluorímetro. Utilizar um espectrofluorímetro equipado com uma lâmpada de espectro contínuo, utilizada na sua potência mínima. Os comprimentos de onda de excitação e de emissão óptimos para o ensaio serão determinados previamente e dependem do aparelho utilizado. A título indicativo, os comprimentos de onda de excitação e de emissão situam-se, respectivamente, na proximidade de 350 nm e de 430 nm. Cubas com 1 cm de trajecto óptico.

(1) Uma das designações comerciais é «norite».

2.2.2. Filtro em vidro calcinado de porosidade 3.

2.2.3. Tubos de ensaio (diâmetro \approx 10 mm).

2.2.4. Agitador para tubos de ensaio.

2.3. Modo operativo

2.3.1. *Preparação da amostra de vinho ou de mosto*

Tomar um volume de vinho ou de mosto e diluí-lo para 100 ml num balão graduado com a solução de ácido acético a 56 % (2.1.4), a fim de obter uma solução cuja concentração em ácido L-ascórbico esteja compreendida entre 0 e 60 mg/litro. Homogeneizar o conteúdo do balão graduado por meio de agitação. Juntar 2 g de carvão activo (2.1.6) e deixar em contacto durante 15 minutos agitando de vez em quando. Filtrar por papel de filtro vulgar, eliminando os primeiros mililitros de filtrado.

Em dois balões graduados de 100 ml introduzir 5 ml de filtrado e, respectivamente, 5 ml de solução mista de ácido bórico e de acetato de sódio (2.1.3) solução testemunha e 5 ml de solução de acetato de sódio (2.1.2) solução problema. Deixar em contacto durante 15 minutos, agitando de vez em quando, e completar até 100 ml com água destilada.

Recolher 2 ml do conteúdo de cada um dos balões, juntar 5 ml de solução de ortofenileno-diamina (2.1.1) e agitar; deixar desenvolver a reacção durante 30 minutos, ao abrigo da luz, e efectuar em seguida a medição no espectrofluorímetro.

2.3.2. *Curva de calibração*

Em 3 balões graduados de 100 ml colocar, respectivamente, 2, 4, 6 ml de solução de referência de ácido L-ascórbico (2.1.5), completar até 100 ml com a solução de ácido acético (2.1.4) e homogeneizar por agitação.

As soluções de referência preparadas contêm, respectivamente, 2, 4 e 6 mg/100 ml. Juntar 2 g de carvão activado (2.1.6) a cada um dos balões e deixar em contacto 15 minutos agitando de vez em quando. Filtrar por papel de filtro vulgar, eliminando os primeiros mililitros do filtrado. Introduzir 5 ml de cada um dos filtrados recolhidos em três balões graduados de 100 ml (primeira série) e repetir a operação numa segunda série de três balões graduados. Juntar a cada um dos balões da primeira série (correspondentes ao ensaio testemunha) 5 ml de solução mista de ácido bórico e acetato de sódio (2.1.3) e a cada um dos balões da segunda série 5 ml de solução de acetato de sódio (2.1.2).

Deixar em contacto durante 15 minutos, agitando de vez em quando, e completar até 100 ml com água destilada. Recolher 2 ml do conteúdo de cada um dos balões, juntar 5 ml de solução de ortofenileno-diamina (2.1.1) e agitar; deixar a reacção desenvolver-se durante 30 minutos, ao abrigo da luz, e efectuar em seguida a medição espectrofluorimétrica.

2.3.3. *Determinação fluorimétrica*

Regular para cada solução da curva de calibração e para a solução de doseamento, o zero da escala das medições sobre o ensaio testemunha correspondente. Efectuar, em seguida, a medição da intensidade da fluorescência para cada solução da gama de calibração e para a do doseamento. Traçar a curva de calibração; esta deve ser linear e passar pela origem. Relacionar sobre esta recta o valor relativo ao doseamento e deduzir o teor C de ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico da solução analisada.

2.3.4. *Expressão dos resultados*

A concentração do vinho em ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico, expressa em miligramas por litro, será:

C · F

F = factor de diluição.

3. MÉTODQ USUAL (COLORIMÉTRICO)

3.1. Reagentes

3.1.1. Solução de ácido metafosfórico a 30 p. 100 (m/v).

Tomar 30 g de ácido metafosfórico (HPO_3)_n, previamente triturado num almofariz. Lavar rapidamente por imersão e agitação em água destilada. Dissolver o ácido lavado em água destilada, por agitação num balão graduado de 100 ml e ajustar o volume ao traço de referência. A solução obtida titula cerca de 30 p. 100 (m/v) de ácido metafosfórico.

3.1.2. Solução de ácido metafosfórico a 3 p. 100 (m/v) preparada no momento por diluição a 1/10, com água destilada, da solução 3.1.1.

3.1.3. Solução de ácido metafosfórico a 1 p. 100 (m/v) preparada no momento por diluição a 1/30, com água destilada, da solução 3.1.1.

3.1.4. Suspensão de poliamida

Colocar em suspensão 10 g de pó de poliamida para cromatografia com 60 ml de água destilada e deixar em contacto durante 2 horas. A quantidade preparada é suficiente para 4 determinações.

3.1.5. Tiourea (H_2NCSNH_2)

3.1.6. Solução de iodo (I_2) 0,05 M.

3.1.7. Solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina a 6 % (m/v). Colocar em suspensão 6 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4$) em 50 ml de ácido acético cristalizável ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml); juntar 50 ml de ácido sulfúrico ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) e agitar para dissolver a 2,4-dinitrofenilhidrazina dissolve-se por agitação.

3.1.8. Acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) adicionado de 2 p. 100 (v/v) de ácido acético cristalizável (3.1.12).

3.1.9. Clorofórmio (CHCl_3).

3.1.10. Solução aquosa de amido a 0,5 p. 100 (m/v).

3.1.11. Fase móvel:

acetato de etilo	50 vol.
clorofórmio	60 vol.
ácido acético cristalizável	5 vol.

Deixar a mistura solvente em repouso 12 horas antes da utilização.

3.1.12. Ácido acético cristalizável (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml).

3.1.13. Solução de ácido L-ascórbico a 0,1 g p. 100 ml de solução de ácido metafosfórico a 1 p. 100 (3.1.3).

3.2. Aparelhagem

3.2.1. Centrifuga de laboratório e tubos de centrifuga de 50 ml de capacidade e com rolhas esmeriladas.

3.2.2. Banho de água arrefecido, com termóstato, entre 5 e 10 °C.

3.2.3. Banho de água arrefecido, com termóstato a 20 °C.

3.2.4. Placas para cromatografia em camada fina, prontas a utilizar, 20 × 20 cm, cobertas de gel de sílica G (espessura 0,25 ou 0,3 mm).

- 3.2.5. Cuba para cromatografia.
- 3.2.6. Micropipeta que permita depositar volumes de 0,2 ml.
- 3.2.7. Espectrofotómetro que permita efectuar medições da absorvência a 500 nm, equipado com cubas de 1 cm de trajecto óptico.

3.3. Modo operativo

3.3.1. *Oxidação do ácido L-ascórbico em ácido dehidroascórbico*

Introduzir 50 ml de vinho num balão graduado de 100 ml, juntar 15 ml de suspensão de poliamida (3.1.4) e ajustar até ao traço de referência com a solução de ácido metafosfórico a 3 p. 100 (3.1.2). Deixar em contacto durante 1 hora, agitando frequentemente. Filtrar por um filtro plissado. Recolher 20 ml de filtrado num tubo de centrífuga e juntar 1 ml de solução 0,05 M de iodo (3.1.6). Homogeneizar por agitação o conteúdo do tubo de centrífuga e, após 1 minuto, reduzir o excesso de iodo com aproximadamente 25 mg de tioureia (3.1.5).

3.3.2. *Formação e extracção da bis (2,4-dinitrofenilhidrazona) do ácido dicetogulónico*

Colocar o tubo num banho de água arrefecida entre 5 e 10 °C e juntar 4 ml de solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina (3.1.7). Homogeneizar o conteúdo do tubo, evitando molhar a rolha de vidro. Rolhar cuidadosamente o tubo e deixá-lo num banho de água a 20 °C durante cerca de 16 horas (uma noite, por exemplo).

Adicionar 15 ml de acetato de etilo (3.1.8) ao conteúdo do tubo de centrífuga, voltar a rolar o tubo, agitar 30 segundos e centrifugar durante 5 minutos, aplicando uma força centrífuga de 350 a 400 g. Pipetar 10 ml de acetato de etilo da extracção para um balão cónico de rolha esmerilada. Juntar 5 ml de acetato de etilo (3.1.8) ao conteúdo do tubo de centrífuga, rolar o tubo, agitar 30 segundos e centrifugar durante 5 minutos, à mesma velocidade. Tomar 5 ml de acetato de etilo da extracção e adicionar este volume à solução da primeira extracção no balão cónico. Homogeneizar a mistura por agitação.

3.3.3. *Separação por cromatografia da bis (2,4-dinitrofenilhidrazona), a efectuar nas 2 horas seguintes à extracção (3.3.2)*

A partir de uma margem de 2 cm na parte inferior e de 2 cm na parte lateral, depositar linearmente em todo o comprimento 0,2 ml de extracto de acetato de etilo. Colocar a fase móvel (3.1.11) na cuba a uma altura de 1 cm e deixar a atmosfera do recipiente saturar-se de vapores dos solventes. Introduzir a placa, deixar o solvente migrar até ao bordo superior da placa e secá-la durante uma hora sob uma *hotte* ventilada. Com uma espátula, soltar perpendicularmente à zona de migração a zona corada de vermelho (característica da 2,4-dinitrofenilhidrazona). Recolher o substracto numa folha de papel *glacé* e transvasá-lo para um balão cónico e rolha esmerilada, juntando depois 4 ml de ácido acético (3.1.12). Deixar em contacto durante 30 minutos, agitando-o frequentemente. Filtrar por papel de filtro plissado directamente para a cuba do espectrofotómetro (3.2.7). O filtrado obtido deve estar limpo. Regular o zero da escala das absorvências a 500 nm com o ácido acético (3.1.12), medir a absorvência da solução.

3.3.4. *Curva de calibração*

Colocar em 3 balões graduados de 100 ml respectivamente 5, 10 e 15 ml de solução de ácido L-ascórbico (3.1.13) e ajustar até ao traço de referência com a solução de ácido metafosfórico a 1 p. 100 (3.1.3). As soluções obtidas titulam, respectivamente, 50, 100 e 150 mg/litro em ácido ascórbico.

Tratar 50 ml de cada uma destas soluções de acordo com a técnica descrita em 3.3.1, 3.3.2 e 3.3.3. Traçar a curva de calibração, que deve ser linear e passar pela origem.

3.3.5. *Expressão dos resultados*

A concentração do vinho em ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico é expressa em miligramas por litro.

3.3.5.1. Cálculo

A partir do valor da absorvência medida em 3.3.3 utilizar a curva de calibração para obter a concentração em ácido L-ascórbico e ácido dehidroascórbico da solução analisada.

N.B.: Se a concentração de ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico for superior a 150 mg/litro, reduzir o volume da toma de ensaio para 25,20 ou 10 ml de vinho e multiplicar o resultado obtido pelo factor F de diluição.

24. pH

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Medir a diferença de potencial entre dois eléctrodos mergulhados no líquido estudado. Um dos eléctrodos tem um potencial que é uma função definida do pH deste líquido, o outro tem um potencial fixo e conhecido, e constitui o eléctrodo de referência.

2. APARELHAGEM

2.1. pH-metro com escala aferida em unidades de pH, que permita efectuar medições com uma aproximação de 0,05 da unidade, no mínimo.

2.2. Eléctrodos:

2.2.1. Eléctrodo de vidro, a conservar em água destilada.

2.2.2. Eléctrodo de referência de calomel-cloreto de potássio saturado, a conservar numa solução saturada de cloreto de potássio.

2.2.3. Ou eléctrodo combinado a conservar em água destilada.

3. REAGENTES

3.1. Soluções-tampão:

3.1.1. Solução saturada de tartarato ácido de potássio. Solução contendo pelo menos 5,7 g/l de tartarato ácido de potássio ($C_4H_5KO_6$), a 20 °C. (Esta solução pode conservar-se dois meses em presença de 0,1 g de timol por 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. Solução 0,05 M de ftalato ácido de potássio. Solução contendo 10,211 g/l de ftalato ácido de potássio ($C_8H_5KO_4$), a 20 °C. (Duração máxima de conservação: 2 meses)

$$\text{pH} \begin{cases} 3,999 \text{ a } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ a } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.3. Solução que contenha:

Fosfato monopotássico, $KH_2 PO_4$	3,402 g
Fosfato dipotássico, $K_2 H PO_4$	4,354 g
Água q.b. para	1 l

(Duração máxima de conservação: 2 meses)

$$\text{pH} \begin{cases} 6,90 \text{ a } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ a } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

N.B.: Podem, igualmente, ser utilizadas as soluções-tampão de referência do comércio.

4. MODO OPERATÓRIO**4.1. Preparação da amostra a analisar****4.1.1. Caso do mosto e do vinho**

Trabalhar directamente com o mosto ou o vinho.

4.1.2. Caso do mosto concentrado rectificado

Diluir o mosto concentrado rectificado em água, para obter uma concentração de $25 \pm 0,5$ p. 100 (m/m) de açúcares totais (25 °Brix).

Se P for o teor em p. 100 (m/m) de açúcares totais do mosto concentrado rectificado, pesar uma massa igual a

$$\frac{2\,500}{P}$$

e completar até 100 g com água. A água utilizada deve ter uma condutividade inferior a 2 microsiemens por centímetro.

4.2. Regulação do zero do aparelho

A regulação do zero efectua-se antes de qualquer medição, de acordo com as indicações dadas para o aparelho utilizado.

4.3. Calibração do potenciómetro

A calibração efectua-se a 20 °C, seguindo as indicações dadas para o aparelho utilizado, com as soluções-tampão de pH 6,88 e 3,57 a 20 °C.

Utilizar a solução-tampão de pH 4,00 a 20 °C para controlar a calibração da escala.

4.4. Medição

Mergulhar o eléctrodo na amostra analisada, cuja temperatura deve estar compreendida entre 20 e 25 °C e tão próxima quanto possível dos 20 °C. Ler directamente na escala o valor do pH.

Efectuar pelo menos duas determinações na mesma amostra.

Tomar como resultado a média aritmética das leituras efectuadas.

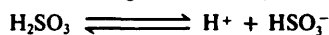
5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

O pH do mosto, do vinho ou da solução a 25 p. 100 (m/m) (25 °Brix) do mosto concentrado rectificado é expresso com dois decimais.

25. DIÓXIDO DE ENXOFRE

1. DEFINIÇÕES

Chama-se «dióxido de enxofre» ao dióxido de enxofre presente no mosto ou no vinho sob as formas seguintes: H_2SO_3 , H SO_3^- cujo equilíbrio é função do pH e da temperatura:



H_2SO_3 representa o dióxido de enxofre molecular.

Chama-se «dióxido de enxofre total» ao conjunto das diferentes formas de dióxido de enxofre presentes no vinho, no estado livre ou combinado com os seus constituintes.

2. DIÓXIDO DE ENXOFRE LIVRE E TOTAL

2.1. Princípio dos métodos

2.1.1. Método de referência

2.1.1.1. O caso dos vinhos e dos mostos:

O dióxido de enxofre é arrastado por uma corrente de ar ou de azoto; é fixado e oxidado por borbulhagem numa solução diluída e neutra de peróxido de hidrogénio. O ácido sulfúrico formado é doseado por uma solução titulada de hidróxido de sódio. O dióxido de enxofre livre é extraído do vinho por arrastamento a frio (10 °C).

O dióxido de enxofre total é extraído do vinho por arrastamento a quente (aproximadamente 100 °C).

2.1.1.2. Caso dos mostos concentrados rectificadas:

O dióxido de enxofre total é extraído por arrastamento a quente (100 °C aproximadamente) do mosto concentrado rectificado, previamente diluído).

2.1.2. Método rápido de ensaio (vinhos e mostos)

O dióxido de enxofre livre é doseado por titulação iodométrica directa.

O dióxido de enxofre combinado é doseado, em seguida, por titulação iodométrica após hidrólise alcalina. Adicionado ao dióxido de enxofre livre, ele permite obter o dióxido de enxofre total.

2.2. Método de referência

2.2.1. Aparelhagem

2.2.1.1. O aparelho utilizado deve ser conforme ao esquema seguinte, principalmente no que respeita ao refrigerante.

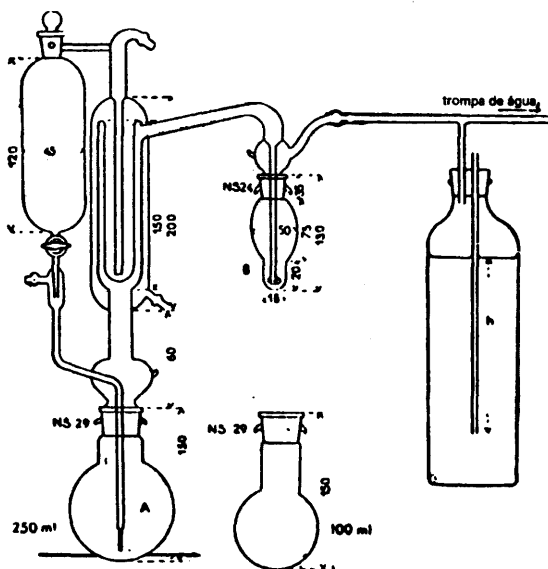


Fig. 1

As dimensões estão indicadas em milímetros. Os diâmetros internos dos quatro tubos concêntricos que constituem o refrigerante são de 45, 34, 27 e 10 mm.

O tubo de entrada dos gases no borbulhador «B» termina por uma pequena esfera de 1 cm de diâmetro que comporta, no seu grande círculo horizontal, 20 furos de 0,2 mm de diâmetro. Pode-se, igualmente, terminá-la por uma placa de vidro calcinado que assegure a formação de um grande número de pequeníssimas bolhas, permitindo um bom contacto das fases gasosa e líquida.

O débito gasoso que deve percorrer o aparelho deve ser de cerca de 40 l/h. O frasco colocado à direita do aparelho destina-se a limitar a 20 a 30 cm de água a depressão produzida pela trompa de água. Para poder regular esta depressão, de modo a que o débito seja correcto, é conveniente colocar entre o borbulhador e o frasco um medidor de débito em tubo semicapilar.

2.2.1.2. Microbureta

2.2.2. Reagentes

2.2.2.1. Ácido fosfórico a 85 p. 100 (H_3PO_4) ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

2.2.2.2. Solução de peróxido de hidróxido a 9,1 g de H_2O_2 /litro (3 volumes).

2.2.2.3. Reagente indicador:

vermelho de metilo	100 mg
azul de metileno	50 mg
álcool a 50 % vol	100 ml

2.2.2.4. Solução de hidróxido de sódio (NaOH), 0,01 M.

2.2.3. Modo operativo

2.2.3.1. Doseamento do dióxido de enxofre livre

Antes do doseamento, o vinho deve ter sido mantido a 20 °C num frasco cheio e rolhado durante 2 dias.

— No borbulhador «B» colocar 2 a 3 ml de solução de peróxido de hidrogénio (2.2.2.2) e 2 gotas de reagente indicador, e neutralizar a solução de peróxido de hidrogénio com a solução 0,01 M de hidróxido de sódio (2.2.2.4).

Adaptar este borbulhador ao aparelho.

— No balão «A» de 250 ml do aparelho de arrastamento, introduzir 50 ml da amostra e 15 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Colocar o balão no aparelho.

Em seguida, fazer borbulhar ar (ou azoto) durante 15 minutos. O dióxido de enxofre livre arrastado é oxidado em ácido sulfúrico.

Retirar o borbulhador do aparelho e titular o ácido formado com a solução de hidróxido de sódio 0,01 M (2.2.2.4).

Seja «n» o número de mililitros utilizados.

2.2.3.2. Expressão dos resultados

O dióxido de enxofre livre exprime-se em miligramas por litro (mg/l) sem decimais.

2.2.3.2.1. Cálculo

Dióxido de enxofre livre em miligramas por litro: 6,4 n.

2.2.3.3. Doseamento de dióxido de enxofre total

2.2.3.3.1. No caso dos mostos concentrados rectificadas, diluir a amostra a analisar a 40 % (m/v) como é indicado na capítulo «Acidez total», em 5.1.2. No balão «A» de 250 ml do aparelho de arrastamento, colocar 50 ml da solução de diluição e 5 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Colocar o balão no aparelho.

2.2.3.3.2. Caso dos vinhos e mostos

Teor previsível da amostra < 50 mg/l SO₂ total. No balão «A» de 250 ml do aparelho de arrastamento, introduzir 50 ml da amostra e 15 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Colocar o balão no seu lugar.

Todavia, admite-se que, até 31 de Dezembro de 1992, o mais tardar, para as análises do teor em dióxido de enxofre dos sumos de uvas, se empregue 5 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1) diluído a 25 p. 100 (m/v).

2.2.3.3. Teor previsível da amostra > 50 mg/l de SO₂ total. No balão «A» de 100 ml do aparelho de arrastamento, introduzir 20 ml de amostra e 5 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Colocar o balão no seu lugar.

Colocar no borbulhador «B» 2 a 3 ml de solução de peróxido de hidrogénio (2.2.2.2), neutralizá-la como anteriormente e levar o vinho contido no balão «A» à ebulição por meio de uma pequena chama de 4 a 5 cm de altura, que deve tocar directamente o fundo do balão. Não colocar uma tela metálica debaixo do balão, mas pousá-lo num disco com uma abertura de 30 mm de diâmetro. Evita-se deste modo a pirogenação das matérias extractivas do vinho nas paredes do balão.

Manter a ebulição durante a passagem da corrente de ar (ou de azoto). Em 15 minutos, o dióxido de enxofre total fol arrastado e oxidado. Dosear o ácido sulfúrico formado pela solução 0,01 M de hidróxido de sódio (2.2.2.4).

Seja «n» o número de mililitros empregues.

2.2.3.4. Expressão dos resultados

O dióxido de enxofre total expressa-se em miligramas por litro (mg/l) ou em miligramas por quilograma (mg/kg) de açúcares totais, sem decimais.

2.2.3.4.1. Cálculo

— Caso dos vinhos e dos mostos

Dióxido de enxofre total, expresso em miligramas por litro:

— Amostras pobres em dióxido de enxofre (toma de ensaio de 50 ml):

$$6,4 \cdot n$$

— Outras amostras (toma de ensaio de 20 ml):

$$16 \cdot n$$

— Caso dos mostos concentrados rectificadados

Dióxido de enxofre em miligramas por quilo de açúcares totais [toma de ensaio de 50 ml de amostra preparada (2.2.3.3.1)]:

$$\frac{1600 \cdot n}{P}$$

P = teor p. 100 (m/m) em açúcares totais.

2.2.3.4.2. Repetibilidade (r)

Teor < 50 mg/l (toma de ensaio de 50 ml), r = 1 mg/l

Teor > 50 mg/l (toma de ensaio de 20 ml), r = 6 mg/l

2.2.3.4.3. Reprodutibilidade (R)

Teor < 50 mg/l (toma de ensaio de 50 ml), R = 9 mg/l

Teor > 50 mg/l (toma de ensaio de 20 ml), R = 15 mg/l

2.3. Método rápido de ensaio

2.3.1. Reagentes

2.3.1.1. EDTA (Complexona III): sal dissódico do ácido etileno-diamina-tetracético. (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈, 2H₂O).

- 2.3.1.2. Solução 4 M de hidróxido de sódio NaOH (160 g/l).
- 2.3.1.3. Ácido sulfúrico H₂SO₄ (ρ₂₀ = 1,84 g/ml), solução a 1/10 (v/v).
- 2.3.1.4. Solução de amido a 5 g/l.
Diluir 5 g de amido em cerca de 500 ml de água. Levar à ebulição agitando e manter em ebulição durante 10 minutos; juntar 200 g de cloreto de sódio (NaCl). Levar até 1 litro após arrefecimento.
- 2.3.1.5. Solução de 0,025 M de iodo (I₂)
- 2.3.2. *Material*
- 2.3.2.1. Balões cónicos de 500 ml
- 2.3.2.2. Bureta
- 2.3.2.3. Pipetas de 1, 2, 5 e 50 ml
- 2.3.3. *Modo operativo*
- 2.3.3.1. Dióxido de enxofre livre
Num balão cónico de 500 ml, colocar:
— 50 ml de vinho
— 5 ml de goma de amido (2.3.1.4)
— 30 mg de EDTA (2.3.1.1)
— 3 ml de H₂SO₄ a 1/10 (v/v) (2.3.1.3)
Titular imediatamente com iodo 0,025 M (2.3.1.5) até que a coloração azul persista nitidamente durante 10 a 15 segundos, sendo «n ml» o volume de iodo utilizado.
- 2.3.3.2. Dióxido de enxofre combinado
Juntar 8 ml de solução 4 M de hidróxido de sódio (2.3.1.2), agitar uma só vez e deixar em contacto durante 5 minutos. Deitar de uma só vez e, agitando energicamente o conteúdo de um pequeno copo em que se colocaram 10 ml de ácido sulfúrico a 1/10 (2.3.1.3), titular imediatamente com iodo 0,025 M (2.3.1.5) sendo «n'» o volume de iodo empregue.
Juntar 20 ml de solução 4 M de hidróxido de sódio (2.3.1.2), deixar em contacto 5 minutos depois de ter agitado uma só vez. Diluir com 200 ml de água tão fria quanto possível.
Agitando-o energicamente, deitar de uma só vez 30 ml de ácido sulfúrico a 1/10 (2.3.1.3) colocados previamente numa proveta. Titular o dióxido de enxofre libertado com iodo 0,025 M (2.3.1.5) sendo «n''» o volume de iodo utilizado.
- 2.3.4. *Expressão dos resultados*
- 2.3.4.1. Cálculo:
Dióxido de enxofre livre, expresso em miligramas por litro: 32 n.
Dióxido de enxofre total, expresso em miligramas por litro: 32 (n + n' + n'').
- Notas:*
1. Para os vinhos tintos pobres em SO₂, é conveniente utilizar iodo mais diluído do que 0,025 M, por exemplo: 0,01 M. Substituir o coeficiente 32 por 12,8 nas fórmulas anteriores.

2. Para os vinhos tintos, é conveniente iluminar o vinho por baixo, com um feixe de luz amarela obtida com uma lâmpada eléctrica vulgar e uma solução de cromato de potássio ou por meio de uma lâmpada de vapor de sódio. É necessário estar numa câmara escura e observar a transparência do vinho, que se torna opaco logo que a viragem da goma se atinge.
3. Quando a quantidade de dióxido de enxofre encontrada se aproxima do limite legal ou o excede, convém dosear o dióxido de enxofre total pelo método de referência.
4. Quando se tem um interesse especial no doseamento do dióxido de enxofre, ele será convencionalmente determinado numa amostra mantida durante dois dias ao abrigo do ar, à temperatura de 20 °C, antes da análise, e esta será igualmente executada à temperatura de 20 °C.
5. Dado que certas substâncias são oxidadas pelo iodo em meio ácido, é necessário — para doseamentos mais rigorosos — avaliar a quantidade de iodo assim utilizado. Para tal, é necessário combinar o dióxido de enxofre livre com um excesso de etanal ou de propanal antes de executar a titulação com iodo. Juntar a 50 ml de vinho, colocados num balão cónico de 300 ml, 5 ml de solução de etanal (C₂H₄O) a 7 g/l ou 5 ml de uma solução de propanal (C₃H₆O) a 10 g/l.

Tapar com uma rolha e deixar em repouso durante pelo menos 30 minutos. Juntar 3 ml de ácido sulfúrico a 1/10 (2.3.1.3) e iodo 0,025 M (2.3.1.5) em quantidade suficiente para fazer virar a goma de amido. Que «n'''» seja o volume de iodo utilizado. A este valor deve ser subtraído n (dióxido de enxofre livre) e n + n' + n'' (dióxido de enxofre total).

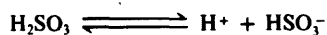
Geralmente, n''' é fraco: 0,2 a 0,3 ml de iodo 0,025 M. Se o vinho foi adicionado de ácido ascórbico, n''' é bastante mais elevado e é possível, pelo menos aproximadamente, medir a quantidade deste produto por meio do valor de n''', sabendo que 1 ml de iodo 0,025 M oxida 4,4 mg de ácido ascórbico. Pela medição de n''' podem detectar-se, sem dificuldades, os vinhos a que se adicionou ácido ascórbico em quantidade superior a 20 mg/l e que não se transformou em produtos de oxidação.

3. DIÓXIDO DE ENXOFRE MOLECULAR

3.1. Princípio do método

A percentagem de dióxido de enxofre molecular, H₂SO₃, no dióxido de enxofre livre, é avaliada em função do pH, do título alcoométrico e da temperatura.

Para uma temperatura e um título alcoométrico dados:



$$[\text{H}_2\text{SO}_3] = \frac{L}{10^{(\text{pH} - \text{pK}_M)} + 1} \quad (1)$$

$$\text{com } \text{pK}_M = \text{pK}_T - \frac{A\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}}$$

$$L = [\text{H}_2\text{SO}_3] + [\text{HSO}_3^-]$$

I = força iónica.

A e B = coeficientes que variam com a temperatura e o título alcoométrico.

K_T = constante termodinâmica de dissociação; o valor de pK_T é dado no quadro 1 em função do título alcoométrico e da temperatura.

K_M = constante mista de dissociação.

Tomando para a força iónica I o valor médio 0,038, o quadro 2 indica os valores de pK_M em função da temperatura e do título alcoométrico.

O teor de dióxido de enxofre molecular calculado a partir da relação (1) é dado no quadro 3 em função do pH, da temperatura e do título alcoométrico.

3.2. Cálculo

Se se conhecer o pH do vinho e o seu título alcoométrico, a percentagem de dióxido de enxofre molecular é dada pelo quadro 3, para a temperatura t °C; seja X %.

Teor de dióxido de enxofre molecular em mg/l:

$X \cdot C$

C = teor de dióxido de enxofre livre em mg/l.

QUADRO 1

Valores da constante termodinâmica pK_T

Álcool (% em volume)	Temperatura °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

QUADRO 2

Valores da constante mista pK_M ($I = 0,038$)

Álcool (% em volume)	Temperatura °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

QUADRO 3
Dióxido de enxofre molecular em percentagem do dióxido de enxofre livre

SO ₂ molecular % do SO ₂ livre					
T = 20 °C					
I = 0,038					
pH	Álcool (% em 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

QUADRO 3 (continuação)
 Dióxido de enxofre molecular em percentagem do dióxido de enxofre livre

SO ₂ molecular % do SO ₂ livre					
T = 35 °C					
I = 0,038					
pH	Álcool (% em 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. SÓDIO

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método de referência: Espectrofotometria de absorção atómica

O sódio é doseado directamente no vinho por espectrofotometria de absorção atómica, após adição de um tampão espectral de cloreto de céσιο para evitar a ionização do sódio.

1.2. Método usual: fotometria de chama

O sódio é doseado directamente no vinho diluído pelo menos a 1/10 por fotometria de chama.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA

2.1. Reagentes

2.1.1. Solução de sódio a 1 g/l

Utilizar uma solução-padrão, comercial, de sódio a 1 g/l. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 2,542 g de cloreto de sódio (NaCl) seco, em água destilada e perfazendo o volume de 1 litro.

Conservar esta solução num frasco de polietileno.

2.1.2. Solução-modelo

Ácido cítrico $C_6H_8O_7$, H_2O	3,5 g
Sacarose $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
Glicerol $C_3H_8O_3$	5,0 g
Cloreto de cálcio anidro $Ca Cl_2$	50 mg
Cloreto de magnésio anidro $Mg Cl_2$	50 mg
Álcool etílico absoluto C_2H_5OH	50 ml
Água q.b. para	500 ml

2.1.3. Solução de cloreto de céσιο a 5 p. 100 (m/v) em céσιο

Dissolver 6,330 g de cloreto de céσιο ($Cs Cl$) em 100 ml de água destilada.

2.2. Aparelhagem

2.2.1. Espectrofotómetro de absorção atómica, equipado com queimador alimentado com ar e acetileno.

2.2.2. Lâmpada de cátodo oco de sódio.

2.3. Modo operatório

2.3.1. Preparação da amostra

Introduzir 2,5 ml de vinho num balão marcado de precisão de 50 ml, juntar 1 ml da solução de cloreto de céσιο (2.1.3) e perfazer o volume com água destilada.

2.3.2. *Calibração*

Numa série de balões marcados de precisão de 100 ml introduzir 5,0 ml de solução-modelo, adicionar 0 - 2,5 - 5 - 7,5 - 10 ml da solução-padrão de sódio a 1 g/l (2.1.1) previamente diluída a 1/100, juntar a todos os balões 2 ml da solução de cloreto de cézio (2.1.3) e perfazer o volume com água destilada.

As soluções-padrão preparadas contêm, respectivamente, 0 - 0,25 - 0,50 - 0,75 - 1,00 mg de sódio e 1 g de cézio por litro. Estas soluções devem ser conservadas em frascos de polietileno.

2.3.3. *Doseamento*

Seleccionar o comprimento de onda de 589,0 nm. Regular o zero com a solução-modelo que contém 1 g de cézio por litro (2.3.2). Aspirar directamente o vinho diluído no queimador do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão (2.3.2). Ler as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

2.4. **Resultados**2.4.1. *Cálculo*

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de sódio das soluções-padrão.

A partir do valor médio das absorvências obtidas na amostra, determinar a concentração C de sódio, em miligramas por litro, utilizando a curva de referência.

A concentração de sódio, expressa em miligramas por litro de vinho, sem decimais, será:

$$20 \times C$$

2.4.2. *Repetibilidade: r*

$$r = 1 + 0,024 x_i \text{ mg/l}$$

x_i = Concentração em sódio da amostra expressa em mg/l.

2.4.3. *Reprodutibilidade: R*

$$R = 2,5 + 0,05 x_i \text{ mg/l}$$

x_i = Concentração de sódio na amostra em mg/l.

3. **MÉTODO USUAL**3.1. **Reagentes**3.1.1. *Solução-padrão de sódio a 20 mg por litro*

Álcool absoluto (C ₂ H ₅ OH)	10	ml
Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇ , H ₂ O)	700	mg
Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300	mg
Glicerol (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000	mg
Tartarato ácido de potássio (C ₄ H ₅ KO ₆)	481,3	mg
Cloreto de cálcio anidro (Ca Cl ₂)	10	mg
Cloreto de magnésio anidro (Mg Cl ₂)	10	mg
Cloreto de sódio seco (NaCl)	50,84	mg
Água q.b. para	1	l

3.1.2. *Solução de diluição*

Álcool absoluto (C ₂ H ₅ OH)	10	ml
Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇ , H ₂ O)	700	mg
Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300	mg
Glicerol (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000	mg
Tartarato ácido de potássio (C ₄ H ₅ KO ₆)	481,3	mg
Cloreto de cálcio anidro (Ca Cl ₂)	10	mg
Cloreto de magnésio anidro (Mg Cl ₂)	10	mg
Água q.b. para	1	l

Para preparar as soluções 3.1.1 e 3.1.2 dissolver o tartarato ácido de potássio em cerca de 500 ml de água destilada muito quente, misturar a solução com os outros constituintes previamente dissolvidos em 400 ml de água destilada e perfazer o volume de 1 litro. As soluções, a que se adicionou 2 gotas de isocianato de alilo, são conservadas em frascos de polietileno.

3.2. **Aparelhagem**

3.2.1. Fotómetro de chama alimentado por uma mistura de ar-butano.

3.3. **Modo operativo**3.3.1. *Calibração*

Numa série de balões marcados de precisão de 100 ml, colocar 5 - 10 - 15 - 20 - 25 ml de solução de sódio a 20 mg/l (3.1.1) e completar o volume de 100 ml com solução de diluição (3.1.2). Obtêm-se soluções que contêm, respectivamente, 1 - 2 - 3 - 4 - 5 mg de sódio por litro.

3.3.2. *Doseamento*

Efectuar as medições a 589,0 nm. Regular o valor de 100 % de transmitância com água destilada. Aspirar, directa e sucessivamente, no queimador do fotómetro, as soluções padrão (3.3.1), depois o vinho a 1/10 com água destilada e registar as percentagens de transmitância. Se necessário, diluir o vinho já diluído a 1/10 com a solução (3.1.2).

3.4. **Resultados**3.4.1. *Cálculo*

Traçar a curva de variação da percentagem de transmitância em função da concentração de sódio das soluções-padrão. A partir do valor médio das percentagens de transmitância obtidas na amostra, determinar a concentração C de sódio a partir da curva de referência. Sendo F o factor de diluição, a concentração de sódio, expressa em miligramas por litro, sem decimais, será:

$$C \times F$$

F = Factor de diluição.

3.4.2. *Repetibilidade: r*

Vinhos (salvo licorosos): r = 1,4 mg/l

Vinhos licorosos: r = 2,0 mg/l.

3.4.3. *Reprodutibilidade: R*

$$R = 4,7 + 0,08 x_i \text{ mg/l.}$$

x_i = concentração de sódio da amostra em mg/l.

27. POTÁSSIO

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método de referência: Espectrofotometria de absorção atômica

O potássio é doseado directamente no vinho diluído por espectrofotómetro de absorção atômica, após adição de um tampão espectral de cloreto de cézio para evitar a ionização do potássio.

1.2. Método usual: Fotometria de chama

O potássio é doseado directamente no vinho diluído por fotometria de chama.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA

2.1. Reagentes

2.1.1. Solução-padrão de potássio a 1 g/l

Utilizar uma solução-padrão, comercial, de potássio a 1 g/l. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 4,813 g de tartarato ácido de potássio ($C_4H_5KO_6$) em água destilada e perfazendo o volume de 1 litro.

2.1.2. Solução modelo

Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	3,5 g
Sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	1,5 g
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	5,0 g
Cloreto de cálcio anidro ($Ca Cl_2$)	50 mg
Cloreto de magnésio anidro ($Mg Cl_2$)	50 mg
Álcool etílico absoluto (C_2H_5OH)	50 ml
Água q.b. para	500 ml

2.1.3. Solução de cloreto de cézio a 5 p. 100 em cézio

Dissolver 6,330 g de cloreto de cézio ($Cs Cl$) em 100 ml de água destilada.

2.2. Aparelhagem

2.2.1. Espectrofotómetro de absorção atômica, equipado com queimador alimentado com ar e acetileno.

2.2.2. Lâmpada de cátodo oco de potássio.

2.3. Modo operativo

2.3.1. Preparação da amostra

Introduzir 2,5 ml de vinho previamente diluído 1/10 num balão marcado de precisão de 50 ml, juntar 1 ml da solução de cloreto de cézio (2.1.3) e perfazer o volume com água destilada.

2.3.2. Calibração

Numa série de balões marcados de precisão de 100 ml, introduzir 5 ml de solução modelo (2.1.2), medir 0 - 2,0 - 4,0 - 6,0 - 8,0 ml de solução de potássio a 1 g/l, (2.1.1) previamente

diluída a 1/10. Juntar a todos os balões 2 ml da solução de cloreto de céσιο (2.1.3) e perfazer o volume com água destilada. As soluções-padrão preparadas contêm, respectivamente, 0 - 2 - 4 - 6 - 8 mg de potássio e 1 g de céσιο, por litro. Estas soluções serão conservadas em frascos de polietileno.

2.3.3. *Doseamento*

Seleccionar o comprimento de onda de 769,9 nm. Regular o zero da escala das absorvências com a solução-modelo que contêm 1 g de céσιο por litro (2.3.2). Aspirar directamente o vinho diluído (2.3.1) no queimador do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão (2.3.2). Registrar as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

2.4. **Expressão dos resultados**

2.4.1. *Cálculo*

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de potássio das soluções-padrão. A partir do valor médio das absorvências obtidas na amostra, determinar a concentração C de potássio em miligramas por litro, utilizando a curva de referência.

Sendo F o factor de diluição (neste caso 200), a concentração de potássio, expressa em miligramas por litro de vinho, sem decimais, será:

$$F \times C$$

2.4.2. *Repetibilidade: r*

$$r = 35 \text{ mg/l.}$$

2.4.3. *Reprodutibilidade: R*

$$R = 66 \text{ mg/l.}$$

2.4.4. *Outras formas de expressar os resultados*

— Em miliequivalentes por litro: $0,0256 \times F \times C$

— Em tartarato ácido de potássio em miligramas por litro: $4,813 \times F \times C$

3. MÉTODO USUAL: Espectrofotometria de chama

3.1. **Reagentes**

3.3.1. *Solução de referência a 100 mg por litro, de potássio:*

Álcool absoluto (C ₂ H ₅ OH)	10 ml
Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇ , H ₂ O)	700 mg
Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300 mg
Glicerol (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000 mg
Cloreto de sódio (NaCl)	50,8 mg
Cloreto de cálcio anidro (Ca Cl ₂)	10 mg
Cloreto de magnésio anidro (Mg Cl ₂)	10 mg
Tartarato ácido de potássio desidratado (C ₄ H ₄ KO ₆)	481,3 mg
Água q.b. para	1 000 ml

Para a preparação destas soluções, dissolver o tartarato ácido de potássio em cerca de 500 ml de água destilada muito quente, misturar a solução com os outros constituintes previamente dissolvidos em 400 ml de água destilada e perfazer o volume de 1000 ml.

3.1.2.	<i>Solução de diluição</i>	
	Álcool absoluto (C ₂ H ₅ OH)	10 ml
	Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇ , H ₂ O)	700 mg
	Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	300 mg
	Glicerol (C ₃ H ₈ O ₃)	1 000 mg
	Cloreto de sódio (NaCl)	50,8 mg
	Cloreto de cálcio anidro (Ca Cl ₂)	10 mg
	Cloreto de magnésio anidro (Mg Cl ₂)	10 mg
	Ácido tartárico (C ₄ H ₆ O ₆)	383 mg
	Água q.b. para	1 000 ml

As soluções, a que se adicionou 2 gotas de isotiocianato de alilo, são conservadas em frascos de polietileno.

3.2. **Aparelhagem**

3.2.1. Fotómetro de chama alimentado por uma mistura de ar-butano.

3.3. **Modo operativo**

3.3.1. *Calibração*

Em quatro balões marcados de precisão de 100 ml, colocar 25 - 50 - 75 - 100 ml de solução de referência (3.1.1) e completar o volume de 100 ml com solução de diluição (3.1.2). Obtêm-se soluções que contêm, respectivamente, 25 - 50 - 75 - 100 mg de potássio por litro.

3.3.2. *Doseamento*

Efectuar as medições a 766 nm. Regular o valor de 100 % de transmitância com água destilada. Aspirar directa e sucessivamente, no queimador do fotómetro, as soluções-padrão (3.3.1), depois o vinho diluído a 1/10 com água destilada e registar as percentagens de transmitância. Se necessário, diluir o vinho já diluído a 1/10 com a solução de diluição (3.1.2).

3.4. **Resultados**

3.4.1. *Modo de cálculo*

Traçar a curva de variação da percentagem de transmitância em função da concentração de potássio das soluções-padrão. A partir do valor médio das percentagens de transmitâncias obtidas na amostra de vinho diluído, determinar a concentração C de potássio a partir da curva de referência.

A concentração de potássio, expressa em miligramas por litro, sem decimais, será:

$$C \times F$$

F = Factor de diluição.

3.4.2. *Repetibilidade: r*

$$r = 17 \text{ mg/l.}$$

3.4.3. *Reprodutibilidade: R*

$$R = 66 \text{ mg/l.}$$

3.4.4. Outras formas de expressar os resultados:

- Em miliequivalentes por litro: $0,0256 \times F \times C$
- Em tartarato ácido de potássio em miligramas por litro: $4,813 \times F \times C$.

28. MAGNÉSIO**1. PRINCÍPIO**

O magnésio é doseado directamente no vinho, convenientemente diluído, por espectrofotometria de absorção atómica.

2. REAGENTES**2.1. Solução-padrão concentrada de magnésio que contenha 1 g por litro**

Utilizar uma solução-padrão de magnésio do comércio. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 8,3646 g de cloreto de magnésio ($MgCl_2 \cdot 6 H_2O$) em água destilada e perfazendo o volume de 1 litro.

2.2. Solução-padrão diluída de magnésio que contenha 5 mg por litro.

Nota: Conservar as soluções-padrão de magnésio em frascos de polietileno.

3. APARELHAGEM**3.1. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um queimador alimentado por ar e acetileno.****3.2. Lâmpada de cátodo oco de magnésio.****4. MODO OPERATÓRIO****4.1. Preparação da amostra**

Diluir o vinho a 1/100 com água destilada.

4.2. Calibração

Numa série de balões graduados de 100 ml, colocar 5 – 10 – 15 e 20 ml da solução 2.2 e completar até 100 ml com água destilada. As soluções preparadas contêm, respectivamente, 0,25 – 0,50 – 0,75 – 1 mg de magnésio por litro. Estas soluções são conservadas em frascos de polietileno.

4.3. Doseamento

Seleccionar o comprimento de onda de 285 nm.

Regular o zero da escala das absorvências com água destilada. Aspirar directamente o vinho diluído no queimador do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão preparadas em 4.2.

Registar as absorvências; efectuar as determinações em duplicado.

5. RESULTADOS**5.1. Modo de cálculo**

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de magnésio das soluções-padrão.

A partir do valor médio das absorvências obtidas na amostra de vinho diluído, utilizar esta curva para determinar a concentração C de magnésio.

A concentração de magnésio, expressa em miligramas por litro de vinho, arredondada às unidades, será:

$$100 \times C$$

5.2. **Repetibilidade: r**

$$r = 3 \text{ mg/l.}$$

5.3. **Reprodutibilidade: R**

$$R = 8 \text{ mg/l.}$$

29. CÁLCIO

1. PRINCÍPIO

O cálcio é doseado directamente no vinho, convenientemente diluído, por espectrofotometria de absorção atómica, após adição de um tampão espectral.

2. REAGENTES

2.1. Solução-padrão de cálcio que contenha 1 g por litro

Utilizar uma solução-padrão de cálcio do comércio a 1 g/l. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 2,5 g de carbonato de cálcio (Ca CO_3) numa quantidade suficiente de HCl a 1/10 (v/v) para obter a sua dissolução e ajustando o volume a 1 litro com água destilada.

2.2. Solução-padrão diluída de cálcio que contenha 50 mg por litro

Nota: Conservar as soluções-padrão de cálcio em frascos de polietileno.

2.3. Solução de cloreto de lantânio a 50 g/l em lantânio

Dissolver 13,369 g de cloreto de lantânio ($\text{La Cl}_3, 7 \text{ H}_2\text{O}$) em água destilada; juntar 1 ml de HCl diluído a 1/10 (v/v) e ajustar o volume a 100 ml.

3. APARELHAGEM

3.1. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um queimador alimentado por ar e acetileno.

3.2. Lâmpada de cátodo oco de cálcio.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra

Num balão graduado de 20 ml, colocar 1 ml de vinho, 2 ml da solução 2.3 e perfazer o volume com água destilada. O vinho diluído a 1/20 contém 5 g de lantânio por litro.

Nota: Relativamente aos vinhos doces, a concentração de 5 g de lantânio por litro é suficiente desde que a diluição origine teores de açúcares inferiores a 2,5 g por litro. Para concentrações superiores de açúcares é necessário elevar o teor de lantânio a 10 g por litro.

4.2. Calibração

Em cinco balões graduados de 100 ml, colocar 0 – 5 – 10 – 15 e 20 ml da solução 2.2, juntar 10 ml da solução 2.3 a todos os balões e perfazer o volume com água destilada. As soluções-padrão preparadas contêm, respectivamente, 0 – 2,5 – 5 – 7,5 e 10 mg de cálcio por litro e 5 g de lantânio por litro. Estas soluções são conservadas em frascos de polietileno.

4.3. Doseamento

Seleccionar o comprimento de onda de 422,7 nm. Regular o zero da escala das absorvências com a solução que contém 5 g de lantânio por litro (4.2). Aspirar directamente o vinho diluído no queimador do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão preparadas em 4.2. Registrar as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS**5.1. Cálculo**

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de cálcio das soluções-padrão.

A partir do valor médio das absorvências obtidas com a amostra de vinho diluído utilizar esta curva para determinar a sua concentração C de cálcio. A concentração de cálcio, expressa em miligramas por litro de vinho, arredondada às unidades, será:

$$20 \cdot C$$

5.2. Repetibilidade: r

Teor < 60 mg/l : r = 2,7 mg/l.

Teor > 60 mg/l : r = 4 mg/l.

5.3. Reprodutibilidade: R

$$R = 0,114 x_i - 0,5$$

x_i = concentração em mg/l da amostra.

30. FERRO**1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS****Método de referência**

Após diluição conveniente do vinho e eliminação do álcool, o ferro é doseado por espectrometria de absorção atómica.

Método usual

Após mineralização do vinho com perhidrol, o ferro que se encontra no estado de Fe III é reduzido ao estado de Fe II doseado devido à coloração vermelha a que dá origem com ortofenantrolina.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA**2.1. Reagentes****2.1.1. Solução-padrão concentrada de ferro III que contenha 1 g por litro.**

Utilizar uma solução-padrão do comércio, a 1 g/l. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 8,6341 g de sulfato de ferro III e de amónio [$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$] em água destilada, ligeiramente acidificada pelo ácido clorídico M e perfazendo o volume de 1 litro.

2.1.2. Solução-padrão diluída de ferro, que contenha 100 miligramas por litro.**2.2. Aparelhagem****2.2.1. Evaporador rotativo com banho de água com termóstato.****2.2.2. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um queimador alimentado por ar e acetileno.****2.2.3. Lâmpada de cátodo oco de ferro.****2.3. Modo operativo****2.3.1. Preparação da amostra**

Eliminar o álcool do vinho por concentração do volume da amostra para metade, através de um evaporador rotativo (50–60°C). Levar até ao volume inicial com água destilada.

Se necessário, efectuar uma diluição antes da dosagem.

2.3.2. Calibração

Em cinco balões graduados de 100 ml, colocar 1 – 2 – 3 – 4 – 5 ml de solução de ferro a 100 miligramas por litro (2.1.2) e completar até 100 ml com água destilada. As soluções preparadas contêm, respectivamente, 1 – 2 – 3 – 4 – 5 mg de ferro por litro.

Estas soluções são conservadas em frascos de polietileno.

2.3.3. Doseamento

Seleccionar o comprimento de onda de 248,3 nm. Regular o zero da escala das absorvências com água destilada. Aspirar directamente a amostra diluída no queimador

do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão preparadas em 2.3.2. Registrar as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

2.4. Resultados

2.4.1. Cálculo

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de ferro das soluções-padrão. A partir do valor médio da absorvência obtida com a amostra de vinho diluído, utilizar esta curva para determinar a concentração de ferro C.

A concentração de ferro, expressa em miligramas por litro de vinho, arredondado às decimais, será:

$$C \cdot F$$

F = factor de diluição.

3. MÉTODO USUAL

3.1. Reagentes

3.1.1. Solução de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) a 30 p. 100 (m/v), isento de ferro.

3.1.2. Solução de ácido clorídrico (HCl), isento de ferro, 1 M.

3.1.3. Hidróxido de amónio, NH_4OH ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml).

3.1.4. Pedra-pomes tratada com ácido clorídrico a 1/2 em ebulição e lavada com água destilada.

3.1.5. Solução de hidroquinona ($C_6H_6O_2$) a 2,5 p. 100 acidificada com 1 ml de ácido sulfúrico puro ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) para 100 ml de solução. Esta solução é conservada num frasco amarelo no frigorífico e substituída logo que surja o menor acastanhamento.

3.1.6. Solução de sulfito de sódio (Na_2SO_3) a 20 p. 100 preparada a partir do sulfito neutro e anidro.

3.1.7. Solução de ortofenantrolina ($C_{12}H_8N_2$, H_2O) a 0,5 p. 100 em álcool a 96 % vol.

3.1.8. Solução de acetato de amónio (CH_3COONH_4) a 20 p. 100 (m/v).

3.1.9. Solução de ferro III a 1 g de ferro por litro. Utilizar uma solução-padrão do comércio. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 8,6341 g de sulfato de ferro e amónio [$NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$] em 100 ml de solução 1M de ácido clorídrico (3.1.2) perfazendo o volume a 1 litro com a solução 1M de ácido clorídrico (3.1.2).

3.1.10. Solução-padrão diluída de ferro a 100 miligramas por litro.

3.2. Aparelhagem

3.2.1. Balão de Kjeldahl de 100 ml.

3.2.2. Espectrofotómetro que permita efectuar medições no comprimento de onda de 508 nm.

3.3. Modo operatório

3.3.1. Mineralização

3.3.1.1. Vinho cujo teor de açúcar é inferior a 50 g/l:

Num balão de Kjeldahl colocar 25 ml de vinho, 10 ml de solução de peróxido de hidrogénio (3.1.1) e alguns grãos de pedra-pomes (3.1.4). Concentrar o líquido até um volume de 2 a 3 ml.

Após arrefecimento, juntar ao resíduo, obtido sem molhar as paredes do balão, o hidróxido de amónio (3.1.3) em quantidade necessária para alcalinizar o meio e precipitar os hidróxidos.

Após arrefecimento, adicionar ao líquido alcalino a solução 1M de ácido clorídrico (3.1.2) em quantidade necessária para dissolver o precipitado dos hidróxidos e passar a solução obtida para um balão graduado de 100 ml. Após lavagem do balão de Kjeldahl com a solução M de ácido clorídrico (3.1.2.) ajustar o volume a 100 ml utilizando a mesma solução.

3.3.1.2. Mostos e vinhos cujo teor de açúcares é superior a 50 g/l:

3.3.1.2.1. Teor de açúcares compreendido entre 50 e 200 g/l:

A toma de ensaio de 25 ml de mosto ou de vinho é tratada com 20 ml de solução de peróxido de hidrogénio (3.1.1).

Continuar como se descreveu em 3.3.1.1.

3.3.1.2.2. Teor de açúcares superior a 200 g/l:

As amostras de mosto ou de vinho devem ser previamente diluídas a 1/2 ou mesmo a 1/4 e tratadas segundo o modo operativo 3.3.1.2.1.

3.3.2. *Ensaio em branco*

Efectuar um ensaio em branco com água destilada, utilizando o mesmo volume de solução de peróxido de hidrogénio (3.1.1) que o empregue para a mineralização e seguindo o protocolo experimental descrito em 3.3.1.1.

3.3.3. *Doseamento*

Recolher 20 ml da solução clorídrica do produto da mineralização da amostra (3.3.1.1) e 20 ml da solução clorídrica do ensaio em branco (3.3.2) e introduzi-las em dois balões graduados de 50 ml. Juntar em cada balão 2 ml da solução de hidroquinona (3.1.5), 2 ml da solução de sulfito de sódio (3.1.6) e 1 ml da solução de ortofenantrolina (3.1.7). Deixar em repouso durante 15 minutos para favorecer a redução de Fe III em Fe II. Juntar 10 ml da solução de acetato de amónio (3.1.8), ajustar o volume a 50 ml com água destilada e agitar os dois balões graduados. Medir a absorvência a 508 nm da solução a dosear regulando o zero da escala das absorvências com a solução proveniente do ensaio em branco.

3.3.4. *Calibração*

Em quatro balões graduados de 50 ml, colocar 0,5 - 1 - 1,5 - 2 ml da solução a 100 mg de ferro por litro (3.1.10) e 20 ml de água destilada; continuar segundo a técnica descrita em 3.3.3 e medir a absorvência de cada uma das soluções-padrão preparadas, correspondendo, respectivamente, a 50 - 100 - 150 - 200 microgramas de ferro na toma de ensaio.

3.4. **Expressão de resultados**

3.4.1. *Modo de cálculo*

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de ferro das soluções-padrão. A partir da absorvência obtida com a solução a examinar, utilizar essa curva para determinar a concentração de ferro C da toma de ensaio de 20 ml de solução clorídrica de mineralização, ou seja, em 5 ml da amostra a analisar.

A concentração de ferro, expressa em miligramas por litro de vinho, arredondado às decimais, será:

$$200 \cdot C$$

Se o vinho (ou o mosto) tiver sido diluído, a concentração de ferro, expressa em miligramas por litro de vinho, arredondado às decimais, será:

$$200 \cdot C \cdot F$$

F = factor de diluição.

31. COBRE

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Utilização da espectrofotometria de absorção atómica.

2. APARELHAGEM

2.1. Cápsula de platina.

2.2. Espectrofotómetro de absorção atómica.

2.3. Lâmpada de cátodo oco, de cobre.

2.4. Gás de alimentação: ar, acetileno e/ou protóxido de azoto/acetileno.

3. REAGENTES

3.1. Cobre metálico.

3.2. Ácido nítrico concentrado a 65 % (HNO_3 , $\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).

3.3. Ácido nítrico diluído a 1/2 (v/v).

3.4. Solução de cobre a 1 g/l

Utilizar uma solução-padrão de cobre do comércio a 1 g/l. Esta solução pode ser preparada pesando 1,00 g de cobre metálico e transferindo-o quantitativamente para um balão graduado de 1 000 ml.

Juntar ácido nítrico diluído a 1/2 (3.3), em quantidade estritamente suficiente para dissolver o metal, adicionar 10 ml de ácido nítrico concentrado (3.2) e levar até ao traço de referência com água bidestilada.

3.5. Solução de cobre a 100 mg/l

Tomar 10 ml da solução 3.4 e introduzi-los num balão marcado de precisão de 100 ml completando o volume com água bidestilada.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra

Se necessário, preparar uma diluição adequada com água bidestilada.

4.2. Determinação da curva de calibração

Numa série de balões marcados de precisão, de 100 ml, introduzir 0,5 – 1 – 2 ml da solução 3.5 (100 mg de cobre por litro), perfazendo o volume com água bidestilada. As soluções obtidas contêm respectivamente 0,5, 1 e 2 mg/l de cobre.

4.3. Doseamento

Seleccionar o comprimento de onda de 324,8 nm. Regular o zero da escala das absorvências com água destilada. Aspirar directamente a amostra diluída no queimador do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão preparadas em 4.2. Ler as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Cálculo

A partir da absorvência obtida na amostra, determinar a concentração C , em miligramas por litro, de cobre, utilizando a curva de calibração.

Tomar a absorvência verificada para a amostra do vinho diluído na curva de calibração e anotar a concentração C em mg/l.

Sendo F o factor de diluição, a concentração de cobre no vinho, expresso em miligramas por litro, será:

$$F \cdot C$$

O resultado é apresentado com 2 decimais.

Observações:

- a) As soluções para a determinação da curva de calibração e as diluições da amostra devem ser sempre escolhidas em função da sensibilidade do aparelho utilizado e da concentração de cobre presente na amostra.
- b) Para concentrações de cobre na amostra muito reduzidas, o modo operativo é a seguinte: colocar 100 ml da amostra numa cápsula de platina, evaporar em banho de água até à consistência de xarope e juntar, gota a gota, 2,5 ml de ácido nítrico concentrado (3.2), procurando cobrir todo o fundo da cápsula. Proceder com precaução à incineração do resíduo sobre uma placa eléctrica de aquecimento ou sobre uma pequena chama; em seguida, introduzir a cápsula num forno com mufla regulado a $500^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$, deixando repousar durante cerca de uma hora. Após arrefecimento, humedecer as cinzas com 1 ml de ácido nítrico concentrado (3.2) esmagando-as com uma vareta de vidro, evaporar e incinerar de novo como anteriormente. Levar de novo a cápsula ao forno durante 15 minutos; repetir pelo menos três vezes este tratamento com ácido nítrico concentrado. Dissolver as cinzas juntando à cápsula 1 ml de ácido nítrico concentrado (3.2) e 2 ml de água bidestilada; transvasar para um balão graduado de 10 ml. Lavar a cápsula três vezes com 2 ml de cada vez de água bidestilada; completar até ao traço de aferição com água bidestilada.

32. CÁDMIO

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O cádmio é directamente doseado no vinho por espectrofotometria de absorção atómica sem chama.

2. APARELHAGEM

Todos os utensílios de vidro devem ser previamente lavados, primeiro com ácido nítrico concentrado quente (70–80 °C) e de seguida com água bidestilada.

- 2.1. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um forno de grafite, um corrector de ruído de fundo e um registador multipotenciométrico.
- 2.2. Lâmpada de cátodo oco de cádmio.
- 2.3. Micropipetas de 5 µl munidas de extremidades especiais para medidas de absorção atómica.

3. REAGENTES

A água utilizada deve ser água bidestilada num aparelho de vidro borossilicatado ou água de pureza equivalente. Todos os reagentes devem ser de pureza analítica reconhecida e, em especial, isentos de cádmio.

- 3.1. Ácido fosfórico a 85 p. 100 ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).
- 3.2. Solução de ácido fosfórico obtida por diluição com água de 8 ml de ácido fosfórico para 100 ml.
- 3.3. Solução 0,02 M de sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).
- 3.4. Solução-tampão pH 9 obtida por dissolução, num balão graduado de 100 ml, de 5,4 g de cloreto de amónio com alguns mililitros de água, adição de 35 ml de solução de hidróxido de amónio ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml) diluída a 25 % (v/v) e ajustada até ao traço de referência com água.
- 3.5. Negro de eriocromo T: diluição sólida a 1 % (m/m) em cloreto de sódio.
- 3.6. **Sulfato de cádmio (3CdSO₄, 8H₂O)**

O título do sulfato de cádmio deve ser verificado de acordo com o seguinte modo operativo:

Pesar exactamente 102,6 mg da amostra de sulfato de cádmio, transferir quantitativamente para um copo de precipitação com água, agitar até à dissolução; adicionar 5 ml de solução-tampão pH 9, cerca de 20 mg de negro de eriocromo T. Titular com a solução de EDTA até à viragem do indicador para azul.

O volume de EDTA adicionado deve ser igual a 20 ml. Se o volume for um pouco diferente, corrigir a toma de amostra do sulfato de cádmio pesada utilizada para a preparação da solução de referência.

3.7. Solução-padrão de cádmio a 1 g por litro

Utilizar uma solução-padrão comercial. Esta solução pode ser obtida por dissolução de 2,2820 g de sulfato de cádmio em água ajustando, seguidamente, o volume para 1 litro. Conservar a solução num frasco de vidro borossilicatado com rolha esmerilada.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra

Diluir o vinho para 1/2 (v/v) com a solução de ácido fosfórico.

4.2. **Preparação das soluções-padrão de calibração**

A partir da solução-padrão a 1 g/l de cádmio, preparar por diluições sucessivas-soluções com os títulos respectivamente de 2,5 – 5 – 10 – 15 microgramas de cádmio por litro.

4.3. **Determinação**

4.3.1. *Programa do forno (proposta a título indicativo):*

Secagem a 100 °C durante 30 segundos.

Mineralização a 900 °C durante 20 segundos.

Atomização a 2250 °C durante 2 a 3 segundos.

Fluxo de azoto (gás de arrastamento): 6 litros/minuto.

N.B.: No final da operação, subida da temperatura até 2700 °C para purgar o forno.

4.3.2. *Medidas de absorção atômica*

Seleccionar o comprimento de onda 228,2 nm. Regular o zero da escala das absorvências com água bidestilada. Injectar no forno, utilizando uma micropipeta, três vezes 5 µl de cada uma das soluções-padrão de calibração e da solução da amostra a analisar. Registrar as absorvências medidas. Calcular o valor médio da absorvência a partir dos resultados relativos às três injeções.

5. **RESULTADOS**

5.1. **Cálculo**

Traçar a curva das variações da absorvência em função das concentrações em cádmio das soluções-padrão de calibração. A variação é linear. Marcar o valor médio da absorvência da solução da amostra sobre a recta de calibração e determinar a concentração C de cádmio. A concentração de cádmio expressa em microgramas por litro de vinho é:

2 C.

33. PRATA**1. PRINCÍPIO**

Utilização da espectrofotometria de absorção atómica, precedida de mineralização da amostra.

2. APARELHAGEM

- 2.1. Cápsula de platina.
- 2.2. Banho de água, com termóstato a 100 °C.
- 2.3. Mufla regulada a 500-525 °C.
- 2.4. Espectrofotómetro de absorção atómica.
- 2.5. Lâmpada de cátodo oco, de prata.
- 2.6. Gás de alimentação: ar/acetileno.

3. REAGENTES

- 3.1. Nitrato de prata (AgNO_3).
- 3.2. Ácido nítrico concentrado a 65 % (HNO_3), ($\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).
- 3.3. Ácido nítrico diluído a 1/10 (v/v).

3.4. Solução de prata a 1 g/l

Utilizar uma solução-padrão de prata, do comércio.

Esta solução pode ser preparada dissolvendo 1,575 g de nitrato de prata em ácido nítrico diluído (3.3) perfazendo o volume de 1 000 ml com o mesmo ácido.

3.5. Solução de prata a 10 mg/l

Diluir 10 ml de solução 3.4 a 1 000 ml com ácido nítrico diluído (3.3).

4. MODO OPERATÓRIO**4.1. Preparação da amostra**

Colocar 20 ml da amostra numa cápsula de platina, evaporar a seco num banho de água a 100 °C em ebulição. Incinerar no forno a 500-525 °C até que as cinzas fiquem brancas. Retomar as cinzas com 1 ml de ácido nítrico concentrado (3.2), evaporar em banho de água a 100 °C; repetir a adição de 1 ml de ácido nítrico (3.2) e evaporar. Adicionar 5 ml de ácido nítrico diluído (3.3) e aquecer ligeiramente até à dissolução.

4.2. Calibração

Para uma série de balões marcados de precisão de 100 ml, medir 2 - 4 - 6 - 8 - 10 e 20 ml da solução 3.5 a 10 mg de prata por litro e perfazer o volume com ácido nítrico diluído (3.3). Estas soluções contêm respectivamente 0,20 - 0,40 - 0,60 - 0,80 - 1,0 e 2,0 mg/l de prata.

4.3. Doseamento

Seleccionar o comprimento de onda 328,1 nm. Regular o zero da escala das absorvências com ácido nítrico diluído (3.3). Aspirar directamente o líquido obtido como em 4.1 no

queimador do espectrofotómetro, e depois as soluções-padrão, sucessivamente. Ler as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Modo de cálculo

A partir da absorvência lida na amostra, determinar a concentração C, em miligramas por litro, de prata, utilizando a curva de calibração.

Tomar a absorvência verificada para o líquido obtido em conformidade com 4.1 na curva de calibração e anotar a concentração C em mg/l.

A concentração de prata no vinho, expresso em miligramas por litro, será:

$$0,25 \cdot C$$

O resultado é apresentado com 2 decimais.

Notas: As soluções para determinação da curva de calibração, a quantidade da amostra colhida e o volume final do líquido podem ser escolhidas em função da sensibilidade do aparelho utilizado.

34. ZINCO

1. PRINCÍPIO

O zinco é doseado directamente no vinho desalcoholizado por espectrofotometria de absorção atómica.

2. REAGENTES

A água utilizada deve ser água bidestilada num aparelho de vidro borossilicatado ou água de pureza equivalente.

2.1. Solução-padrão de zinco a 1 g por litro.

Utilizar uma solução-padrão de zinco do comércio. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 4,3975 g de sulfato de zinco ($Zn\ SO_4, 7\ H_2O$) em água e ajustando o volume a 1 litro.

2.2. Solução-padrão diluída de zinco que contenha 100 miligramas por litro.

3. APARELHAGEM

3.1. Evaporador rotativo com banho de água com termóstato.

3.2. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um queimador alimentado por ar e acetileno.

3.3. Lâmpada de cátodo oco de zinco.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra

Eliminar o álcool do vinho por concentração a $\frac{1}{2}$ de 100 ml de vinho colocados num evaporador rotativo (temperatura: 50-60 °C). Levar ao volume inicial de 100 ml com água bidestilada.

4.2. Calibração

Em quatro balões graduados de 100 ml, colocar 0,5 - 1 - 1,5 - 2 ml da solução de zinco a 100 mg/l (2.2) e ajustar ao traço de referência com água bidestilada. As soluções-padrão correspondem, respectivamente, a 0,5 - 1 - 1,5 e 2 mg de zinco por litro.

4.3. Dosagem

Seleccionar o comprimento de onda de 213,9 nm. Regular o zero da escala das absorvências com água bidestilada. Aspirar directamente o vinho no queimador do espectrofotómetro e depois, sucessivamente, as soluções-padrão. Ler as absorvências. Efectuar as determinações em duplicado.

5. RESULTADOS

5.1. Cálculo

Traçar a curva de variação da absorvência em função da concentração de zinco das soluções-padrão. Registrar o valor médio das absorvências obtidas com o vinho e determinar a concentração de zinco, em miligramas por litro de vinho, com 1 decimal.

35. CHUMBO

1. PRINCÍPIO

O chumbo é directamente doseado no vinho por espectrofotometria de absorção atómica sem chama.

2. APARELHAGEM

Todos os utensílios de vidro devem ser previamente lavados, primeiro com ácido nítrico concentrado quente (70-80 °C) e de seguida com água bidestilada.

- 2.1. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um forno de grafite, um corrector de absorção não específico e um registador multipotenciométrico.
- 2.2. Lâmpada de cátodo oco de chumbo.
- 2.3. Micropipetas de 5 µl munidas de extremidades especiais para medidas de absorção atómica.

3. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica reconhecida e, em especial, isentos de chumbo. A água utilizada deve ser água bidestilada num aparelho de vidro borossilicatado ou água de pureza equivalente.

- 3.1. Ácido fosfórico a 85 p. 100 ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).
- 3.2. Solução de ácido fosfórico obtida por diluição de 8 ml de ácido fosfórico para 100 ml, com água.
- 3.3. Ácido nítrico ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml).
- 3.4. Solução de chumbo a 1 g por litro.

Utilizar uma solução-padrão comercial. Esta solução pode ser obtida por dissolução de 1,600 g de nitrato de chumbo II, $Pb(NO_3)_2$, em ácido nítrico diluído a 1 % (v/v), após o que se perfaz o volume de 1 litro. Conservar a solução num frasco de vidro borossilicatado com rolha esmerilada.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra

Diluir o vinho para $\frac{1}{2}$ ou para $\frac{1}{3}$ com a solução de ácido fosfórico de acordo com a suposta concentração de chumbo.

4.2. Preparação das soluções-padrão de calibração

A partir da solução de referência de chumbo, preparar, por diluições sucessivas com água bidestilada, soluções com os títulos de, respectivamente, 25 - 50 - 100 - 150 microgramas de chumbo por litro.

4.3. Determinação

4.3.1. Programa do forno (proposto a título indicativo):

Secagem a 100 °C durante 30 segundos.

Mineralização a 900 °C durante 20 segundos.

Atomização a 2 250 °C durante 2 a 3 segundos.

Fluxo de azoto (gás de arrastamento): 6 litros/minuto.

N.B.: No final da operação, subida da temperatura até 2 700 °C para purgar o forno.

4.3.2. *Medidas*

Seleccionar o comprimento de onda de 217 nm. Regular o zero da escala das absorvências com água bidestilada. Injectar no forno programado, mediante utilização de uma micropipeta, três vezes 5 µl de cada uma das soluções-padrão de calibração e da solução de amostra a analisar. Ler as absorvências medidas. Calcular o valor médio da absorvência a partir dos resultados relativos às três injeções.

5. RESULTADOS

5.1. Cálculo

Traçar a curva das variações da absorvência em função das concentrações em chumbo das soluções-padrão de calibração. A variação é linear. Marcar o valor médio da absorvência da solução da amostra na recta de calibração e determinar a concentração C em chumbo. A concentração em chumbo, expressa em microgramas por litro de vinho, é igual a:

$$C \times F$$

F = Factor de diluição

36. FLUORETOS

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teor em fluoretos do vinho, adicionado de uma solução-tampão, determina-se utilizando um eléctrodo específico com membrana sólida. O potencial medido é proporcional ao logaritmo da actividade dos iões fluoretos no meio estudado de acordo com a relação:

$$E = E_0 \pm S \log a_F$$

E = potencial do eléctrodo iónico específico medido em relação ao eléctrodo de referência no meio estudado.

E₀ = potencial-padrão da célula de medida.

S = declive do eléctrodo iónico específico (factor de Nernst). A 25 °C o declive teórico é igual a 59,2 mV.

a_F = actividade dos iões fluoretos na solução estudada.

2. APARELHAGEM

- 2.1. Eléctrodo com membrana cristalina específica do ião fluor.
- 2.2. Eléctrodo de referência (Calomel ou Ag/AgCl).
- 2.3. Milivoltímetro (medidor de pH com uma graduação em milivolts), precisão 0,1 mV.
- 2.4. Agitador magnético com placa isolante para proteger a solução analisada do calor do motor. Cilindro agitador revestido de plástico (polietileno ou material equivalente).
- 2.5. Copos de plástico, de 30 ou de 50 ml, e frascos de plástico (polietileno ou material equivalente).
- 2.6. Pipetas de precisão (pipetas graduadas em microlitros ou outras pipetas equivalentes).

3. REAGENTES

- 3.1. Solução-mãe de fluoreto a 1 g/l.

Utilizar uma solução-padrão do comércio a 1 g/l. Esta solução pode ser preparada dissolvendo 2,210 g de fluoreto de sódio (seco 3 a 4 horas a 105 °C) em água destilada. Levar ao traço de referência de 1 000 ml com água destilada. A solução é conservada num frasco plástico.

- 3.2. Preparam-se soluções-padrão de fluoreto de concentração adequada mediante diluição da solução-mãe com água destilada e conservam-se em frascos de plástico. As soluções-padrão cujo teor em fluoreto é da ordem de 1 mg/l devem ser preparadas na altura de serem utilizadas.

- 3.3. Solução-tampão pH 5,5.

Adicionam-se 10 g de ácido ciclohexano-diamina (1,2)-tetracético (CDT) a cerca de 50 ml de água; adicionar uma solução contendo 58 g de cloreto de sódio e 29,4 g de citrato trissódico em 700 ml de água destilada. Dissolve-se o CDTA adicionando-lhe uma solução de hidróxido de sódio a 32 p. 100 (m/v) (cerca de 6 ml).

Por fim, adicionar 57 ml de ácido acético (ρ₂₀ = 1,05 g/ml) e levar o pH a 5,5 com a solução de hidróxido de sódio a 32 p. 100 (cerca de 45 ml). Deixar arrefecer e perfazer um litro com água destilada.

4. MODO OPERATÓRIO

Nota preliminar:

É necessário garantir que todas estas soluções se conservem durante a determinação a uma temperatura de 25 ± 1 °C (um desvio de ± 1 °C provoca uma alteração de cerca de $\pm 0,2$ mV).

4.1. Método directo

Deitar num copo de plástico um volume definido de vinho e um volume igual de solução-tampão.

Agita-se a solução de um modo regular e moderado. Quando o aparelho indicador estabilizar (obtém-se a estabilidade quando o potencial varia no máximo de 0,2-0,3 mV/3 min.), ler o valor do potencial em mV.

4.2. Método das adições conhecidas

Sem interromper a agitação, adiciona-se ao meio estudado, por intermédio de uma pipeta de precisão, um volume conhecido de solução-padrão de fluoreto. Quando o aparelho indicador estabilizar, ler o valor do potencial em mV.

Escolher a concentração da solução-padrão adicionada do seguinte modo:

- a) Duplicar ou triplicar a concentração em fluoreto do meio estudado;
- b) O volume do meio estudado deve permanecer praticamente constante (aumento do volume ≤ 1 %).

[A condição b) simplifica os cálculos, ver ponto 5].

A concentração aproximada do meio estudado é lida sobre uma recta de calibração que é traçada em coordenadas semilogarítmicas com as soluções-padrão titulando 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1,0 - 2,0 mg/l de fluoreto.

Nota: Se a concentração aproximada do meio estudado ultrapassar o domínio de concentração das soluções-padrão, diluir a amostra.

Exemplo:

Sendo de 0,25 mg/l F^- o teor aproximado do meio estudado (volume 20 ml), a concentração deve ser majorada de 0,25 mg/l. Para tal, adicionar, por exemplo, à solução, com a pipeta de precisão adequada, 0,20 ml (= 1 %) de uma solução-padrão contendo 25 mg/l F^- ou 0,050 ml de uma solução-padrão de 100 mg/l F^- .

5. CÁLCULOS

O teor em fluoretos do meio estudado, expresso em mg/l, obtém-se utilizando a fórmula seguinte:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

C_F = a concentração em fluoreto do meio estudado (mg/l).

C_a = a concentração do fluoreto adicionado (mg/l) no meio estudado (V_a).

V_o = volume inicial do meio estudado antes da sobrecarga (ml).

V_a = volume da solução sobrecarregada (ml).

ΔE = diferença entre os potenciais E_1 e E_2 obtidos em 4.1 e 4.2 (mV).

S = declive do eléctrodo na solução estudada.

Se V_a for muito próximo de V_o (ver 4.2), a fórmula simplifica-se e transforma-se em:

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

O valor obtido deve ser multiplicado pelo factor de diluição proveniente da adição do tampão.

37. DIÓXIDO DE CARBONO

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método de referência

1.1.1. *Caso dos vinhos tranquilos* (sobrepessão de $\text{CO}_2 \leq 0,5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) ⁽¹⁾

O volume de vinho tomado da amostra e levado a cerca de 0°C é adicionado a um excesso suficiente de solução titulada de hidróxido de sódio para ter um pH de 10-11. Titula-se com uma solução ácida em presença de anidrase carbónica. O teor em dióxido de carbono é deduzido do volume vertido para passar de pH 8,6 (forma de carbonato ácido) a 4,0 (ácido carbónico). Uma titulação testemunha efectuada nas mesmas condições com o vinho descarbonificado permite ter em conta o volume de solução de hidróxido de sódio consumido pelos ácidos do vinho.

1.1.2. *Caso dos vinhos frisantes e vinhos espumantes*

A amostra de vinho a analisar é levada próximo do seu ponto de congelação. Depois de retirar um determinado volume destinado a servir de testemunha após descarbonificação, alcaliniza-se o restante volume da garrafa para fixar todo o CO_2 sob a forma de Na_2CO_3 . Titula-se com uma solução ácida em presença de anidrase carbónica. O teor de dióxido de carbono é deduzido do volume de solução ácida gasta para passar de pH 8,6 (forma de carbonato ácido) a pH 4,0 (ácido carbónico). Uma titulação testemunha efectuada nas mesmas condições com vinho descarbonificado permitir ter em conta o volume de solução de hidróxido de sódio consumida pelos ácidos do vinho.

1.2. Método usual: caso dos vinhos frisantes e espumantes

Método manométrico: medição da sobrepressão de dióxido de carbono directamente na garrafa, por meio de um afrómetro.

2. MÉTODO DE REFERÊNCIA

2.1. Caso dos vinhos tranquilos (sobrepessão de $\text{CO}_2 \leq 0,5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$).

2.1.1. *Aparelhagem*

2.1.1.1. Agitador magnético.

2.1.1.2. pH-metro.

2.1.2. *Reagentes*

2.1.2.1. Solução de hidróxido de sódio (NaOH), 0,1 M.

2.1.2.2. Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4), 0,05 M.

2.1.2.3. Solução de anidrase carbónica a 1 grama por litro.

2.1.3. *Modo operativo*

Arrefecer a amostra de vinho a cerca de 0°C , assim como a pipeta de 10 ml utilizada para a sua recolha.

Retirar para um vaso cilíndrico de 100 ml, 25 ml de solução de hidróxido de sódio (2.1.2.1); juntar duas gotas de solução aquosa de anidrase carbónica (2.1.2.3) e aí introduzir 10 ml de vinho por meio da pipeta arrefecida a 0°C .

⁽¹⁾ 10^5 Pascal (Pa) = 1 bar.

Colocar o vaso cilíndrico sobre o agitador magnético, introduzir o eléctrodo e a barra magnética e proceder a uma agitação moderada.

Quando o líquido tiver voltado à temperatura ambiente, deitar por afusão lenta a solução de ácido sulfúrico (2.1.2.2) até pH 8,6.

Continuar as afusões de ácido sulfúrico (2.1.2.2) até pH 4,0. Seja «n ml» o volume utilizado entre pH 8,6 e 4,0.

Por outro lado, proceder à eliminação de CO₂ em cerca de 50 ml de amostra de vinho por agitação no vácuo durante 3 minutos, aquecendo o balão num banho de água a 25 °C aproximadamente.

Aplicar sobre 10 ml de vinho descarbonificado a técnica anterior: seja «n' ml» o volume utilizado.

2.1. **Expressão de resultados**

1 ml de solução titulada de hidróxido de sódio 0,1 M corresponde a 4,4 mg de CO₂.

A quantidade de CO₂ em gramas por litro de vinho é dada por:

$$0,44 (n - n')$$

Exprime-se com 2 decimais.

Nota: Nos casos de vinhos com pouco CO₂ (CO₂ < 1 g/l), a adição de anidrase carbónica para catalisar a hidratação do CO₂ não é necessária.

2.2. **Caso dos vinhos frisantes e dos vinhos espumantes**

2.2.1. **Aparelhagem**

2.2.1.1. Agitador magnético.

2.2.1.2. pH-metro.

2.2.2. **Reagentes**

2.2.2.1. Solução de hidróxido de sódio (NaOH), a 50 p. 100 (m/m).

2.2.2.2. Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄), 0,05 M.

2.2.2.3. Solução de anidrase carbónica a 1 grama por litro.

2.2.3. **Modo operativo**

Na garrafa de vinho a analisar, traçar uma marca ao nível do enchimento e arrefecê-la até ao início de congelação.

Deixar a garrafa aquecer ligeiramente, agitando-a até ao desaparecimento dos cristais de gelo.

Desrolhar rapidamente e pôr de lado, numa proveta graduada, 45 a 50 ml de vinho que servirão para o doseamento testemunha. O volume exacto desta amostra, «v ml», será determinado pela leitura na proveta após o seu regresso à temperatura ambiente.

Juntar, logo que esta recolha tiver sido efectuada, 20 ml de solução de hidróxido de sódio (2.2.2.1) na garrafa para uma capacidade de 750 ml.

Esperar que o vinho volte à temperatura ambiente.

Colocar num recipiente cilíndrico de 100 ml, 30 ml de água destilada fervida e 2 gotas da solução de anidrase carbónica (2.2.2.3). Adicionar-lhe 10 ml de vinho alcalinizado.

Colocar o recipiente sobre o agitador magnético, introduzir-lhe o eléctrodo e a barra magnética e proceder a uma agitação moderada.

Deitar por afusão lenta a solução de ácido sulfúrico (2.2.2.2) até pH 8,6.

Continuar as afusões de ácido sulfúrico (2.2.2.2) até pH 4,0. Seja «n ml» o volume utilizado entre pH 8,6 e 4,0.

Por outro lado, proceder à eliminação do CO₂ nos «v ml» de vinho retirado para o doseamento testemunha, por agitação no vácuo durante três minutos, e aquecendo o balão num banho de água a cerca de 25 °C. Introduzir 10 ml de vinho descarbonificado em 30 ml de água destilada fervida, juntar duas a três gotas de solução de hidróxido de sódio (2.2.2.1) para levar o pH a 10-11. Em seguida aplicar o modo operativo anterior. Seja de «n' ml», o volume de ácido sulfúrico 0,05 M utilizado.

2.2.4. *Expressão dos resultados*

1 ml de solução de ácido sulfúrico 0,05 M corresponde a 4,4 mg de CO₂.

Esvaziar a garrafa que contém o vinho alcalinizado e determinar, com a aproximação de 1 ml, o volume inicial do vinho, enchendo-a com água até ao traço marcado, seja «V ml».

A quantidade de CO₂ em g/l de vinho é dada por:

$$0,44 (n - n') \cdot \frac{(V - v + 20)}{V - v}$$

É expressa com 2 decimais.

2.3. *Cálculo da sobrepressão*

A sobrepressão a 20 °C, P_{aph20}, expresso em pascais, é dada pela fórmula:

$$P_{aph20} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01 A) (1 - 0,00144 S)} - P_{atm}$$

sendo:

Q: Teor em gramas de CO₂ por litro de vinho.

A: Título alcoométrico do vinho a 20 °C.

S: Teor em açúcares do vinho em gramas por litro.

P_{atm}: Pressão atmosférica, expressa em pascais.

3. MÉTODO USUAL (VINHOS FRISANTES E ESPUMANTES)

3.1. *Aparelhagem*

3.1.1. *Afrómetro*

O aparelho que permite medir a sobrepressão em garrafas de vinhos frisantes e espumantes denomina-se afrómetro. Apresenta-se de modos diferentes consoante a rolha da garrafa (cápsula metálica, coroa, rolha de cortiça ou de plástico, ver figuras 1 e 2).

Os aparelhos são graduados em pascais (abreviatura Pa) ⁽¹⁾. É mais prático utilizar como unidade 10⁵ pascal (10⁵ Pa) ou o quilopascal (kPa).

⁽¹⁾ 1 Pascal (Pa) = 1 N/m² = 10⁻⁵ bar.

Os aparelhos podem ser de diferentes classes. A classe de um manómetro é a precisão da leitura em relação à escala completa expressa em percentagem (por exemplo, manómetro 1000 kPa classe 1 significa pressão de utilização máxima 1000 kPa, leitura a ± 10 kPa). A classe 1 é recomendada para medições rigorosas.

Os afrómetros devem ser verificados regularmente (pelo menos uma vez por ano).

3.2. Modo operativo

A medição deve efectuar-se em garrafas cuja temperatura esteja estabilizada desde há 24 horas, pelo menos. Após ter perfurado a cápsula ou a rolha, deve agitar-se em seguida vigorosamente a garrafa até obter uma pressão constante para efectuar a leitura.

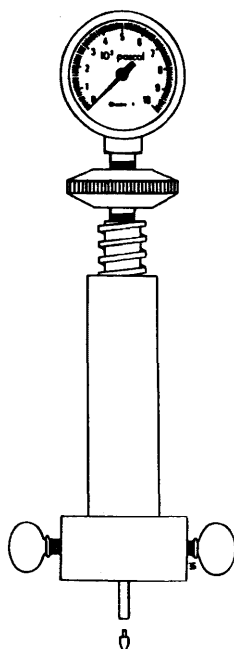


Figura 1 — Afrómetro para cápsulas

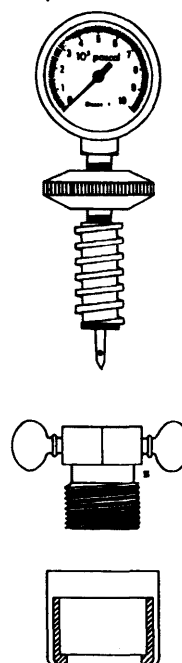


Figura 2 — Afrómetro para rolhas

3.3. Expressão dos resultados

A sobrepressão a 20 °C ($P_{aph_{20}}$) é expressa em pascal (Pa) ou em quilopascal (kPa).

Esta deve estar em concordância com a precisão do manómetro (exemplo: 6,3 10⁵ Pa ou 630 kPa e não 6,33 10⁵ Pa ou 633 kPa para um manómetro 1000 kPa, escala completa, de classe 1).

Quando a temperatura de medição for diferente de 20 °C, é conveniente introduzir uma correcção, multiplicando a pressão medida pelo coeficiente:

$$\frac{P_{aph_{20}}}{P_{aph}}$$

dado pelo quadro 1, para a levar a 20 °C.

4. RELAÇÃO ENTRE A PRESSÃO E A QUANTIDADE DE DIÓXIDO DE CARBONO CONTIDO NUM VINHO ESPUMANTE ⁽¹⁾

A partir da sobrepressão a 20 °C ($P_{aph_{20}}$), calcula-se a pressão absoluta a 20 °C ($P_{abs_{20}}$) pela fórmula:

$$P_{abs_{20}} = P_{atm} + P_{aph_{20}}$$

⁽¹⁾ Não se toma em conta outros gases presentes (O₂, N₂, etc...) em fraquíssimas quantidades para ter uma influência sobre a sobrepressão.

sendo P_{atm} a pressão atmosférica expressa em pascais.

A quantidade de dióxido de carbono contido num vinho é dada pelas relações seguintes:

— em litros de CO_2 por litro de vinho:

$$0,987 \cdot 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01A) (1 - 0,00144S)$$

— em gramas de CO_2 por litro de vinho:

$$1,951 \cdot 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01A) (1 - 0,00144S)$$

sendo:

A é o título alcoométrico do vinho a 20 °C.

S é o teor de açúcares do vinho, expresso em gramas por litro.

QUADRO 1

Relação entre a sobrepressão $P_{aph_{20}}$ de um vinho frizante ou espumante a 20 °C e a sobrepressão P_{aph} , a uma 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. DERIVADOS CIANADOS**1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS****1.1. Método rápido de ensaio: controlo dos vinhos tratados com hexacianoferrato (II) de potássio.**

Verificação de ausência de precipitado de hexacianoferrato (II) de ferro (III) em suspensão no depósito.

Verificação de ausência de formação de hexacianoferrato (II) de ferro (III) por adição de um sal de ferro (III) ao vinho acidificado.

Verificação da presença de ferro precipitante por adição ao vinho acidulado de uma mistura de hexacianoferrato (II) e de hexacianoferrato (III) alcalinos.

1.2. Método usual

Doseamento argentimétrico do ácido cianídrico total libertado por hidrólise ácida e separado por destilação.

2. MÉTODO RÁPIDO DE ENSAIO

Controlo dos vinhos tratados pelo hexacianoferrato (II) de potássio.

2.1. Aparelhagem

É necessário dispor de um dos seguintes aparelhos:

2.1.1. Centrifuga que permita aplicar uma força centrífuga de 1 200 a 1 500 g.**2.1.2. Dispositivo de filtração por filtro opaco e filtros opacos (diâmetro dos poros de 0,45 µm).****2.2. Reagentes****2.2.1. Ácido clorídrico diluído a 1/2 (v/v), obtido por diluição em volume de ácido clorídrico (HCl) ($\rho_{20} = 1,18$ a $1,19$ g/ml) isento de ferro.****2.2.2. Solução de sulfato de ferro (III) e de amónio $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, 24 H_2O , a 15 p. 100 (m/v).****2.2.3. Solução de hexacianoferrato (II) de potássio, $\text{K}_4 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 3 H_2O , a 10 p. 100 (m/v).****2.2.4. Solução de hexacianoferrato (III) de potássio, $\text{K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$, a 10 p. 100 (m/v). A preparar na altura do uso.****2.3. Modo operativo****2.3.1. Pesquisa de vestígios de hexacianoferrato (II) de ferro (III) em suspensão**

Após agitação da amostra, colocar 20 ml de vinho num tubo cónico de centrifuga de 30 ml. Juntar 1 ml de ácido clorídrico (2.2.1). Centrifugar durante 15 minutos ou filtrar em filtro opaco (diâmetro dos poros de 0,45 µm). O resíduo da centrifugação ou o filtro devem estar totalmente isentos de partículas azuis.

2.3.2. Pesquisa de vestígios de iões de hexacianoferrato (II) em solução

Juntar uma gota de solução de sulfato de ferro (III) e de amónio (2.2.2) ao sobrenadante ou ao filtrado, provenientes do ensaio 2.3.1. Agitar e, em seguida, deixar repousar durante,

pelo menos, 24 horas. Centrifugar 15 minutos ou filtrar por filtro opaco (diâmetro dos poros de 0,45 µm). O residuo da centrifugação ou o filtro devem estar totalmente isentos de partículas azuis de hexacianoferrato (II) de ferro (III).

2.3.3. *Verificação da presença de iões de ferro no vinho*

Num tubo de ensaio, colocar 20 ml de vinho, 1 ml de ácido clorídrico (2.2.1), uma gota de solução de hexacianoferrato (II) de potássio (2.2.3) e uma gota de solução de hexacianoferrato (III) de potássio (2.2.4). Em menos de 30 minutos deve aparecer uma coloração ou um precipitado de cor azul. Após centrifugação ou filtração por filtro opaco (diâmetro dos poros de 0,45 µm), seguida da lavagem do filtro com 5 ml de água, efectuada por duas vezes, deve ser observado um depósito azul no tubo de centrifugação ou no filtro opaco.

3. MÉTODO USUAL

3.1. Aparelhos

3.1.1. Aparelho de destilação constituído por um balão de fundo redondo de capacidade igual a 500 ml ligado por um tubo com esmerilagem à extremidade superior de um refrigerante, mantido verticalmente, que deve ter um comprimento de, pelo menos, 350 mm.

A extremidade inferior deste refrigerante possui um prolongamento terminado por uma parte afilada que conduz o destilado ao fundo de um balão de 50 ml, inteiramente imerso em água gelada.

3.1.2. Banho de água com termóstato a 100 °C, aquecido electricamente.

3.2. Reagentes

3.2.1. Ácido sulfúrico diluído a 1/5 (v/v).

Misturar com cuidado 200 ml de ácido sulfúrico, H₂SO₄ (ρ₂₀ = 1,84 g/ml), numa quantidade de água suficiente para obter 1 litro de solução.

3.2.2. Cloreto de cobre (II) cristalizado (Cu Cl₂, 2 H₂O).

3.2.3. Solução de vermelho de fenol.

Dissolver 0,05 g de vermelho de fenol em 1,4 ml de uma solução 0,1 M de hidróxido de sódio: levar a solução a 1 000 ml.

3.2.4. Solução de iodeto de potássio.

Dissolver 250 g de iodeto de potássio, KI, numa quantidade de água suficiente para obter 1 litro de solução.

3.2.5. Solução 0,001 M de nitrato de prata.

Diluir 10 ml de uma solução 0,1 M de nitrato de prata (Ag NO₃); diluem-se até 1 000 ml após adição de 0,5 ml de ácido nítrico concentrado (HNO₃, ρ₂₀ = 1,40 g/ml).

3.2.6. Solução de hidróxido de sódio 1 M, isento de ferro.

3.3. Modo operativo

Introduzir 100 ml de vinho filtrado (ou não filtrado se se desejar dosear também o ácido cianídrico contido na eventual turvação azul), juntar cerca de 5 mg de cloreto de cobre (II) (3.2.2.) e 10 ml de ácido sulfúrico diluído (3.2.1). No balão receptor, colocar 5 ml de solução de hidróxido de sódio (3.2.6). Destilar até que o balão de 50 ml esteja cheio.

O destilado é deitado num vaso cilíndrico de 400 ml em banho de água a 100 °C e, para acelerar a evaporação, dirigir uma corrente de ar frio bastante vivo produzido por um

soprador à superfície do líquido alcalino. É necessário produzir o volume a 5 ou 7 ml, o que leva cerca de 30 minutos (nunca reduzir o volume a menos de 5 ml).

A solução arrefecida é filtrada, se necessário, recolhendo o filtrado num tubo cilíndrico de 20 mm de diâmetro e 180 mm de comprimento ou é transvazada directamente neste tubo. Lavar o vaso cilíndrico e, eventualmente, o filtro com alguns mililitros de água, e juntá-los no tubo.

O tubo de vidro é colocado sobre um fundo negro e é iluminado lateralmente por um feixe de luz branca. O líquido deve estar perfeitamente límpido ⁽¹⁾.

Juntar duas gotas de solução de vermelho de fenol (3.2.3) para sensibilizar a viragem ⁽²⁾ e uma gota de solução de iodeto de potássio (3.2.4). Titular com a solução 0,001 M de nitrato de prata (3.2.5) até à obtenção de uma turvação fraca, mas estável. Seja n o volume de solução necessária para obter este resultado.

Por outro lado, preparar um tubo semelhante com 5 ml de solução normal de hidróxido de sódio (3.2.6), duas gotas de solução de vermelho de fenol (3.2.3)⁽²⁾, uma gota de solução de iodeto de potássio (3.2.4) e uma quantidade de água suficiente para obter um volume idêntico ao do ensaio acima descrito. Juntar a solução 0,001 M de nitrato de prata (3.2.5) em quantidade suficiente para obter a mesma turvação; ou seja n' o volume empregue ⁽³⁾.

3.4. Expressão dos resultados

1 ml de solução 0,001 M de nitrato de prata corresponde a 54 μg de ácido cianídrico (HCN).

A quantidade de ácido cianídrico total contido num litro de vinho, expresso em miligramas, é: $0,54(n - n')$. Ela é expressa com dois decimais.

Considerar apenas como significativos da presença de compostos cianídricos no vinho os ensaios para os quais $n - n'$ é superior a 0,5 ml.

Quando $n - n'$ é superior a 10 ml, recommençar todas as operações utilizando uma solução de 0,01 M de nitrato de prata.

- ⁽¹⁾ Certos vinhos, tal como os vinhos licorosos, etc., dão um destilado que não fica límpido apesar da filtração; é então preciso colocar este destilado concentrado num balão de destilação de 200 ml, levando o seu volume a 30 ml com água e destilá-lo ainda alcalino, rejeitando o primeiro destilado de volume igual a cerca de 15 ml. Arrefecer o conteúdo do balão, acidificá-lo por meio de, aproximadamente, 5 ml de ácido sulfúrico diluído e retomar a destilação recolhendo o destilado em 5 ml de solução M de hidróxido de sódio. Destilar cerca de 5 ml de líquido o qual será agora límpido.
- ⁽²⁾ Esta adição é facultativa; certas pessoas observam melhor o aparecimento da turvação numa solução rosa do que numa solução incolor.
- ⁽³⁾ N' é igual a 0,05 ou 0,1 ml, se o volume de água utilizada for inferior 10 ml. Para ter uma viragem sensível, é necessário que este volume seja tão pequeno quanto possível; evitar, pois, toda a causa de diluição, na medida do possível, no decurso da operação principal.

39. ISOTIOCIANATO DE ALILO

1. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O isotiocianato de alilo, eventualmente presente no vinho, recuperado por destilação é identificado por técnica de cromatografia em fase gasosa.

2. REAGENTES

2.1. Etanol absoluto.

2.2. Solução-padrão: solução em álcool absoluto de isotiocianato de alilo com 15 mg/l de princípio activo.

2.3. Mistura refrigerante constituída por etanol e neve carbónica (temperatura -60°C).

3. APARELHAGEM

3.1. Aparelhos de destilação por arrastamento com corrente de azoto segundo a figura.

3.2. Recipiente de aquecimento termorregulável.

3.3. Medidor do débito.

3.4. Cromatógrafo de fase gasosa com detector de espectrofotómetro de chama, munido de um filtro selectivo para os compostos sulfurosos ($\lambda = 394\text{ nm}$) ou qualquer outro detector adaptado a esta medida.

3.5. Coluna de cromatografia em aço inoxidável, com diâmetro interno de 3 mm e comprimento de 3 m; cheia de Carbowax 20 M a 10% sobre chromosorb WHP, 80-100 mesh.

3.6. Microseringa de 10 μl .

4. MODO OPERATÓRIO

Tomar 2 litros de vinho e introduzi-los no balão de destilação. Colocar seguidamente alguns mililitros de etanol (2.1) nos dois tubos de recuperação até que a parte porosa destinada à dispersão gasosa se encontre completamente imersa. Arrefecer, exteriormente, os dois tubos com a mistura refrigerante. Ligar o balão aos tubos receptores e dar início à introdução no aparelho de uma corrente de azoto de cerca de 3 litros por hora. Reaquecer o vinho a 80°C , regulando convenientemente a temperatura do recipiente de aquecimento e recuperar um total de 45-50 ml de destilado.

Estabilizar o cromatógrafo; aconselha-se que se respeitem as seguintes condições operatórias:

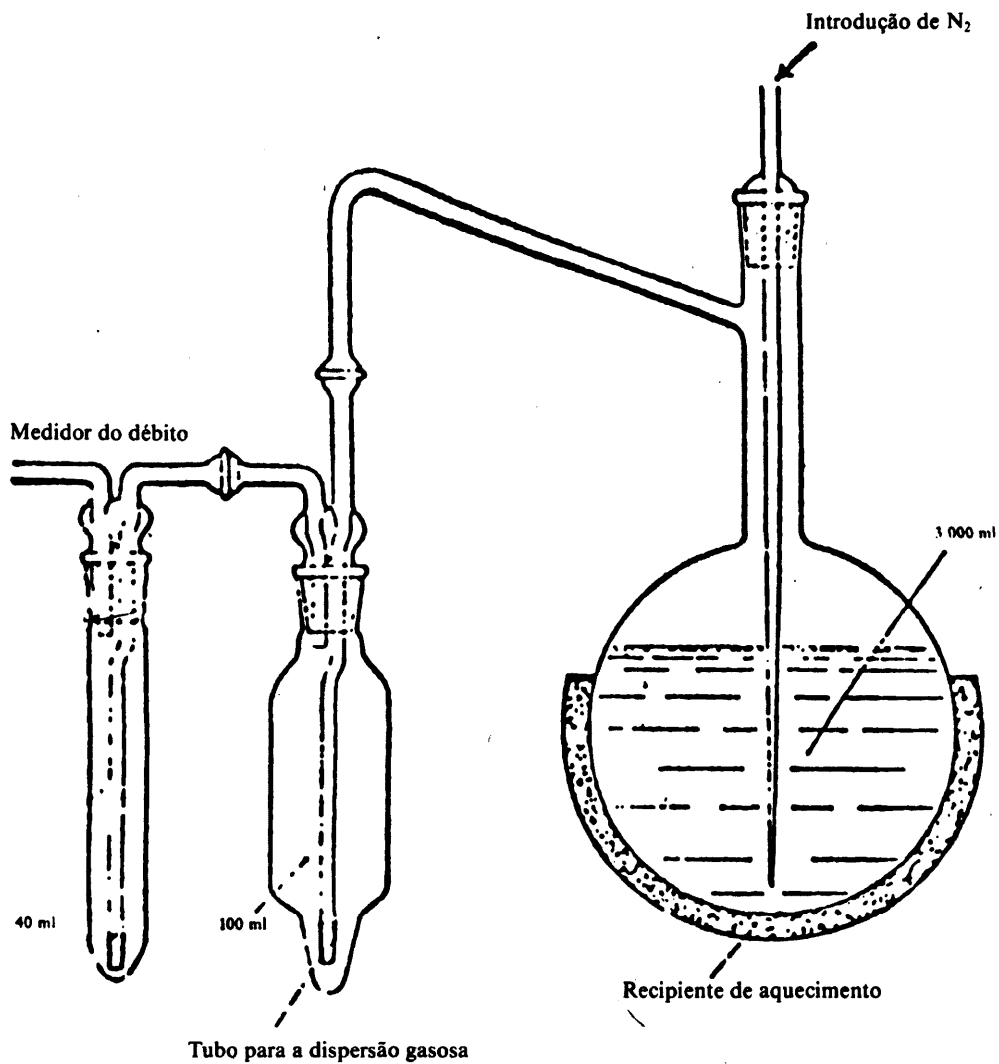
- temperatura do injector: 200°C ,
- temperatura da coluna: 130°C ,
- gás-vector: hélio, a um débito de 20 ml por minuto.

Injectar, por meio da microseringa, uma quantidade de solução-padrão tal que o pico correspondente ao isotiocianato de alilo possa ser identificado com facilidade no cromatograma.

Injectar, igualmente, uma parte alíquota de destilado e controlar a correspondência entre o tempo de retenção do isotiocianato de alilo e do pico obtido.

Nas condições indicadas para o ensaio, nenhum composto natural do vinho produz interferência correspondente ao tempo de retenção da substância pesquisada.

Aparelho de destilação com corrente de azoto



40. CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS

1. CASO DOS VINHOS E DOS MOSTOS

1.1. Definições

Chamam-se características cromáticas de um vinho à sua luminosidade e cromaticidade.

A luminosidade corresponde à transmitância. Varia na razão inversa da intensidade corante do vinho.

A cromaticidade corresponde ao comprimento de onda dominante (que caracteriza o tom) e à pureza.

Convencionalmente, e por razões de comodidade, as características cromáticas dos vinhos tintos e rosados são expressas pela intensidade corante e pelo tom, segundo um procedimento adoptado como método usual.

1.2. Princípio dos métodos

1.2.1. Método de referência

Método espectrofotométrico que permite o cálculo dos valores tristimulares e dos coeficientes tricromáticos necessários à especificação da cor nos termos da Comissão Internacional de Iluminação (CIE).

1.2.2. Método usual (aplicável aos vinhos tintos e rosados)

Método espectrofotométrico segundo o qual as características cromáticas são expressas convencionalmente do seguinte modo:

A intensidade é dada pela soma das absorvências, sob 1 cm de trajecto óptico, para as radiações de comprimento de onda iguais a 420, 520 e 620 nm.

O tom é expresso pela relação da absorvência a 420 nm e a 520 nm.

1.3. Método de referência

1.3.1. Aparelhagem

1.3.1.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições entre 300 e 700 nm.

1.3.1.2. Cubas de vidro, disponíveis aos pares, de trajecto óptico, b, igual a 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2 e 4 cm.

1.3.2. Modo operativo

1.3.2.1. Preparação da amostra

Se o vinho estiver turvo, deve ser clarificado por centrifugação.

Deve extrair-se a maior parte do dióxido de carbono existente nos vinhos novos e espumantes, por agitação no vácuo.

1.3.2.2. Medições

O trajecto óptico, b, das cubas utilizadas deve ser escolhido de modo a que a absorvência medida esteja compreendida entre 0,3 e 0,7.

A título indicativo, aconselha-se a utilização dos cubas de 2 cm (ou 4 cm) de trajecto óptico para os vinhos brancos, 1 cm para os vinhos rosados e 0,1 cm (ou 0,2 cm) para os vinhos tintos.

Efectuar as medições espectrofotométricas utilizando como líquido de referência a água destilada colocada numa cuba com o mesmo trajecto óptico, b, para regular o zero da escala das absorvências nos comprimentos de onda de 445, 495, 550 e 625 nm.

Registrar, para o trajecto óptico b, as quatro absorvências obtidas para o vinho, sendo A_{445} , A_{495} , A_{550} , A_{625} (com três decimais).

1.3.3. Cálculos

A partir dos valores das absorvências relativas a b cm de trajecto óptico, utilizar a tabela I e registar as transmitências (T %) correspondentes, sendo: T_{445} , T_{495} , T_{550} , T_{625} .

— Calcular os valores tristimulares X, Y e Z, expressos em fracções decimais:

$$X = 0,42 \cdot T_{625} + 0,35 \cdot T_{550} + 0,21 \cdot T_{445}$$

$$Y = 0,20 \cdot T_{625} + 0,63 \cdot T_{550} + 0,17 \cdot T_{495}$$

$$Z = 0,24 \cdot T_{495} + 0,94 \cdot T_{445}$$

— Calcular as coordenadas da cor x e y:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

1.3.4. Expressão dos resultados

1.3.4.1. A luminosidade relativa é dada pelo valor Y expresso em percentagem, (para o preto Y % = 0, para o incolor Y % = 100).

1.3.4.2. A cromaticidade é expressa pelo comprimento de onda dominante e a pureza.

A sua determinação é feita por meio do diagrama de cromaticidade, delimitado pelo *spectrum locus*, dado na figura 1. Inclui o ponto O que corresponde à fonte de luz branca utilizada, representada pelo iluminante-padrão C, de coordenadas $x_O = 0,3101$ e $y_O = 0,3163$, correspondente à luz de um dia medianamente claro.

— Comprimento de onda dominante

Colocar no diagrama o ponto C de coordenadas x e y. Quando o ponto C se encontrar no exterior do triângulo AOB, traçar a recta que une o ponto O ao ponto C e prolongá-la; esta recta corta o *spectrum locus* num ponto S, que corresponde ao comprimento de onda dominante.

Quando o ponto C se encontra no interior do triângulo AOB, traçar a recta que une C a O; esta recta corta o *spectrum locus* num ponto que corresponde ao comprimento de onda da cor complementar do vinho. Este comprimento de onda é expresso pelo seu valor, seguido da letra C.

— Pureza

Quando o ponto C se encontra no exterior do triângulo AOB, a pureza é expressa em percentagem, pela relação:

$$100 \cdot \frac{\text{distância do ponto C ao ponto O}}{\text{distância do ponto O ao ponto S}}$$

Quando o ponto C se encontra no interior do triângulo AOC, a pureza é expressa em percentagem, pela relação:

$$100 \cdot \frac{\text{distância do ponto C ao ponto O}^{(1)}}{\text{distância do ponto O ao ponto P}}$$

(1) Esta distância deve ser contada no sentido OC.

O ponto P é o ponto em que a recta OC corta a linha dos púrpuras.

A pureza é também dada directamente pelos diagramas de cromaticidade, se se conhecer x e y (figuras 2, 3, 4, 5 e 6).

1.3.4.3. Resultados

A luminosidade, a cromaticidade (expressa pelo comprimento de onda dominante) e a pureza definem completamente a cor de um vinho.

Devem ser indicadas no boletim de análise com o valor do trajecto óptico sob o qual foram efectuadas as medições.

4. MÉTODO USUAL

1.4.1. *Aparelhagem*

1.4.1.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições entre 300 e 700 nm.

1.4.1.2. Cubas de vidro disponíveis aos pares, de trajecto óptico, b, igual a 0,1, 0,2, 0,5 e 1 cm.

1.4.2. *Tratamento prévio da amostra*

Se o vinho estiver turvo, deve ser clarificado por centrifugação.

Deve extrair-se a maior parte do dióxido de carbono existente nos vinhos novos e espumantes, por agitação no vácuo.

1.4.3. *Modo operativo*

O trajecto óptico, b, da cuba de medição deve ser escolhido de modo a que a absorvência A esteja compreendida entre 0,3 e 0,7.

Efectuar as medições espectrofotométricas utilizando como líquido de referência a água destilada, colocada numa cuba com o mesmo trajecto óptico, b, para regular o zero da escala das absorvências do aparelho nos comprimentos de onda de 420, 520 e 620 nm.

1.4.4. *Expressão dos resultados*

1.4.4.1. Cálculos

Calcular as absorvências para 1 cm de trajecto óptico, relativas aos três comprimentos de onda, dividindo por b, expresso em cm, as absorvências registadas; seja A_{420} , A_{520} e A_{620} .

A intensidade é convencionalmente dada por:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

sendo expressa com três decimais.

O tom é, convencionalmente, dado por:

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

sendo expresso com três decimais.

QUADRO I

Transformação das absorvências em transmitâncias (T %)

Modo de utilização:

Ler o primeiro algarismo decimal do valor da absorvência na coluna vertical 1 e o segundo algarismo decimal na horizontal 2.

Registrar o algarismo situado na sua intercepção. Para obter a transmitância, este algarismo deve ser dividido por 10 se a absorvência for inferior a 1, por 100 se estiver compreendida entre 1 e 2, e por 1 000 se for compreendida entre 2 e 3.

Nota:

O algarismo existente no alto e à direita de cada casa permite ter em conta, por interpolação, o terceiro algarismo decimal do valor da absorvência.

	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

Exemplo:

Absorvência 0,47 1,47 2,47 3,47

T % 33,9 % 3,4 % 0,3 % 0 %

As transmitâncias T % serão expressas com uma aproximação de 0,1 %.

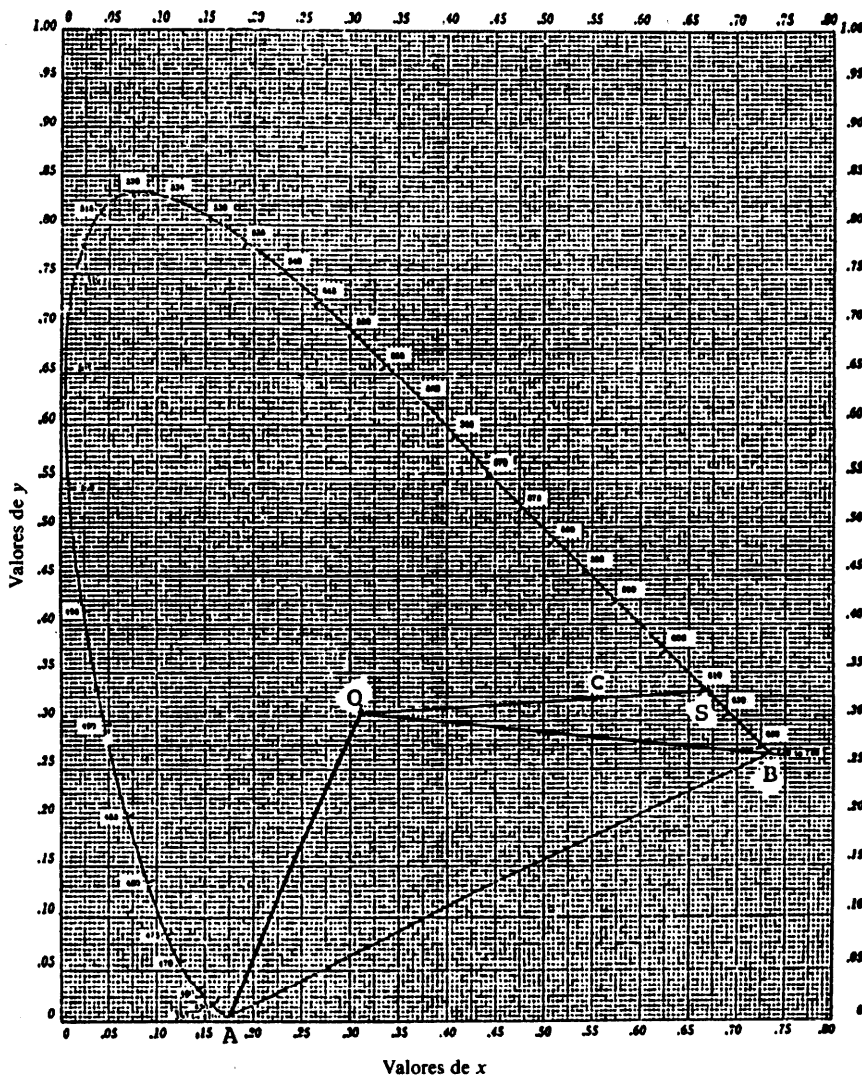


Figura 1
Diagrama da cromaticidade que representa o *locus* de todas as cores do espectro.

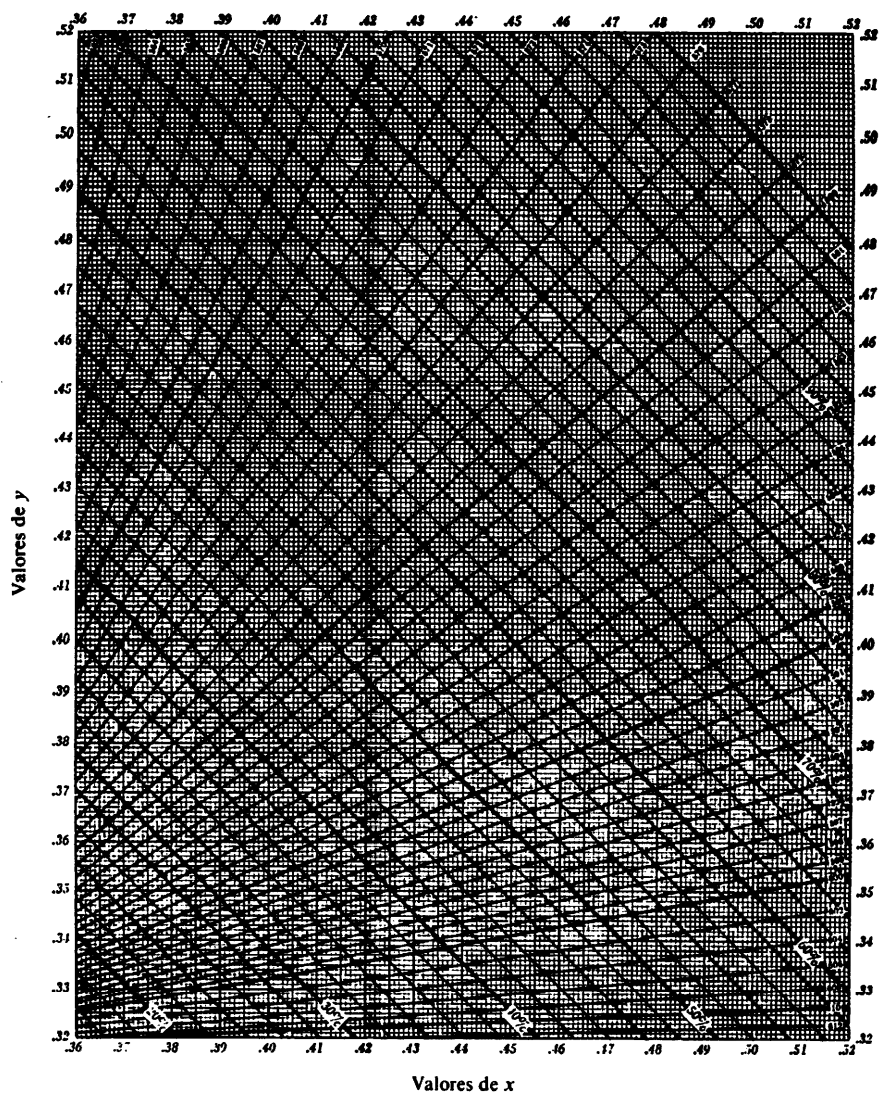
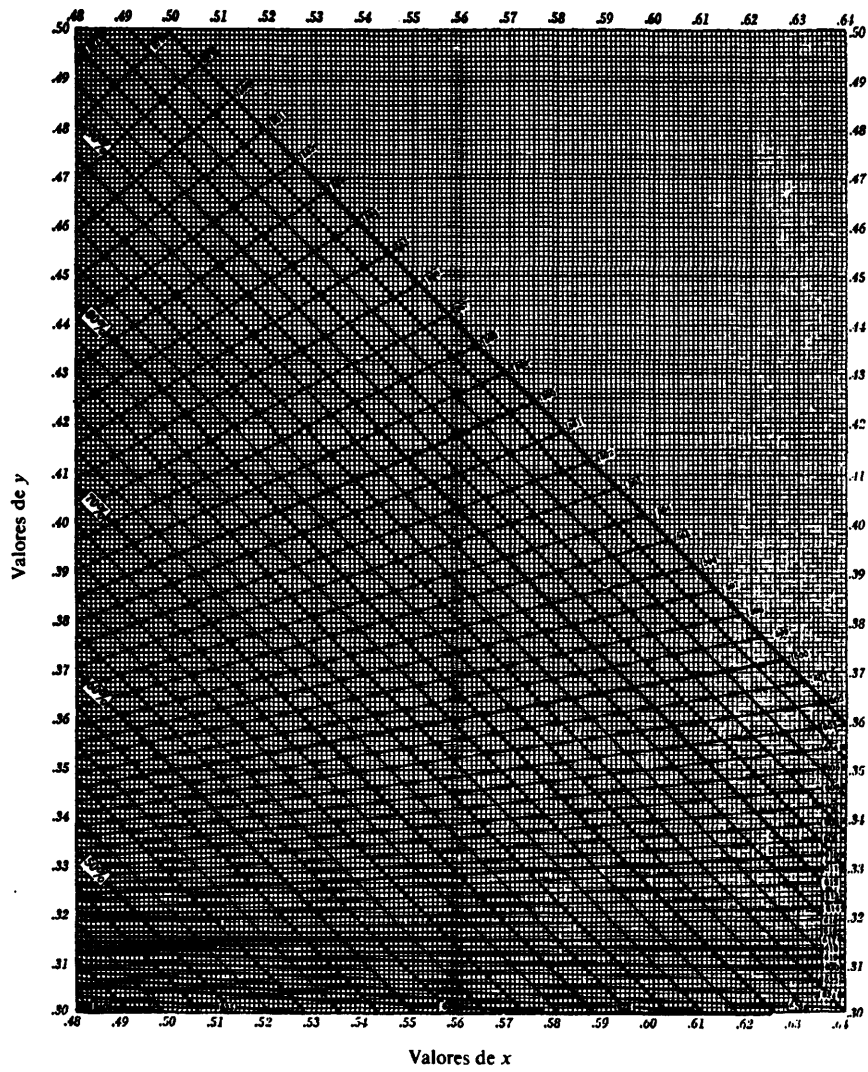


Figura 2

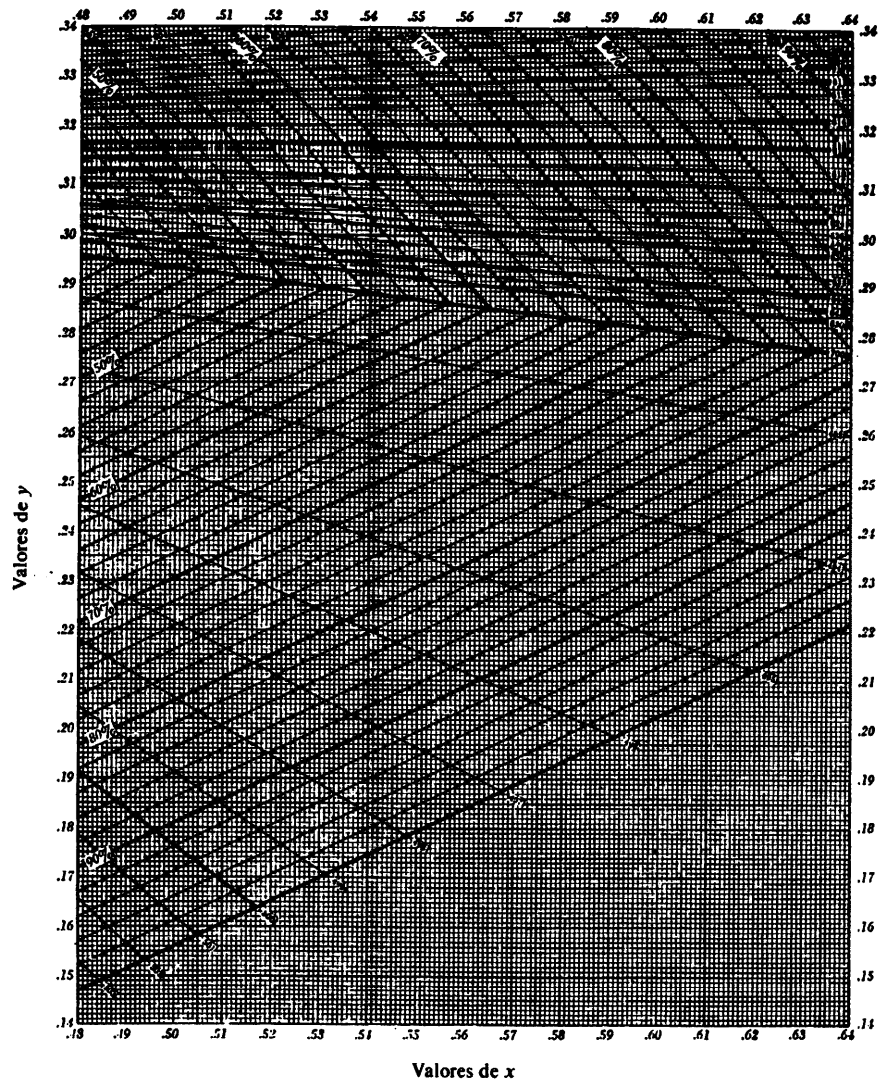
Diagrama da cromaticidade para os vinhos tintos de cor franca e os vinhos tintos atijolados.



Valores de x

Figura 3

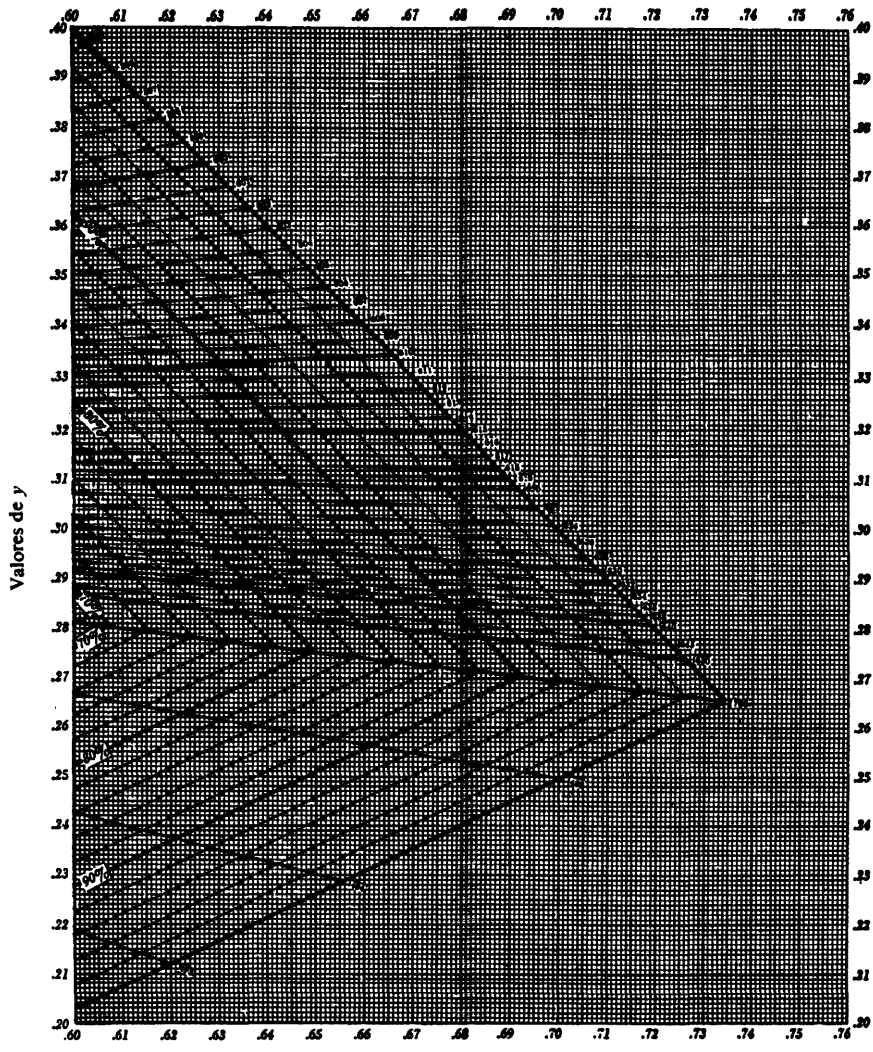
Diagrama da cromaticidade para os vinhos tintos de cor franca e os vinhos tintos atijolados.



Valores de x

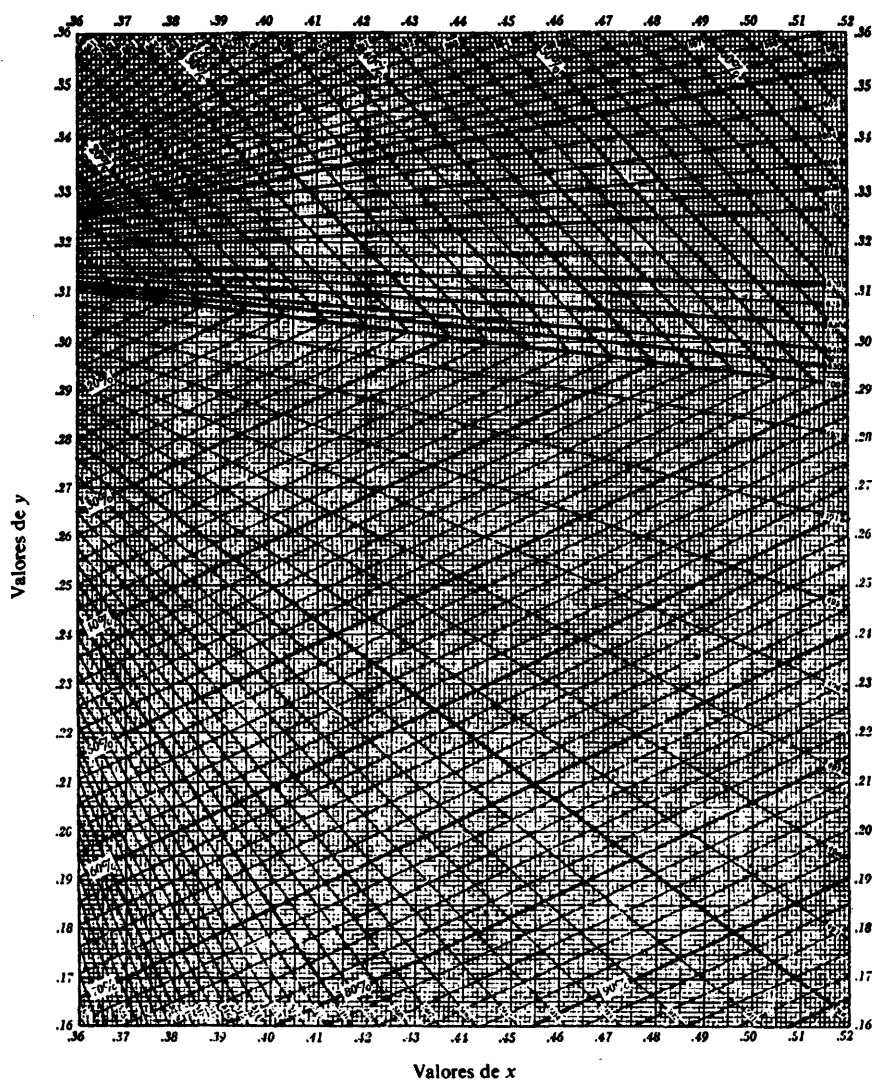
Figura 4

Diagrama da cromaticidade para os vinhos tintos de cor franca e os vinhos tintos purpúreos.



Valores de x
Figura 5

Diagrama da cromaticidade para os vinhos tintos de cor franca e os vinhos tintos purpúreos.



Valores de x

Figura 6

Diagrama da cromaticidade para os vinhos tintos atijolados e os vinhos tintos purpúreos.

2. CASO DOS MOSTOS CONCENTRADOS RECTIFICADOS**2.1. Princípio**

Medição da absorvência a 425 nm, sob 1 cm de espessura, do mosto concentrado rectificado cuja concentração de açúcares tenha sido levada a 25 p. 100 (m/m) (25 ° Brix).

2.2. Aparelhagem

2.2.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições entre 300 e 700 nm.

2.2.2. Cubas de vidro, de trajecto óptico igual a 1 cm.

2.2.3. Filtro de membrana, com porosidade de 0,45 µm.

2.3. Modo operativo**2.3.1. Preparação da amostra**

Utilizar a solução cujo título de açúcares é 25 p. 100 (m/m) (25° Brix), preparada como indicado no capítulo «pH» em 4.1.2, filtrá-la num filtro de membrana, de porosidade 0,45 µm.

2.3.2. Determinação da absorvência

Regular a absorvência zero para o comprimento de onda de 425 nm com uma cuba de 1 cm de trajecto óptico que contenha água destilada.

Registar a absorvência A, nesse comprimento de onda, da solução a 25 p. 100 de açúcares (25 ° Brix) obtida em 2.3.1 e colocada numa cuba de 1 cm de trajecto óptico.

2.4. Expressão dos resultados

A absorvência a 425 nm do mosto concentrado rectificado em solução a 25 p. 100 (m/m) de açúcares (25 ° Brix) é expressa com dois decimais.

41. ÍNDICE DE FOLIN-CIOCALTEU**1. DEFINIÇÃO**

O índice de Folin-Ciocalteu é o resultado obtido pela aplicação do método descrito posteriormente.

2. PRINCÍPIO

O conjunto dos compostos fenólicos do vinho é oxidado pelo reagente de Folin-Ciocalteu. Este último é constituído por uma mistura de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e de ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) que é reduzido, aquando da oxidação dos fenóis, numa mistura de óxidos azuis de tungsténio (W_8O_{23}) e de molibdéneo (Mo_8O_{23}).

A cor azul produzida possui uma absorção máxima na proximidade dos 750 nm. É proporcional à taxa de compostos fenólicos.

3. REAGENTES

Os reagentes devem ser de qualidade analítica. A água utilizada deve ser água destilada ou água de pureza equivalente.

3.1. Reagente de Folin-Ciocalteu

Este reagente encontra-se disponível no comércio, pronto para utilização. Pode ser preparado do seguinte modo: são dissolvidos 100 g de tungstato de sódio ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) e 25 g de molibdato de sódio ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) em 700 ml de água destilada; juntar 50 ml de ácido fosfórico a 85 % ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml), e 100 ml de ácido clorídrico concentrado ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Levar à ebulição sob refluxo durante 10 horas, juntar em seguida 150 g de sulfato de lítio ($Li_2SO_4 \cdot H_2O$), algumas gotas de bromo e levar de novo à ebulição durante 15 minutos. Arrefecer e completar até 1 litro com água destilada.

3.2. Carbonato de sódio (Na_2CO_3) anidro em solução a 20 % (m/v).**4. APARELHAGEM**

Material corrente de laboratório e, nomeadamente:

4.1. Balões graduados de 100 ml.**4.2. Espectrofotómetro que permita trabalhar a 750 nm.****5. MODO OPERATÓRIO****5.1. Caso dos vinhos tintos**

Num balão graduado de 100 ml (4.1), introduzir, respeitando a ordem seguinte:

1 ml de vinho diluído a 1/5

50 ml de água destilada

5 ml de reagente de Folin-Ciocalteu (3.1)

20 ml de solução de carbonato de sódio (3.2)

Levar o volume a 100 ml com água destilada.

Agitar para homogeneizar. Esperar 30 minutos de modo a obter a estabilização da reacção. Determinar a absorvência a 750 nm sob 1 cm em relação à testemunha preparada com água destilada em substituição do vinho.

Se a absorvência lida não for próxima de 0,3, é conveniente alterar a diluição do vinho.

5.2. Caso dos vinhos brancos

Trabalhar nas mesmas condições com 1 ml de vinho não diluído.

5.3. Caso dos mostos concentrados rectificad**5.3.1. Preparação da amostra**

Utilizar a solução cujo teor de açúcares é de 25 p. 100 (m/m) (25° Brix), preparada como indicado no capítulo «pH», em 4.1.2.

5.3.2. Medição

Proceder como descrito no caso dos vinhos tintos (5.1), utilizando 5 ml de amostra preparada de acordo com 5.3.1, medir a absorvência em relação a uma testemunha preparada com 5 ml de uma solução de açúcar invertido a 25 p. 100 (m/m).

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS**6.1. Modo de cálculo**

O resultado é expresso sob a forma de um índice obtido multiplicando a absorvência por 100, no caso dos vinhos tintos diluídos a 1/5 (ou pelo factor correspondente à diluição utilizada), e por 20, no caso dos vinhos brancos. No caso dos mostos concentrados rectificad

6.2. Repetibilidade

A diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas simultaneamente ou imediatamente uma após a outra pelo mesmo analista não deve ser superior a 1.

Uma boa repetibilidade dos resultados está ligada à utilização de uma aparelhagem (balões graduados e cubas do espectrofotómetro) rigorosamente limpos.

42. MÉTODOS DE ANÁLISE ESPECIAIS PARA MOSTOS DE UVAS CONCENTRADOS RECTIFICADOS

a) CATIONES TOTAIS

1. FUNDAMENTO

A toma de ensaio é tratada com um permutador de cationes fortemente ácido. Os cationes são trocados por H^+ , e expressos pela diferença entre a acidez total do fluente e a da toma de ensaio.

2. APARELHAGEM

2.1. Coluna de vidro de, aproximadamente, 300 mm de comprimento e 10-11 mm de diâmetro interno, munida de torneira.

2.2. pH-metro que permita leituras de pH, pelo menos em décimas de unidade.

2.3. Eléctrodos:

- eléctrodo de vidro, a conservar em água destilada,
- eléctrodo de referência de calomel - cloreto de potássio saturado, a conservar numa solução saturada de cloreto de potássio,
- ou eléctrodo combinado a conservar em água destilada.

3. REAGENTES

3.1. Permutador de cationes fortemente ácido, em forma de H^+ . Previamente ao seu emprego, fazer dilatar a resina por imersão em água, durante uma noite.

3.2. Solução 0,1 M de hidróxido de sódio.

3.3. Papel indicador do pH.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra

Utilizar a solução obtida diluindo o mosto concentrado rectificado a 40 % (m/v), como indicada no capítulo «Acidez total», em 5.1.2.

4.2. Preparação da coluna permutadora de iões

Introduzir na coluna cerca de 10 ml de permutador de iões previamente dilatados na forma H^+ ; lavar a coluna com água destilada até à eliminação da acidez, que se controla com o papel indicador.

4.3. Permutador de iões

Fazer passar através da coluna 100 ml da solução de mosto concentrado rectificado, preparado como indicado em 4.1, à razão de uma gota por segundo. Recolher o efluente num vaso cilíndrico. Lavar a coluna com 50 ml de água destilada. Titular a acidez do efluente (incluindo a água de lavagem) com a solução 0,1 M de hidróxido de sódio até que o pH seja igual a 7 a 20° C. A adição de licor alcalino deve ser feita lentamente e a solução agitada de modo constante, sendo n ml o volume de solução 0,1 M de hidróxido de sódio utilizado.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Os cationes totais são expressos em miliequivalentes por quilo de açúcares totais, com um decimal.

5.1. Cálculos

- Acidez do efluente expressa em miliequivalentes por quilo de mosto concentrado rectificado:

$$E = 2,5 \cdot n$$

- Acidez total de mosto concentrado rectificado em miliequivalentes por quilo (ver «Acidez total» em 6.1.2): a.

- Catiões totais em miliequivalentes por quilo de açúcares totais:

$$\frac{2,5 n - a}{P} \cdot 100$$

P = teor em p. 100 (m/m) de açúcares totais.

b) CONDUCTIVIDADE

1. PRINCÍPIO

Medição da condutividade eléctrica de uma coluna de líquido, delimitada por dois eléctrodos de platina mantidos paralelos, constituindo uma das ramificações de um ponto de Wheatstone.

A condutividade varia com a temperatura, expressa a 20° C.

2. APARELHOS

- 2.1. Condutímetro que permita efectuar medições de condutividade num domínio compreendido entre 1 e 1000 microsiemens por cm.
- 2.2. Banho de água que permita levar a temperatura das amostras a analisar a cerca de 20° C (20 ± 2° C).

3. REAGENTES

- 3.1. Água desmineralizada de condutividade específica inferior a 2 microsiemens por cm a 20° C.
- 3.2. Solução de cloreto de potássio de referência.

Dissolver 0,581 g de cloreto de potássio, KCl, previamente seco até à massa constante à temperatura de 105° C, em água desmineralizada (3.1). Completar até 1 litro com água desmineralizada (3.1). Esta solução tem uma condutividade de 1000 microsiemens por cm a 20° C. O seu período de conservação é de apenas três meses.

4. MODO OPERATÓRIO

4.1. Preparação da amostra a analisar

Utilizar a solução cujo teor de açúcares totais é de 25 p. 100 (m/m) (25° Brix), como está indicado no capítulo «pH», em 4.1.2.

4.2. Determinação da condutividade

Levar a amostra a analisar a 20° C por imersão num banho de água. Controlar a temperatura com uma aproximação de 0,1° C.

Lavar duas vezes a célula de medida do condutímetro com a solução a examinar.

Medir a condutividade expressa em microsiemens por cm.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

A condutividade é expressa em microsiemens por cm (μScm^{-1}) a 20° C, sem decimal, para a solução a 25 p. 100 (m/m) (25° Brix) de mosto concentrado rectificado.

5.1. CÁLCULO

Se o aparelho não dispuser de um compensador de temperatura, corrigir a condutividade medida por meio da tabela I. Se a temperatura for inferior a 20° C, adicionar a correcção; se a temperatura for superior a 20° C, subtrair a correcção.

TABELA I

Correcções de condutividade para temperaturas diferentes de 20° C em microsiemens cm^{-1}

Condutividade	Temperaturas									
	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) Subtrair a correcção.

(2) Adicionar a correcção.

c) HIDROXIMETILFURFURAL

1. PRINCÍPIO DOS MÉTODOS

1.1. Método colorimétrico

Os aldeídos derivados do furano, dos quais o principal é o hidroximetilfurfural, reagem com o ácido barbitúrico e a paratoluidina para dar um composto vermelho que é doseado por colorimetria a 550 nm.

1.2. Método por cromatografia líquida de elevada resolução

Separação numa coluna de fase inversa e determinação a 280 nm.

2. MÉTODO COLORIMÉTRICO

2.1. Aparelhos

2.1.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medições entre 300 e 700 nm.

2.1.2. Cubas de vidro, de trajecto óptico igual a 1 cm.

2.2. Reagentes**2.2.1. Ácido barbitúrico em solução a 0,5 p. 100 (m/v).**

Dissolver 500 ml de ácido barbitúrico, $C_4O_3N_2H_4$, em água destilada, aquecendo ligeiramente num banho de água a 100 ° C; levar a 100 ml com água destilada. A solução conserva-se durante, aproximadamente, uma semana.

2.2.2. Paratoluidina em solução a 10 p. 100 (m/v).

Introduzir num balão graduado de 100 ml 10 g de paratoluidina, $C_6H_4(CH_3)NH_2$; adicionar 50 ml de isopropanol, $CH_3CH(OH)CH_3$, e 10 ml de ácido acético glacial, CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml); completar até 100 ml com isopropanol. Esta solução deve ser renovada todos os dias.

2.2.3. Etanal (CH_3CHO) em solução aquosa a 1 p. 100 (m/v).

A preparar na altura de uso.

2.2.4. Hidroximetilfurfural, $C_6O_3H_6$, em solução aquosa a 1 g/l.

Preparar, por diluições sucessivas, soluções que titulem 5, 10, 20, 30 e 40 mg/l. A solução a 1 g/l e as suas diluições devem ser preparadas de fresco.

2.3. Modo operativo**2.3.1. Preparação da amostra**

Utilizar a solução obtida diluindo o mosto concentrado rectificado a 40 p. 100 (m/v), como indicado no capítulo «Acidez total» em 5.1.2. Efectuar o doseamento a partir de 2 ml desta solução.

2.3.2. Doseamento colorimétrico

Em dois frascos *a* e *b* de 25 ml com rolha de esmeril, introduzir 2 ml de amostra preparada como indicado em 2.3.1. Colocar em cada frasco 5 ml de solução de paratoluidina (2.2.2) e misturar. Juntar no frasco *b* (testemunha) 1 ml de água destilada e no frasco *a* medir 1 ml de solução de ácido barbitúrico (2.2.1). Agitar para homogeneizar. Transvazar o conteúdo dos frascos para as cubas de 1 cm de trajecto óptico do espectrofotómetro. Regular o zero da escala das absorvências relativamente ao conteúdo do frasco *b* para o comprimento de onda de 550 nm, acompanhar a variação da absorvência do conteúdo do frasco *a*; registar o seu valor máximo *A* que é alcançado entre dois a cinco minutos.

As amostras cujo teor de hidroximetilfurfural seja superior a 30 mg/l devem ser diluídas antes da análise.

2.3.3. Determinação da curva de calibração

Em dois frascos *a* e *b* de 25 ml, introduzir 2 ml de cada uma das soluções de hidroximetilfurfural a 5, 10, 20, 30 e 40 mg/l (2.2.4) e tratá-las como descrito em 2.3.2.

A representação gráfica das absorvências em função dos teores, em mg/l, de hidroximetilfurfural das soluções-padrão é uma recta que passa na origem.

2.4. Expressão dos resultados

O teor de hidroximetilfurfural dos mostos concentrados rectificados é expresso em mg/kg de açúcares totais.

2.4.1 Modo de cálculo

O teor C mg/l de hidroximetilfurfural da amostra a analisar é obtido a partir da absorvência A determinada com essa amostra, utilizando a curva de calibração.

Teor de hidroximetilfurfural em mg/kg de açúcares totais:

$$250 \cdot \frac{C}{P}$$

P = teor p. 100 (m/m) de açúcares totais do mosto concentrado rectificado.

3. MÉTODO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUÇÃO**3.1. Aparelhagem****3.1.1. Cromatógrafo em fase líquida de alta resolução, equipada com:**

- injector de *loop* de 5 ou 10 μ l,
- detector espectrofotómetro que permita efectuar medições a 280 nm,
- coluna de sílica marcada octadecilada (por exemplo: Bondapak C₁₈ — Corasil, Waters Ass.),
- registador e, eventualmente um integrador,
- débito da fase móvel: 1,5 ml/min.

3.1.2. Dispositivo de filtração em membrana (0,45 μ m)**3.2. Reagentes****3.2.1. Água bidestilada.****3.2.2. Metanol, CH₃OH destilado ou de qualidade HPLC.****3.2.3. Ácido acético, CH₃COOH (p_{20} = 1,05 g/ml).****3.2.4. Fase móvel: água-metanol (3.2.2) ácido acético (3.2.3) previamente filtrados numa membrana (0,45 μ m), (40 - 9 - 1 v/v).**

Esta fase móvel deve ser preparada todos os dias e desgaseificada antes da sua utilização.

3.2.5. Solução de referência de hidroximetilfurfural a 25 mg/l (m/v). Introduzir num balão graduado de 100 ml, 25 mg de hidroximetilfurfural, C₆H₃O₆, pesados com exactidão, e completar o volume com metanol (3.2.2). Diluir esta solução a 1/10 com metanol (3.2.2) e filtrá-la numa membrana (0,45 μ m).

Esta solução, colocada no frigorífico num frasco de vidro castanho, hermeticamente fechado, conserva-se durante dois a três meses.

3.3. Modo operatório**3.3.1. Preparação da amostra**

Utilizar a solução obtida diluindo o mosto concentrado rectificado a 40 p. 100 (m/v), como está indicado no capítulo «Acidez total» em 5.1.2 e filtrar por uma membrana (0,45 μ m).

3.3.2. Determinação cromatográfica

Injectar no cromatógrafo 5 (ou 10) µl da amostra preparada como se indicou em 3.3.1 e 5 (ou 10) µl de solução de referência de hidroximetilfurfural (3.2.5). Registrar o cromatograma.

O tempo de retenção do hidroximetilfurfural é próximo de 6 a 7 minutos.

3.4. Expressão dos resultados

O teor de hidroximetilfurfural dos mostos concentrados rectificadados é expresso em mg/kg de açúcares totais.

3.4.1. Modo de cálculo

Sendo C mg/l o teor de hidroximetilfurfural da solução de mosto concentrado rectificado a 40 p. 100 (m/v).

O teor de hidroximetilfurfural em mg/kg de açúcares totais:

$$\frac{250 \cdot C}{P}$$

P = teor em p. 100 (m/m) de açúcares totais do mosto concentrado rectificado.

d) METAIS PESADOS**1. PRINCÍPIOS****I. Método rápido de avaliação dos metais pesados**

Os metais pesados são postos em evidência no mosto concentrado rectificado, devidamente diluído, por uma coloração originada pela formação de sulfuretos. São avaliados comparativamente a uma solução-padrão de chumbo correspondente ao teor máximo admissível.

II. Determinação do teor de chumbo por espectrofotometria de absorção atómica

O quelato formado pelo chumbo com a pirrolidinaditiocarbamato de amónio é extraído pela metilisobutilcetona, cuja absorvência é medida a 283,3 nm. O teor de chumbo é determinado pelo método das adições.

2. MÉTODO RÁPIDO DE AVALIAÇÃO DOS METAIS PESADOS**2.1. Reagentes****2.1.1. Ácido clorídrico diluído a 70 p. 100 (m/v)**

Tomar 70 g de ácido clorídrico (HCl), ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19$ g/ml) e completar até 100 ml com água.

2.1.2. Ácido clorídrico diluído a 20 p. 100 (m/v)

Tomar 20 g de ácido clorídrico (HCl), ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19$ g/ml) e completar até 100 ml com água.

2.1.3. Amoníaco diluído

Tomar 14 g de amoníaco (NH₃), ($\rho_{20} = 0,931 - 0,934$ g/ml) e completar até 100 ml com água.

- 2.1.4. **Solução tampão de pH 3,5**
- Dissolver 25 g de acetato de amónio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) em 25 ml de água e juntar 38 ml de ácido clorídrico diluído (2.1.1). Ajustar o pH, se necessário, com o ácido clorídrico diluído (2.1.2) ou amoníaco diluído (2.1.3.) e completar a 100 ml com água.
- 2.1.5. **Solução de tioacetamida, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}$), a 4 p. 100 (m/v)**
- 2.1.6. **Solução de glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$), a 85 p. 100 (m/v)**
- $(n_D^{20} = 1,449 - 1,455)$.
- 2.1.7. **Reagente de tioacetamida**
- A 0,2 ml de solução de tioacetamida (2.1.5), juntar 1 ml de uma mistura de 5 ml de água, 15 ml de hidróxido de sódio em solução 1 M e 20 ml de glicerol (2.1.6). Aquecer em banho de água a 100° C durante 20 segundos. Preparar na altura de usar.
- 2.1.8. **Solução de chumbo a 0,002 g/l**
- Preparar uma solução a 1 g/l de chumbo dissolvendo em água 0,400 g de nitrato de chumbo, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, e completar até 250 ml com água. No momento de utilização, diluir esta solução a 2 p. 1 000 (v/v) com água para obter uma solução a 0,002 g/l.
- 2.2. **Modo operativo**
- Dissolver uma toma de ensaio de 10 g de mosto concentrado rectificado em 10 ml de água. Juntar 2 ml de solução tampão de pH 3,5 (2.1.4) e misturar. Adicionar 1,2 ml de reagente de tioacetamida (2.1.7) e misturar imediatamente. Preparar a testemunha nas mesmas condições, utilizando 10 ml de solução a 0,002 g/l de chumbo (2.1.8).
- Após dois minutos, a coloração castanha da solução de mosto concentrado rectificado não deve ser mais intensa do que a da testemunha.
- 2.3. **Cálculos**
- O ensaio testemunha, nas condições operatórias, corresponde ao teor máximo admissível de metais pesados, expressos em chumbo, de 2 mg/kg de mosto concentrado rectificado.
3. **DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CHUMBO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÓMICA**
- 3.1. **Aparelhagem**
- 3.1.1. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com um queimador alimentado por ar e acetileno.
- 3.1.2. Lâmpada de chumbo de cátodo oco.
- 3.2. **Reagentes**
- 3.2.1. **Ácido acético diluído**
- Tomar 12 g de ácido acético glacial ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) e completar até 100 ml com água.
- 3.2.2. Solução de pirrolidinaditiocarbamato de amónio, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, a 1 p. 100 (m/v)
- 3.2.3. Metilisobutilcetona, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$

3.2.4. Solução de chumbo a 0,010 g/l de chumbo

Diluir a 1 p. 100 (v/v) a solução de chumbo a 1 g/l (2.1.8).

3.3. **Modo operatório**

3.3.1. *Solução a examinar*

Dissolver 10 g de mosto concentrado rectificado numa mistura de volumes iguais de ácido acético diluído (3.2.1) e de água e completar até 100 ml.

Juntar 2 ml de solução de pirrolidinaditiocarbamato de amónio (3.2.2) e 10 ml de metiliso-butilcetona (3.2.3). Agitar ao abrigo da luz viva durante 30 segundos. Deixar separar as duas fases. Utilizar a fase de metiliso-butilcetona.

3.3.2. *Solução de referência*

Preparar três soluções de referência que contenham, além dos 10 g de mosto concentrado rectificado, respectivamente 1, 2 e 3 ml da solução de chumbo a 0,010 g/l (3.2.4). Tratá-los como a solução a examinar.

3.3.3. *Testemunha*

Preparar uma testemunha procedendo nas mesmas condições que em 3.3.1 para a solução a examinar, mas sem adição de mosto concentrado rectificado.

3.3.4. *Determinação*

Seleccionar o comprimento de onda de 283,3 nm.

Pulverizar na chama a metiliso-butilcetona proveniente do ensaio testemunha e regular a absorvência zero.

Utilizar os respectivos solventes de extracção e determinar as absorvências correspondentes à solução a examinar e às soluções de referência.

3.4. **Expressão dos resultados**

Expressar o teor de chumbo em mg/kg de mosto concentrado rectificado, com um decimal.

3.4.1. **Cálculos**

Traçar a curva que representa a variação das absorvências em função da concentração de chumbo adicionado às soluções de referência, correspondendo a concentração zero à solução a examinar.

Extrapolar a recta que une os pontos até que esta encontre o eixo das concentrações do lado negativo. A distância deste ponto à origem representa a concentração em chumbo da solução a examinar.

e) **DOSEAMENTO QUÍMICO DO ETANOL**

Este método de doseamento é utilizado para a determinação do título alcoométrico de líquidos pouco alcoólicos tais como mostos, mostos concentrados e mostos concentrados rectificados.

1. FUNDAMENTO

Destilação simples do líquido. Oxidação do etanol do destilado pelo dicromato de potássio. Titulação do excesso de dicromato por uma solução de ferro (II).

2. APARELHOS

- 2.1. Utilizar o aparelho de destilação descrito em 3.2 no capítulo «Título alcoométrico».

3. REAGENTES**3.1. Solução de dicromato de potássio**

Dissolver 33,600 g de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) numa quantidade suficiente de água para perfazer 1 litro a 20° C.

Um mililitro desta solução oxida 7,8924 mg de álcool.

3.2. Solução de sulfato de ferro (II) e de amónio

Dissolver 135 g de sulfato de ferro (II) e de amónio, $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$ numa quantidade de água suficiente para perfazer 1 litro e juntar 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml). Esta solução corresponde sensivelmente ao seu meio-volume de solução de dicromato quando acaba de ser preparada. Em seguida, oxida-se lentamente.

3.3. Solução de permanganato de potássio

Dissolver 1,088 g de permanganato de potássio, $KMnO_4$, numa quantidade suficiente de água para perfazer 1 litro.

3.4. Ácido sulfúrico diluído a 1/2 (v/v)

A 500 ml de água juntar progressivamente, e agitando-a, 500 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

3.5. Reagente de ortofenantrolina ferroso

Dissolver 0,695 g de sulfato ferroso, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, em 100 ml de água, juntar 1,485 g de ortofenantrolina monohidratada $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$. Aquecer para favorecer a dissolução. Esta solução, de cor vermelha viva, conserva-se muito bem.

4. MODO OPERATÓRIO**4.1. Destilação**

Introduzir no balão de destilação 100 g de mosto concentrado rectificado e 100 ml de água. Recolher o destilado num balão graduado de 100 ml e levar ao traço de referência com água.

4.2. Oxidação

Num frasco de 300 ml, com rolha esmerilada cujo gargalo seja terminado por uma parte mais larga, o que permite lavar o gargalo sem perdas, introduzir 20 ml de solução titulada de dicromato de potássio (3.1), 20 ml de ácido sulfúrico diluído a 1/2 (v/v) (3.4) e agitar. Adicionar 20 ml de destilado, rolar o frasco, agitar e esperar pelo menos 30 minutos, agitando de tempos a tempos (frasco «doseamento»).

Proceder à titulação da solução de sulfato de ferro (II) e de amónio (3.2) em relação à solução de dicromato de potássio, introduzindo num frasco idêntico as mesmas quantidades de reagentes, mas substituindo os 20 ml de destilado por 20 ml de água destilada (frasco «testemunha»).

4.3. Titulação

Juntar quatro gotas de reagente de ortofenantrolina (3.5) ao conteúdo do frasco «doseamento». Titular o excesso de dicromato com a solução de sulfato de ferro (II) (3.2) e de amónio. Parar a adição da solução ferrosa quando o meio passar do azul esverdeado para castanho.

Para tornar a viragem mais exacta, voltar do castanho ao azul esverdeado com a solução de permanganato de potássio (3.3). Subtrair um décimo do volume utilizado desta solução do volume de solução de sulfato de ferro (II) gasto, sendo n' esta diferença.

Proceder do mesmo modo com o frasco «Testemunha», sendo n' a diferença.

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

O etanol é expresso em gramas por quilo de açúcares totais com um decimal.

5.1. Modo de cálculo

n' ml de solução ferrosa reduzem 20 ml de solução de dicromato que oxidam 157,85 mg de etanol puro.

Um mililitro de solução de ferro (II) tem o mesmo poder redutor que:

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg de etanol}$$

$n' - n$ ml de solução de ferro (II) têm o mesmo poder redutor que:

$$157,85 \cdot \frac{n' - n}{n'} \text{ mg de etanol}$$

Etanol em g/kg de mosto concentrado rectificado:

$$7,892 \cdot \frac{n' - n}{n'}$$

Etanol em g/kg de açúcares totais:

$$789,2 \cdot \frac{n' - n}{n' \cdot P}$$

sendo P = teor p. 100 (m/m) de açúcares totais.

f) MESO-INOSITOL, SCILO-INOSITOL E SACAROSE

1. PRINCÍPIO

Cromatografia em fase gasosa de derivados silanizados.

2. REAGENTES

- 2.1. Padrão interno: xilitol (solução aquosa com cerca de 10 g/l adicionada de uma pitada de azida sódica).
- 2.2. Bistrimetilsililtri-fluoroacetamida — *BSTFA* — ($C_8H_{18}F_3NOSi_2$).
- 2.3. Trimetilclorosilano ($C_3H_9ClSi_3$).
- 2.4. Piridina p.a. (C_5H_5N).
- 2.5. Meso-inositol ($C_6H_{12}O_6$).

3. APARELHAGEM

- 3.1. Cromatógrafo de fase gasosa equipado com:
- 3.2. Coluna capilar, por exemplo, de sílica fundida, OV 1 (0,15 μ — espessura do filme, 25 m de comprimento e 0,3 mm de diâmetro interno).

Condições operatórias: gás vector: hidrogénio e hélio

- fluxo do gás vector: cerca de 2 ml/min,
- temperatura do injector e do detector: 300° C,
- programação da temperatura: 1 minuto a 160° C, 4° C/minuto até 260° C, isotérmica a 260° C durante 15 minutos,
- razão de *split*: cerca de 1 para 20.

- 3.3. Integrador.
- 3.4. Seringa micrométrica de 10 μ l.
- 3.5. Micropipetas de 50, 100 e 200 μ l.
- 3.6. Frasco de 2 ml com rolha de *teflon*.
- 3.7. Estufa.

4. MODO OPERATÓRIO

A cerca de 5 g de MCR, pesados com exactidão num matraz de 50 ml, junta-se 1 ml de solução-padrão de xilitol (2.1) e perfaz-se o volume com água. Depois de se ter homogeneizado a amostra, colhem-se 100 μ l de solução que se colocam no frasco (3.6) e que se submetem a evaporação sob uma ligeira corrente de ar, após eventual adição de 100 μ l de etanol absoluto para facilitar essa evaporação.

Dissolve-se o resíduo em 100 μ l de piridina (2.4), adicionam-se 100 μ l de bistrimetilsililtri-fluoroacetamida (2.2) e 10 μ l de trimetilclorosilano (2.3), fecha-se o frasco com a rolha de *teflon* e coloca-se na estufa a 60° C durante uma hora.

Colhem-se 0,5 μ l da fase límpida injectando-a com «agulha vazia e quente» de acordo com o *split* acima indicado.

5. CÁLCULO DOS FACTORES DE RESPOSTA

- 5.1. Prepara-se uma solução com:

60 g/l de glicose, 60 g/l de frutose, 1 g/l de meso-inositol e 1 g/l de sacarose.

Pesam-se 5 g desta solução e procede-se como no ponto 4.

A partir do cromatograma obtido, calculam-se os factores de resposta do meso-inositol e da sacarose em relação ao xilitol.

Para o xilo-inositol, não disponível no comércio, que tem um tempo de retenção compreendido entre o último pico das formas anoméricas da glicose e do meso-inositol (ver figura anexa), usa-se o mesmo factor de resposta obtido para o meso-inositol.

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

- 6.1. O meso-inositol e o xilo-inositol expressam-se em mg/kg de açúcares totais. A sacarose expressa-se em g/kg de mosto.

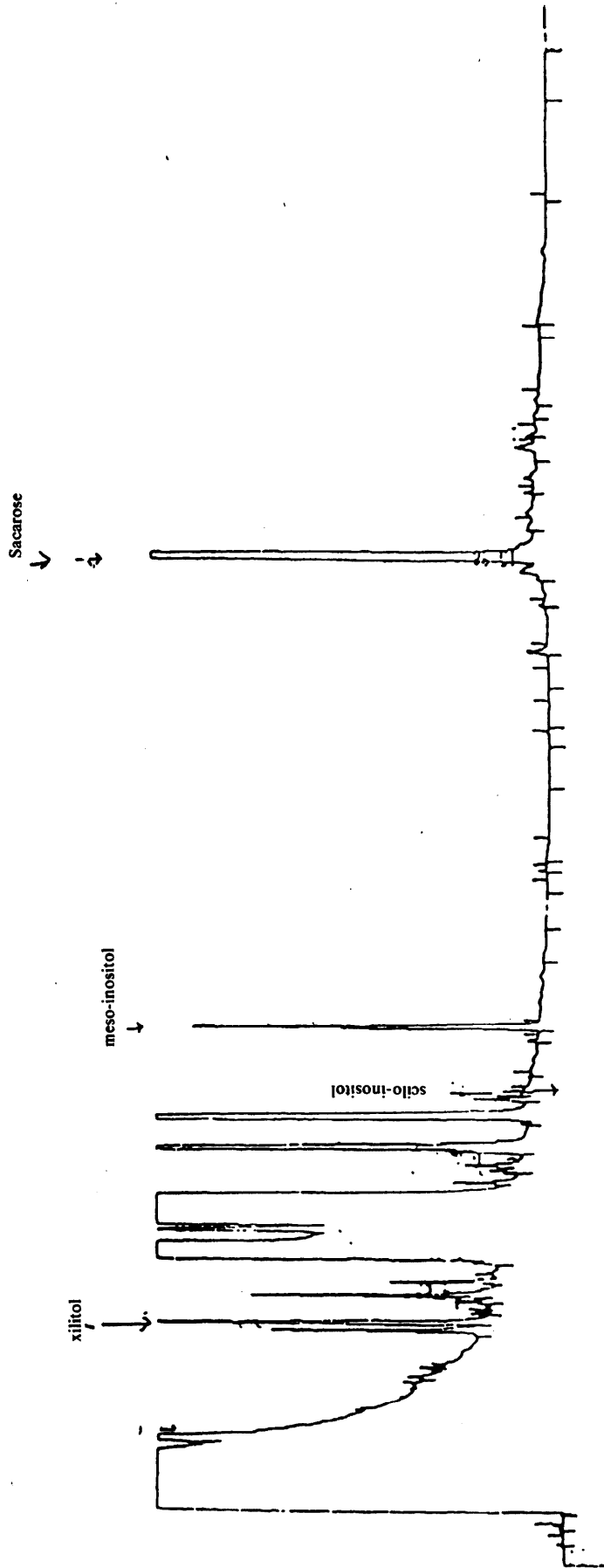


Figura — Cromatograma em fase gasosa de meso-inositol, de scilo-inositol e de sacarose.