



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

REVISION DE LOS METODOS DE PRUEBA PARA VINOS DE MESA NACIONALES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

CLAUDIO RODEA REYES

256082





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: PROF. FEDERICO GALDEANO BIENZOBAS
VOCAL: PROF. MIGUEL ÁNGEL HIDALGO TORRES
SECRETARIO: PROF. MARÍA VICTORIA COUTIÑO COVARRUBIAS
1er SUPLENTE: PROF. M^a DE LOURDES GÓMEZ RÍOS
2º SUPLENTE: PROF. RUTH VILLASEÑOR GUTIÉRREZ

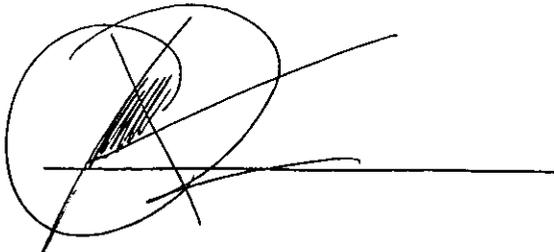
SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA DE LA
FACULTAD DE QUÍMICA.

ASESOR: PROF. MARÍA VICTORIA COUTIÑO COVARRUBIAS



SUSTENTANTE: CLAUDIO RODEA REYES



DEDICATORIA

A mi Madre, con quien aprendí a leer y a vivir

A mi Padre, quien me enseñó que la vida es trabajo

**A mis Hermanos, con quienes siento el amor fraterno
e incondicional**

**A María, quien me brinda su amor y apoyo en todo
momento**

A Zoé, para ilustrarse.

AGRADECIMIENTOS

**A MIS AMIGOS,
POR LOS MOMENTOS FRATERNALES**

A DIOS

ÍNDICE

	PAGINA
OBJETIVOS	1
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	2
CAPITULO 2. ANTECEDENTES	3
2.1 Históricos	
2.2 Legales	
2.2.1 Normas	
2.2.2 Tipos de normas	
CAPITULO 3. REVISIÓN DE LOS MÉTODOS DE PRUEBA PARA VINOS DE MESA	8
3.1 GENERALIDADES	
3.1.1 Definiciones	
3.1.2 Características Cualitativas.(Composición del vino).	
3.1.3 Características Cuantitativas.(Composición del vino).	
3.1.4 Clasificaciones	
3.2 MÉTODOS DE PRUEBA	21
3.2.1 Determinación de Acidez Volátil	
3.2.2 Determinación de Acidez Fija	
3.2.3 Determinación de Acidez Total	
3.2.4 Determinación de Grado Alcohólico	

3.2.5	Determinación de Azúcares Reductores	
3.2.6	Determinación de Cenizas	
3.2.7	Determinación de Extracto Seco Total	
3.2.8	Determinación de Furfural	
3.2.9	Determinación de Metanol	
3.2.10	Determinación de SO ₂ Total	
3.2.11	Determinación de Alcoholes Superiores	
3.3	ETIQUETADO	89
3.4	VISIÓN INTERNACIONAL	92
	CAPITULO 4. ANÁLISIS	95
	CAPITULO 5. CONCLUSIONES	98
	BIBLIOGRAFÍA	99

OBJETIVOS

- **Desarrollar una investigación acerca de los Métodos de Prueba utilizados para vinos de mesa.**
- **Evaluar la vigencia de los Métodos de Prueba contenidos en la NOM-V-12-1986 para vinos de mesa.**
- **Proponer una serie de Métodos de Prueba actualizados.**

CAPITULO 1 . INTRODUCCIÓN

La política internacional con la que nuestro país marcha, es un hecho trascendental gracias a que la apertura económica de nuestras fronteras fomenta la competitividad y por consiguiente, acarrea repercusiones importantes para la industria vitivinícola nacional. Aunque algunas de ellas sean, tecnológicamente hablando, desventajas. El presente proyecto tiene como objetivo promover una revisión, desde los puntos de vista tecnológico y de calidad, de los Métodos de Prueba contenidos en la NOM para vinos, por lo que la investigación documental y la propuesta, se realiza en torno a la legislación, el etiquetado y la denominación de origen del mismo.

Es curioso que siendo México, el primer receptor en América de la *vitis vinifera* a finales del siglo XV, sea hoy una industria vinícola poco desarrollada, en comparación con las de Chile, Argentina ó Estados Unidos; es por ésta y otras razones, como el que existan legislaciones en el mundo que la actual NOM-V-12-1986 no contempla, que se considera no solo necesario, sino además imperante, definir un marco sanitario y de calidad dentro del cual fluctúe la industria vinícola nacional. Lo que se pretende aquí, es comparar nuestra legislación con las mejores, técnicamente hablando, como la Comunidad Económica Europea, para establecer concretamente la brecha que nos separa de estas y dentro de esta diferencia, empezar a trabajar por ingeniería inversa , por lo que emerge este trabajo como una investigación y concluye con una propuesta firme.

La consecuencia de realizar esta investigación es benéfica para la nación, además que a los viticultores les sirve como base para optimizar los análisis de laboratorio, con una propuesta que plantea nuevos y necesarios lineamientos dentro de los Métodos de Prueba y la Denominación de Origen, todo esto con el fin común de mejorar y engrandecer este país.

CAPITULO 2 . ANTECEDENTES

2.1 HISTÓRICOS

La historia del vino en el mundo es tan vieja como la historia del hombre mismo, ya el Génesis menciona que cuando Noé llegó a descansar al monte Ararát, en las montañas de Armenia, plantó viñedos, que con el tiempo no solo le brindaron frutos, sino que conoció el efecto que producía ingerir el zumo fermentado de uva.(1,3)

El ancestral cultivo de la vid ha permanecido vigente a lo largo de la historia de la humanidad, gracias a que el jugo fermentado de su fruto es una bebida alcohólica, denominada vino, la cual manifiesta su abolengo gracias al origen de su nombre; Esto es, los Hititas, quienes en el año 1500 a.C. dominaban lingüísticamente la zona del Asia menor, se referían a esta bebida como ÜIIAN ó como VIANAS, que en su idioma se pronuncia VIN; También los primeros escribanos griegos, se referían al vino como WOINOS, y como en el griego clásico la “W” no suena, fonéticamente es OINOS, así más tarde del latín y del etrusco, que utilizaban la palabra VINUM, se derivaron palabras tales como, WINE, VIN, WEIN, Y VINO, que son las que actualmente viven en nuestro lenguaje. (2)

Por otro lado, tenemos que el origen viticultor más preciso geográficamente hablando, señala a Etiopía como la madre de las primeras vides (1). Llegando más tarde a Egipto, Arabia, Caldea y la India, donde los libros sagrados se referían al vino como el alma extraída de las uvas. Sin embargo, la propagación más importante se dio en occidente, una vez que la vitis y su derivado llegaron a Grecia, donde a través de las vías comerciales del Danubio, alcanzaron Alemania y muy probablemente la Galia (comarca que comprende lo que hoy se conoce como Francia , Bélgica, Holanda y Suiza (4)). Además, no fue sino hasta 1700, que la uva empezó a cosecharse en el sur de África. Australia y Nueva Zelanda, esperaron hasta 1850 para ver iniciada su vitivinicultura.(2)

Es de gran relevancia el velo de inmortalidad, un tanto místico, que envuelve al vino y su relación con la religión, ya que en Roma, su vínculo con el cristianismo lo lleva a ser pieza fundamental de la misa ritual. Entonces, Europa se convierte en el principal centro de producción de vinos en el mundo.(18)

La extensión territorial ocupada en América para el cultivo de la vid, es reciente y limitada, más aún si se considera que la franja donde se desarrolla esta planta, se encuentra entre los 40° latitud sur y los 48° latitud norte.

La vitivinicultura en América comenzó en 1526, cuando Hernán Cortes decretó 34 años después del descubrimiento del continente, que por cada colonizador se plantarían 10 vides tipo *vitis vinifera*; También el clero contribuyó al fomento de la vinicultura en éste continente, pues fueron los evangelizadores quienes elaboraban el vino para uso de sus ritos; Sur-América recibió ésta planta poco tiempo después que México, primero fue Perú, después Argentina, y finalmente Chile.

La conquista hacia el norte de nuestro país permitió reconocer tierras propicias para los viñedos y fue precisamente en California, donde el Jesuita Juan de Ugárte, quién dirigía el cultivo, obtuvo su primer viñedo en la misión de Loréto. Más tarde, en 1769, Fray Junípero fundó la misión de San Diego, con el subsecuente viñedo.(18)

Aunque fue México el primer receptor de la vid, no presento el país un desarrollo notable de ésta industria, ya en 1939 apenas se contaba con 1500 Ha de viñedos, y no fue sino hasta la 2ª guerra mundial, que hubo un desarrollo mas acelerado de ésta.

El hombre a través del tiempo no solo ha aprendido a optimizar y eficientar los procesos de producción del vino, sino que además, ha sabido reconocer desde su origen, el verdadero valor de la legitimidad del producto, consecuencia de una fermentación alcohólica, a partir del mosto de uva. Esto quiere decir que, aprendió a definir y diferenciar, el que el vino sea ó no puro, lo anterior ha quedado escrito en la historia del hombre, en los registros que desde tiempos inmemoriales hablan de prácticas ilegales que alteran la composición del vino, ó peor aún, que disfrazan su descomposición, sin embargo, la intención de regular y normalizar la elaboración de éste producto, data desde 1500-1913 a.C.(2)

El problema mas común para alterar el vino es también el mas viejo, y se refiere al del “aguado” ó dilución con agua, lo cual ya estaba contemplado en el código de Hammurabi, en este sentido fue la civilización griega quien inicio el desarrollo de una tecnología mas precisa para la vinicultura, aunque la práctica de adicionar hierbas al vino, sugiere la intención de cubrir olores indeseables en la fermentación del mismo, lo que podrían ser ligeras desviaciones fermentativas. Sin embargo, el

la fermentación del mismo, lo que podrían ser ligeras desviaciones fermentativas. Sin embargo, el proceso de elaboración del vino quedó establecido durante la primera era cristiana, a partir de entonces el vino se pretende como objeto comercial; No obstante la reglamentación, aquel sufría una acetilación, para lo cual los romanos adicionaban material alcalino, para reducir la acidez, lo anterior se volvió tan común como el uso de agua-sal para incrementar la brillantez de los colores; Todo esto nos habla de la experiencia que el ser humano ha acumulado a lo largo de su historia, y de las necesidades que estos conocimientos han generado en la conciencia social, como la obvia necesidad de legitimar el producto.

2.2 LEGALES

2.2.1 NORMAS

La palabra norma suele usarse en dos sentidos : uno amplio y otro estricto. *lato sensu* es en el amplio sentido porque puede aplicarse a toda regla de comportamiento, obligatoria o no; *stripto sensu*, es en sentido estricto, corresponde a lo que impone deberes ó confiere derechos. Las reglas prácticas cuyo cumplimiento es potestativo se llaman reglas técnicas. Aquellas que tienen carácter obligatorio o son atributivas de facultades les damos el nombre de **normas**, éstas imponen deberes ó conceden derechos, mientras los juicios enunciativos se refieren siempre, como su nombre lo indica a lo que es.(5)

Puesto que en este caso, no se refiere a una regla de comportamiento, la definición de norma que aquí se utiliza corresponde al sentido estricto, por lo que la norma del presente anteproyecto es de carácter obligatorio; Sin embargo, la definición de norma técnica precisa la idea.

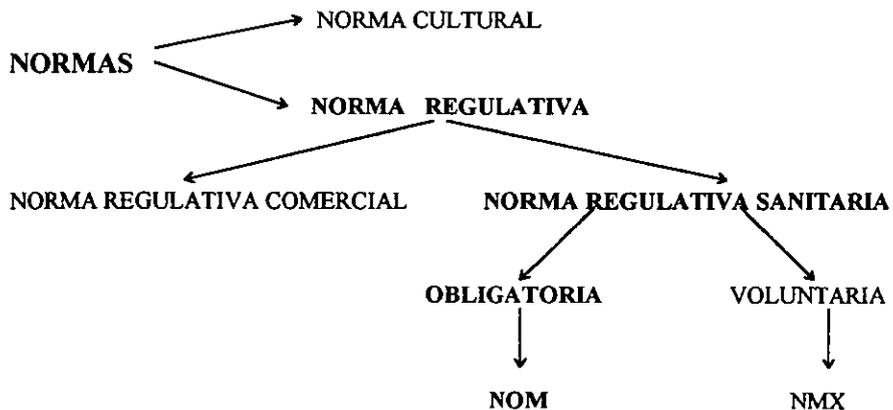
Las **normas técnicas** por su parte, son el conjunto de reglas científicas o tecnológicas de carácter obligatorio, que establecen los requisitos que deben satisfacerse en la organización y prestación de servicios, así como el desarrollo de actividades en materia de salubridad general, con el objeto de uniformar principios, criterios, políticas y estrategias (6); Lo anterior implica el comercio, si bien los productos fabricados y la prestación de servicios existen, buscan satisfacer una necesidad de mercado y en toda transacción comercial deben establecerse, por necesidad, especificaciones acordadas por ambas partes: productor y consumidor.

Además, una norma de esta magnitud es el resultado de un estudio particular, donde deben intervenir directamente, los grupos interesados en las especificaciones de algún producto, por ejemplo: los organismos comerciales, los institutos técnicos y de investigación, las cámaras de comercio y de protección al consumidor, representantes de interés general y por supuesto la autoridad oficial reconocida.

2.2.2 TIPOS DE NORMAS

En síntesis, existen dos tipos de normas, las de carácter cultural (idioma, uso horario, etc.) y las de carácter regulativo, ya sean comerciales y/o sanitarias; Estas últimas, son discernidas en dos nuevamente, las reguladoras obligatorias y las reguladoras voluntarias.

En México existen dos tipos, las normas oficiales mexicanas (NOM) que se conocen como obligatorias y las normas mexicanas (NMX) que son exclusivamente regulativas voluntarias; Esto último se desprende del acuerdo de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI), publicado en el Diario Oficial de la Federación con fecha de 6 de noviembre de 1992.



Por otro lado, el organismo oficial encargado de coordinar los comités consultivos de normalización, es el departamento de normalización nacional de la Dirección General de Normalización (DGN), la cual se encuentra en función de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Sin embargo, en caso de incumplimiento de las normas oficiales mexicanas, las dependencias competentes podrán sancionar al infractor, con arresto máximo de 36 h, clausura del negocio y multas de hasta 20000 veces el salario mínimo vigente en el D.F., según lo establece la Ley Federal de Protección al Consumidor(8).

Finalmente, es bastante claro que el ostentar una Norma Oficial Mexicana en algún producto ó servicio, implica el dar transparencia al comercio en México y propiciar prácticas equitativas de producción y consumo, garantizando así la salubridad de los productos y servicios en el país, por lo que las normas oficiales mexicanas también se aplican en los productos, procesos y servicios extranjeros.

CAPITULO 3 . REVISIÓN DE LOS MÉTODOS DE PRUEBA PARA VINOS DE MESA

3.1 GENERALIDADES

3.1.1 DEFINICIONES

Al referirse al vino, se parte de la base que su definición es de todos conocida, sin embargo, profundizando sobre éste término, notamos que no es totalmente homogéneo su significado entre la gente del ámbito enológico, incluso internacionalmente.

Para poder discernir con respecto del vino, primero, se debe definir su naturaleza de la manera mas precisa posible, para de este modo poder clasificarlo y después, caracterizarlo desde el punto de vista fisicoquímico, complementando finalmente ambos parámetros y poseer así un conocimiento más completo.

- **Vino ó vino de mesa**, es la bebida sana e higiénica, obtenida por fermentación alcohólica (total ó parcial) de mosto de uva fresco.

Aún cuando la definición anterior es completa, debo agregar el significado de otros términos enológicos con el fin de homogeneizar criterios.

- **Aditivo**, aquella sustancia, sintética ó natural, que se adiciona a las bebidas alcohólicas para mejorar sus características sensoriales ó proporcionar otras.
- **Adulteración**, sustitución de un artículo por otro dentro del mismo producto y/o la disminución de la calidad de un producto mediante el añadido de ingredientes no genuinos.(9)
- **Aguardiente**, es el resultado de la destilación de vinos u otras bebidas alcohólicas fermentadas, a partir de cereales y/o papa, cuya concentración alcohólica varía entre 40-55 % alcohol en volumen.

- **.Añejamiento ó maduración**, transformación lenta, que permite al producto adquirir las características sensoriales deseadas, por procesos químicos, que en forma natural tienen lugar durante su permanencia en recipientes de roble blanco ó encino.(50)
- **Buenas Practicas de Fabricación**, conjunto de normas y actividades entre sí, destinadas a garantizar que los productos tengan y mantengan las especificaciones requeridas para su consumo.(50)
- **Fraude**, es el acto realizado para eludir una disposición legal, en contra del estado ó de terceros, ó para burlar los derechos de una persona.(10)
- **Ingrediente**, cualquier sustancia ó producto, incluidos los aditivos, que se empleen en la fabricación ó preparación y esté presente en el producto final .(50)
- **Metales pesados ó metaloides**, los elementos químicos que aún en bajas concentraciones (*mg/l*), causan intoxicación en el metabolismo humano. Y cuya importancia toxicológica se ve representada por el plomo.
- **Métodos de prueba**, procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio para comprobar que un producto satisface las especificaciones que establece la norma.(50)
- **Mosto de uva concentrado**, es en principio un mosto de uva fresca, el cual ha sido sometido a un proceso de deshidratación.
- **Mosto de uva fresca**, es el jugo, resultado de la extracción y/o extrusión de uvas frescas maduras, limpias y sanas.
- **Champagne**, es el vino espumoso producido en Champagne, Francia, elaborado y protegido bajo la legislación de ese país, para su denominación de origen.
- **Vino de marca**, vino en cuya etiqueta sólo se ostenta la marca de la casa que lo elabora, y no especifica el o los tipos de uva utilizados en su elaboración, ni el origen de las mismas.

- **Vino de origen**, aquel que tiene un certificado oficial de origen, ya que debe contar con un respaldo gubernamental y una legislación específica y estricta para su etiquetado.
- **Vino espumoso de calidad**, se le llama al que ha sido elaborado bajo la técnica Francesa de CHARMAT, inventada en 1910.(12)
- **Vino espumoso**, es el cual ha sufrido una segunda fermentación, con objeto de incrementar la concentración de CO₂ dentro del envase.
- **Vino gasificado**, es al cual le ha sido adicionado anhídrido carbónico, para atribuirle esa propiedad burbujeante.
- **Vinos de crianza**, reserva y gran reserva, son los que se añejan en barricas de roble blanco.
- **Vinos sin crianza**, son aquellos que no han envejecido en barricas de roble blanco.

3.1.2 CARACTERÍSTICAS CUALITATIVAS.

Como la definición lo indica, el vino, es un líquido hidro-alcohólico-ácido, proveniente de la fermentación del zumo de uva, sin embargo, su composición posee un lista tan variada y extensa, que es necesario agruparlos por compuestos afines para su regulación ó normalización.

El vino, como todo ser vivo, posee una composición variable en función de su etapa de vida, es por ello que a continuación se describe un análisis cualitativo de dicha composición.

En 1802, solo se tenía conocimiento de apenas 6 componentes del vino; ya en 1960, este número rebasó los 200 compuestos: 12 alcoholes, 6 azúcares, 14 ácidos orgánicos, 12 ésteres, 9 aniones, 11 cationes, 22 oligoelementos, 32 aminoácidos, 10 sustancias nitrogenadas, 17 antocianos, 12 fenoles, 6 sustancias volátiles, 6 combinaciones de ácido sulfuroso, 12 vitaminas, 6 enzimas, 3 gases disueltos, además de polipéptidos, proteínas, polisacáridos, coloides, y células vivas ó muertas.(12)

En esta parte del proyecto, se mencionan prácticamente todos los componentes del vino y los rubros en los que estos se desglosan, sin embargo, debe señalarse que no todos son objeto de regulación, aunque sí de considerarse.

AGUA

ALCOHOLES

ALCOHOLES			
Amílico	Propílico	Enántico	Octílico
Hexílico	Isobutilico	Isoamilico	2-Metilbutílico
Metílico	Efílico 8 - 18%	Glicerico 1-12g/l	Butílico
2-Propílico	2-Fenético		

(1)

ÁCIDOS

ÁCIDOS				
Tartárico	Racémico	Cítrico	Málico	Tánico
Carbónico	Succínico	Metapectico	Caprónico	Láctico
Enántico				
ÁCIDOS VOLATILES				
Acético	Butírico	Valérico	Cáprico	Fórmico
Isobutírico	Capróico	Enántico	Caprílico	Prelargónico
Propiónico				

(1)

AZÚCARES

AZÚCARES		
Arabinosa	Ribosa	Ramnosa
Xilosa	Sacarosa	Galactosa

Ribosa, xilosa, ramnosa y arabinosa (esta última dextrógira y levógira) del orden de 1 g/l.

Y en mucha menor proporción :

Fructosa	Glucosa
----------	---------

MATERIALES COLORANTES

Antocianos, flavoninos, catequinas, y taninos, son los principales grupos de compuestos, los cuales se metoxilan ó forman complejos con glúcidos originando así :

MATERIA COLORANTE		
Flavona	Cianidol	Calconas
Flavonona	Peonidol	Auronas
Delfinidol	Petunidol	Malvidol

AMIDAS, ALCOHOLES, COMPUESTOS CARBONILO, ACETALES, Y ESTERES

AMIDAS	COMPUESTOS CARBONILO Y ACETALES	ALCOHOLES	ÉSTERES
N-2-fenilacetamida	Etanal	Metanol	Formiato de metilo
N-isoamilacetamida	Furfural	Etanol	Acetato de metilo
	Acetona	Propanol	Formiato de etilo
	1-1-dietoxietano	2-propanol	Acetato de etilo
	Hidroximetil furfural	Butanol	Propionato de etilo
	3-Hidroxi-2-Pentanona	Isobutanol	Isobutirato de etilo
	2-3-Pentadiona	Amilico	Isovalerato de etilo
	Acetal	Isoamilico	Caproato de etilo
	3-Hidroxi-2-Butanona	2-Metil-Butílico	Caprilato de etilo
	Etanal	Hexílico	Caprato de etilo
		2-Fenético	Lactato de etilo
		Octílico	Succinato de dietilo
		2-3-butilen glicol	Malato de dietilo
			Acetato de isobutilo
			Isobutirato de isobutilo
			Caproato de isobutilo
			Caprilato de isobutilo
			Gamma-butirolactona
			Acetato de isoamilo
			Isovalerato de isoamilo
			Caproato de isoamilo
			Caprilato de isoamilo
			Lactato de isoamilo
			Isobutirato de hexilo
			Caproato de hexilo
			Acetato de 2-fenetilo
			Caproato de 2-fenetilo
			Diacetilo

(12,13)

AMINOACIDOS

AMINOACIDOS			
Alanina	Arginina	Asparagina	Ac. aspartico
Ac. aminobutirico	Pirrolidon carboxilico	Ac. pipecolico	Fenilalanina
Cisteína	Cistina	Ac. glutamico	Glutamina
Glicina	Histidina	Hidroxi prolina	Isoleucina
Leucina	Licina	Metionina	Omitina
Glicocola	2-oxi prolina	Norvalina	Serina
Treonina	Triptofano	Tirosina	Sulfometionina
Ac. Hidroxipipecolico	Oxi prolina	Etanolamina	amidas

(16)

MATERIAS PÉCTICAS

Éstos son azúcares que sin sabor dulce, pero con suavidad propia, existen en el vino(15). Son también sustancias de composición compleja, de carácter mucilaginoso, que se hallan en los vinos en forma de suspensión coloidal. La sobremaduración del fruto incrementa las cantidades de *materias pécticas* en los mostos y después en los vinos, dificultando la natural clarificación.

Se estima que en las materias pécticas prestan pastocidad a determinados vinos.

MATERIAS PECTICAS	
Anhídrido de arabinosa	Arabinosa
Anhídrido de dextrosa	Dextrinas

(13,15)

SUSTANCIAS MINERALES

SUSTANCIAS MINERALES en proporcion del orden de 1.5 - 3.0 g/l			
Azufre	Fósforo	Cloro	Silicio
Boro	Potasio	Magnesio	Calcio
Sodio	Cobre	Flúor	Bromo
Yodo	Hierro	Arsénico	

Del orden de mg / l	
Cinc	Manganeso
Aluminio	Rubidio

Del Orden de 0.1 mg / l	
Titanio	Estaño
Vanadio	Estroncio
Del Orden de 0.01 mg / l	
Molibdeno	Bario
Del Orden de 0.001 mg/l	
Cobalto	Cadmio
Niquel	

TRAZAS	
Cromo	Talio

(14,1)

VITAMINAS

VITAMINAS		
Tiamina B1	ácido Pantoténico	Colina
Riboflavina B2	ácido Nicotínico	Inositol
Piridoxina B6	ácido Aminobenzoico	Biotina
Cobalamina B12	ácido Fólico	

(15,16)

3.1.3 CARACTERÍSTICAS CUANTITATIVAS.

Ahora vale la pena mencionar, que la composición del vino no es constante, ésta es función del fruto, que a su vez depende del clima y suelo donde se cultivo, y no solo eso, también inciden las condiciones genéticas de la cepa utilizada, la madurez del fruto en el momento de la cosecha, y hasta el tiempo de exposición solar del fruto.

Durante la vinificación se da vida a un nuevo ser, el nuevo producto, como todo ser vivo, variara su composición hasta llegar a la plena maduración del mismo, donde una vez alcanzados sus mas preciados atributos tiende a envejecer.

Por lo anterior, no se tienen valores que den soporte a un análisis cuantitativo de los componentes del vino mexicano. Sin embargo, existen una serie de Especificaciones Sanitarias, contempladas por la Secretaría de Salud para tal caso.

Los vinos de mesa, deben cumplir con las siguientes especificaciones o en caso contrario se definen como adulterados :

ESPECIFICACIONES	LIMITES MÁXIMO	MINIMO
Extracto seco reducido		15.0 g / l
Cenizas		1.0 g / l
Acidez Total (tartarico)	10.0 g/l	4.5 g / l

ESPECIFICACIONES	LIMITES MÁXIMO	MINIMO
Acidez Volatil corregida (acetico)	1.2 g / l	
Acidez Fija (tartarico)		4.0 g / l
SO2 Total	300 mg / l	
SO2 Libre	75 mg / l	
Plomo <u>Pb</u>	0.5 g / l	
Arsénico <u>As</u>	0.5 g / l	
Cinc <u>Zn</u>	1.5 g / l	
Cobre <u>Cu</u>	2.0 g / l	
Metanol	300 mg / 100 ml de alcohol anhidro	

3.1.4 CLASIFICACIÓN

Aunque las formas de clasificar al vino a lo largo de la historia no han sido homogéneas, las que a continuación se mencionan le han servido al hombre para determinar: origen, calidad y sabor del mismo.

Existen diversas formas de clasificar los caldos vínicos producidos en diferentes regiones del mundo, ésto gracias a que las características de los vinos han sido con el tiempo cada vez mas específicas debido al avance tecnológico, sin embargo, aquí se presentan siete criterios para agruparlos con el fin de catalogar las clasificaciones, en base a :

- El origen geográfico.
- El color.
- El tipo de uva utilizada.
- El contenido de azúcares.
- La calidad del mosto.

- El contenido de alcohol.
- La concentración de anhídrido carbónico.

Origen geográfico

Esta clasificación está determinada, obviamente, por la región del mundo donde la cepa fue cultivada, no se refiere necesariamente al país, sino esencialmente a la comarca productora, ya que las características del fruto son singulares y estas son función del micro-ambiente que impere en dicha comarca.

En la elaboración de estos caldos contribuyen en gran proporción, la calidad y madurez del fruto, las condiciones climatológicas, la ubicación de la planta con respecto del sol, y de mayor relevancia, la composición del suelo donde se cultive la *vitis vinifera*.

Color

En relación con el color de los vinos, ha quedado establecido que la vinificación se da básicamente en dos grandes grupos : Tintos y Blancos. Sin embargo, con ligeras modificaciones a las técnicas de vinificación, como lo es la presencia ó no de los orujos durante la maceración, se agregan dos sub-grupos mas a este rubro : Rosados y Claretos.

Siendo así la vinificación de los vinos rosados, similar a la de los blancos, mientras que la de los claretos es parecida a la de los tintos; Débe señalarse, que tanto sus características químicas como sensoriales, los separan de los auténticos tintos y blancos, y los colocan en una posición intermedia entre ambos.

Los tintos, son aquellos producidos a partir de uvas oscuras ó tintas, en donde a la elaboración del vino esta inherente la presencia de orujos, ó el pericarpio del fruto, donde se encuentran las sustancias tanoides responsables de el color del mismo.

Los blancos, son los que están elaborados a partir de uvas blancas, en presencia de sus hollejos ó de uvas tintas sin el orujo de las mismas.

Los vinos rosados, son consecuencia de la fermentación de uvas tintas previa ligera maceración de sus orujos, por otro lado, los vinos claretes son el resultado de la fermentación de uvas tintas y blancas.

Los vinos por su color tienen cuatro sub-grupos, radicando el criterio discerniente en la brillantez y nitidez de estos, ya que el color ha sido desde siempre característica importante para determinar la calidad del vino, siendo este un factor fundamental en la cata del vino. (1)

Tipo de uva utilizada

En función del tipo de uva, los vinos se clasifican en solo dos clases :

- **Varietal**, el cual hace referencia en su etiqueta, al único tipo de uva usado para la elaboración del mismo.
- **Mezclado**, este ha tenido que usar dos ó mas mezclas de uva, por ejemplo los rosados.

Contenido de azúcares

En función de su contenido de azúcares, los vinos pueden clasificarse en :

CLASIFICACION DE VINOS POR SU CONTENIDO DE AZUCARES	
secos	semisecos
semidulces	dulces

Todo esto tomando como parametro, los g/l de azúcares invertidos expresados como glucosa.

Calidad del mosto

La clasificación de un vino, también se puede determinar en función de la calidad del mosto utilizado para su elaboración; Esto se debe a que la 2ª y 3ª clasificación, se alejan del método

tradicional de proceso. Es por ello que se presentan 3 rubros dentro de este apartado, y son los siguientes :

1ª Vino de mosto de calidad.

2ª Vino de mosto rehidratado.

3ª Vino de mosto de uva pasa.

Contenido de alcohol

Esta clasificación no contiene sub-grupos, ya que por definición el grado alcohólico de un vino oscila entre los 9º a los 12º, a una temperatura de 20°C. Este grado alcohólico estará expresado como porcentaje de alcohol en volumen. Es importante destacar que un vino, en el sentido estricto de su definición, una vez que ha extralimitado esta barrera del grado alcohólico, se le denominara vino generoso, (superando los 12º).

Concentración de anhídrido carbónico contenido

Este parámetro conduce la clasificación hacia dos sub-grupos únicamente; En primera instancia describe el tipo de vino del que se trate, ya sea el de **vino sin gasificar** ó del tipo de **vino gasificado**.

Vino sin gasificar, es el que contiene el anhídrido carbónico residual de la fermentación.

Vino gasificado, es al cual le ha sido adicionado el anhídrido carbónico, con el fin de cambiar la palatabilidad del vino, para así producir otras bebidas, como la denominada "cooler"; Sin embargo, existen otros vinos espumosos de calidad, que pueden incluso ser de mucho mayor valor enológico, como el Champagne, el cual también se incluyen dentro de esta clasificación.

3.2 METODOS DE PRUEBA

3.2.1 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ VOLATIL

FUNDAMENTO

La acidez volátil, esta formada a partir de ácidos de la serie acética presentes en el vino, en estado libre o combinados como una sal.(19)

Este método básicamente consiste en la titulación del destilado, es decir, la titulación de ácidos volátiles, separados del vino por destilación de vapor. La acidez del bióxido de azufre, libre y combinado, destilado bajo estas condiciones debe ser descontado de la acidez del destilado. La acidez de ácido sórbico, el cual pueda haber sido adicionado al vino debe también ser deducida.(20,21)

NOTA: Parte del ácido salicílico, usado en algunos países para estabilizar los vinos antes del análisis, esta presente en el destilado. Este debe ser determinado y descontado de la acidez. (20)

MÉTODO(21)

Reactivos

- Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N (disolución valorada).
- Disolución indicadora de fenofaleína al 5 % en alcohol al 50 %.
- Material común de laboratorio.

Material y equipo

- Equipo para destilación por arrastre de vapor.
- Matraz Erlenmeyer de 500 ml.
- Pipeta volumétrica de 25 ml.

Procedimiento.

Colocar 600 ml de agua hervida, en la cámara exterior del matraz, tomar 25 ml de muestra (libre de CO₂) con pipeta e introducir en la cámara interior del matraz y tapar. Calentar por 3 min con el escape de vapor abierto. Cerrar el escape y destilar 300 ml en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Agregar 0.5 ml de fenoftaleína y titular rápidamente con solución valorada de NaOH 0.1 N, hasta que el color rosado persista por lo menos 15 s.

Resultados

La acidez volátil expresada como g de ácido acético / 100 ml, se calcula por medio de la siguiente ecuación :

$$\text{g ácido acético / l} = V_1 \times N_1 \times 0.06 \times 40$$

En donde :

g ácido acético / l = Acidez volátil expresada en g de ácido acético, por ml.

V₁ = Volumen de NaOH utilizado en la titulación.

N₁ = Normalidad de la disolución de NaOH, valorada.

MÉTODOS OPCIONALES

En el caso de la Comunidad Económica Europea, no se tiene un método opcional sino una simplificación del análisis global, es decir, se complementa el análisis de Acidez Volátil con la determinación de BIÓXIDO DE AZUFRE LIBRE Y COMBINADO, por medio de dos titulaciones mas, aprovechando el tratamiento que se ha dado a la muestra.

MÉTODO (20)

Reactivos

- Ácido Tartárico cristalino (C₄H₆O₆)
- Solución de hidróxido de sodio 0.1 M (NaOH)
- Solución al 1 % de fenoftaleína en 96% Vol. de alcohol neutral.
- Ácido clorhídrico (ρ₂₀ = 1.18 a 1.19 g / ml) diluido 1 / 4 (en volumen)

- Solución de yoduro (I_2) 0.005 M
- Cristales de yoduro de potasio (KI)
- Solución de almidón de 5 g / l. Mezclar 5 g de almidón con aproximadamente 500 ml de agua. Llevar a ebullición, agitar continuamente y hervir por 10 minutos. Agregar 200 g de NaCl. Cuando enfríe aforar a 1 litro.
- Solución saturada de Borato de sodio ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$), alrededor de 55 g/l a 20 °C

Aparatos y equipo

Aparato de destilación compuesto por :

1. un generador de vapor; el vapor debe ser libre de CO_2
2. un matraz con tubo para vapor
3. una columna de destilación
4. un condensador
5. una bomba de agua

Este equipo debe pasar las 3 siguientes pruebas antes de utilizarse;

(a) Colocar 20 ml de agua hervida en el matraz. Colectar 250 ml del destilado y adicionarle a este 0.1 ml de solución de hidróxido de sodio 0.1M y dos gotas de solución de fenoftaleína. La coloración debe ser estable por al menos 10 segundos.

(b) Colocar en el matraz 20 ml de solución de ácido acético 0.1 M. Colectar 250 ml del destilado. Titular con solución de hidróxido de sodio 0.1 M ; El volumen utilizado debe ser de al menos 19.9 ml (al menos 99.5 % del ácido acético arrastrado por el vapor).

(c) Colocar 20 ml de solución de ácido láctico en el matraz. Colectar 250 ml del destilado y titular el ácido con solución de hidróxido de sodio 0.1 M. El volumen de hidróxido de sodio adicionado debe ser menos ó igual a 1 ml (no mas del 0.5 % de ácido láctico es destilado). Cualquier aparato ó procedimiento que pase estos exámenes satisfactoriamente cumple con los requerimientos oficiales internacionales de aparatos y procedimientos.

Procedimiento

Preparacion de la muestra. Eliminacion del dióxido de carbono. Colocar alrededor de 50 ml en un matraz de vacío; aplicar el vacío al matraz con bomba de agua por uno ó dos minutos, agitando constantemente.

Destilación por vapor. colocar 20 ml de vino, liberado de bioxido de carbono y agitando aplicar el vacío. Agregar 0.5 g de ácido tartárico. Colectar por lo menos 250 ml de destilado.

Titulación. Titular con solución de hidroxido de sodio 0.1 M usando dos gotas de fenoftaleina como indicador. Llamar n al volumen usado.

Después se agregan 4 gotas de ácido clorhídrico, 2 ml de solución de almidón y unos pocos cristales de yoduro de potasio y se titula el bióxido de azufre libre con la solución de yoduro al 0.005 M; a este volumen usado de solución de yoduro se le denominara n' .

Agregar entonces la solución saturada de borato de sodio hasta que reaparezca la coloración rosa. Titular entonces el bióxido de azufre combinado con solución de yoduro 0.005 M y llamar a este volumen usado n'' .

Resultados

La acidez volátil, expresada en miliequivalentes por litro , esta dada por la formula :

$$A = 5 (n - 0.1n' - 0.05n'')$$

La acidez volátil, expresada en gramos de ácido acético por litro, esta dada por :

$$a = 0.300 (n - 0.1n' - 0.05n'')$$

Repetibilidad

$$r = 0.7 \text{ meq/l}$$

$$r = 0.04 \text{ g ac. acético/l}$$

Reproducibilidad

$$R = 1.3 \text{ meq/l}$$

$$R = 0.08 \text{ g ac. acético/l}$$

3.2.2 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ FIJA

FUNDAMENTO

La determinación se realiza mediante la titulación de los ácidos, del residuo orgánico, de la muestra preparada, los que han sido previamente separados del vino, por evaporación de éste. Además, la acidéz del ácido ascórbico, el cual pudo haber sido agregado al mosto muy probablemente, debe ser considerado así, como el uso del ácido salicílico que en algunos países emplean para estabilizar el vino antes del análisis. (22)

La acidéz fija, se obtiene por diferencia entre la acidez total y la acidez volátil, sin embargo, la acidez fija tiene ya un papel de importancia en la fermentación. A mayor acidez, se produce una selección de microorganismos, se elimina el desarrollo de bacterias y fermentan en el mosto levaduras apropiadas, por lo tanto, disminuye la producción de acidez volátil. Por lo que la acidez fija, puede considerarse como la suma de los ácidos que tiene el vino procedentes del mosto, es decir, tartárico, málico, cítrico, además de succínico y láctico (que se producen durante la fermentación). (22,29)

MÉTODO (23)

Este método determina la Acidez Fija, así como el cálculo de la Acidez Volátil en bebidas alcohólicas.

Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser de grado analítico, cuando se mencione agua debe entenderse agua destilada o desmineralizada.

- Alcohol etílico (C_2H_5OH) neutro a la fenofaleína, del mismo grado alcohólico que la muestra.
- Disolución valorada de hidróxido de sodio 0.1N.
- Disolución indicadora de fenofaleína al 5% en alcohol al 50%.

Material y equipo

- Estufa de secado con regulador de temperatura.
- Baño María con regulador de temperatura.

- Cápsula de platino ó porcelana de 50 a 100 ml.
- Cápsula de porcelana de 500 ml.
- Equipo común de laboratorio.

Procedimiento

Preparación de la muestra. Evaporar a sequedad en baño María, 25 ó 50 ml de la muestra contenidos en una cápsula de platino ó porcelana, después se llevan a la estufa a un temperatura entre 100 - 105 °C durante 30 minutos.

Disolver el residuo que queda en la cápsula con varias porciones de alcohol neutro de mas ó menos el mismo grado alcohólico que la muestra, utilizando un volumen no mayor de 50 ml, transferir esta disolución a una cápsula de porcelana que contenga aproximadamente unos 250 ml de agua recientemente hervida, fría y neutralizada con disolución de hidróxido de sodio 0.1 N utilizando disolución de fenoftaleína como indicador.

La disolución resultante, se titula con solución de hidróxido de sodio utilizando como indicador el agregado al agua para su neutralización.

Resultados

La Acidez Fija expresada en miligramos (mg) de ácido acético por 100 ml referidos a alcohol anhidro se calcula por medio de la siguiente ecuación :

$$A.F. = \frac{V \times N \times 60 \times 100}{M} \times \frac{100}{G.A.R.}$$

En donde :

A.F. = Acidez fija, expresada en mg de ácido acético, por 100 ml referidos a alcohol anhidro.

V = Volumen de la disolución de hidróxido de sodio gastado para la titulación de la muestra, en ml.

N = Normalidad de la disolución de hidróxido de sodio.

60 = Miliequivalentes del ácido acético en mg.

M = Volumen de la muestra utilizada, en ml.

G.A.R. = Grado alcohólico real de la muestra a 15°C en la escala de Gay Lussac, determinado de acuerdo con la NOM-V-13-S.

Cuando se expresa la acidez en términos de otro ácido, hacer las sustituciones correspondiente en los cálculos.

Para calcular Acidez volátil en bebidas alcohólicas, se utiliza la siguiente ecuación :

$$A.V. = A.T. - A.F.$$

En Donde :

A.V. = Acidez volátil, expresada en mg de ácido acético por 100 ml referidos a alcohol anhidro.

A.T. = Acidez total, determinada de acuerdo con la NOM-V-16-S y expresada en mg de ácido acético por 100 ml referido a alcohol anhidro.

A.F. = Acidez fija, determinada de acuerdo con el procedimiento descrito en esta norma, expresada en mg de ácido acético por 100 ml referidos a alcohol anhidro.

MÉTODO OPCIONAL (24)

En la C.E.E., la Acidez Fija se determina simplemente, a partir de la diferencia entre Acidez Total y Acidez Volátil. Además los resultados se expresan como meq / l ó como g de ácido tartrático / l.

3.2.3 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL.

FUNDAMENTO

Cuando se degusta un vino, la impresión mas fuerte es la del alcohol, sin embargo, su acidéz es fundamental y de gran presencia.

La acidéz del vino (ó mosto), procede de varias sustancias ó especies químicas con este carácter, disueltas. La acidéz media total de un vino (que no es la suma de las concentraciones totales de las sustancias ácidas, sino el resultado de la valoración acidimétrica de la concentración de hidrógenos ácidos totales de las distintas sustancias, disociados y no disociados, en el momento del análisis), es del orden de 5 g/l expresada en ácido Tartárico, ó 3.25 g/l de ácido sulfúrico ó 67 m eq./l.

En la fermentación alcohólica, se producen ácido acético, ácido láctico, y ácido succínico; Los dos primeros son monobásicos y el último dibásico. El ácido acético se encuentra en los vinos sanos en dosis próximas a 0.5 g/l. El vino contiene de 1 a 5 g/l de ácido láctico y de 0.5 a 1.5 g/l de ácido succínico. Son concentraciones totales del anion en forma de ácido.(14)

En la práctica no es frecuente hacer distinción de los ácidos del vino; No se consideran en particular. Se abrevia haciendo uso de los términos: “Acidez fija”, “Acidez volátil”, “Acidez total”.(14)

MÉTODO (25)

Reactivos

- Disolución valorada de NaOH 0.1M
- Disolución indicadora de fenofaleína al 0.5% en alcohol etílico al 50%

Aparatos y Equipo

- Cápsula de porcelana de 20 cm de diámetro
- Pipeta volumétrica de 25 ml
- Bureta de 10 ml graduada en 0.05 de ml

- Pipeta serológica de 2 ml

Procedimiento

Calcular el grado alcohólico real, aplicando la norma NOM-V-13-S; En una cápsula de porcelana se neutraliza aproximadamente 250 ml de agua recientemente hervida y fría, utilizando 2 ml de disolución de fenoftaleina como indicador y disolución de hidróxido de sodio 0.1 N, agregar 25 ml de la muestra (de grado alcohólico real conocido) y titular con disolución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Resultados

La acidez total presente en la muestra, expresada en miligramos de ácido acético por 100 ml de muestra y referidos a alcohol anhidro, se calcula de acuerdo a la siguiente expresión :

$$A.T. = \frac{V \times N \times 60 \times 100}{M} \times \frac{100}{G.A. R.}$$

En donde:

A.T. = Acidez total expresada en miligramos de ácido acético por 100 ml de muestra referidos a alcohol anhidro.

V = Volumen de la disolución de hidróxido de sodio gastado en la titulación de la muestra, en ml.

N = Normalidad de la disolución de hidróxido de sodio usada en la titulación

60 = miliequivalentes del ácido acético expresado en miligramos.

M = Volumen de muestra empleada en la determinación, en ml.

G.A.R. = Grado alcohólico real de la muestra a 15°C en la escala Gay Lussac determinado de acuerdo con la NOM-V-13-S.

Cuando se exprese la acidez total en términos de otro ácido, hacer las sustituciones correspondientes en los cálculos.

MÉTODOS OPCIONALES (26)

Básicamente la acidez total del vino, se define como la suma de la acidez titulable contenida en éste, por lo que puede ser titulado hasta pH 7 con una solución alcalina estándar y utilizando un indicador; Sin embargo, el bióxido de carbono (CO_2), no esta incluido dentro de la acidez total.

Esta titulación puede ser colorimétrica ó potenciométrica, la primera con el uso de azul de bromotimol como indicador.(28, P. 81). Y en la segunda opción, con ayuda de un potenciómetro con escala de pH y electrodo combinado de vidrio:calomel/KCl.

Reactivos.

- Solución buffer (pH = 7). 107.3 g KH_2PO_4 + 500 ml NaOH 1 M; llevar al aforo de 1 l.
- Solución de NaOH 0.1 M.
- Solución de indicador de azul de bromotimol 4 g / l . 4 g de azul de bromotimol $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$ + 200 ml de etanol neutral 96 % vol. Disolver y agregar 200 ml de H_2O libre de CO_2 + solución de NaOH 1 M hasta obtener pH=7 (7.5 ml aproximadamente). Aforar a 1 l con agua.

Aparatos y equipo.

- Bomba de Vacío - Agua.
- Matraz para vacío de 500 ml.
- Potenciómetro con escala de pH y electrodo combinado vidrio:calomel/KCl
- Vasos de precipitado de 50 ml.

Procedimiento.

Preparación de la muestra. Primero se elimina el CO_2 del vino, después se coloca en un matraz de vacío alrededor de 50 ml de éste; se aplica vacío con bomba de agua al matraz por 1 ó 2 minutos, mientras se agita constantemente.

Método A

Calibración. El potenciómetro para pH es calibrado para su uso a 20 °C, de acuerdo a las instrucciones de manufactura, con la solución buffer de pH = 7.0 .

Medición. En un matraz de 150 ml coloque 10 ml de muestra preparada. Agregar 10 ml de agua destilada y entonces titular con bureta y solución de hidróxido de sodio 0.1 M hasta alcanzar pH = 7, a una temperatura de 20 °C.

NOTA : El NaOH 0.1 M debe ser agregado lentamente y la solución agitada constantemente. El volumen de hidróxido de sodio adicionado debe llamársele n .

Método B

Prueba preeliminar. Para el caso de la determinación con azul de bromotimol como indicador, colocar en un matraz Erlen-meyer de 250 ml, 25 ml de agua destilada hervida, 1 ml de indicador, 10 ml de muestra preparada, agregar NaOH hasta obtener un cambio de color a azul-verdoso. Entonces agregar 5 ml de solución buffer pH = 7.

Determinación. En un vaso de precipitados de 250 ml, colocar 30 ml de agua destilada hervida, 1 ml de indicador y 10 ml de muestra preparada, entonces titular con hidróxido de sodio hasta obtener el color visto en la prueba preliminar. Llamar entonces a éste volumen agregado n .

Resultados

La Acidez Total expresada en meq / l (A) esta dada por :

$$A = 10n$$

Y la Acidez Total expresada en g / ac. tartárico (A') esta dada como :

$$A' = 0.075A$$

3.2.4 DETERMINACIÓN DEL PORCIENTO DE ALCOHOL EN VOLUMEN A 20°C (% Vol. a 20°C)

FUNDAMENTO

Para tener una idea precisa de esta determinación, se define al por ciento de alcohol en volumen, a 20°C (Grado volumétrico a 20°C ó exfuerza real), como el grado volumétrico que expresa en volumen a 20°C, la cantidad de alcohol etílico puro contenido en 100 volúmenes, a 20°C, de una mezcla hidroalcohólica.(27)

Si los elementos extraños de la muestra hidroalcohólica compleja, a la que se le va a determinar el grado volumétrico no son volátiles, se procede a la destilación previa de la mezcla. Este es el caso para los líquidos azucarados (Licores, rones, y aguardientes que han tenido una adición apreciable de caramelo) y para las bebidas fermentadas (Vinos, cervezas, sidras, etc.). También en este caso entran los aguardientes, infusiones y extractos de frutas.

MÉTODO (27)

Reactivos

- Gránulos ó trozos de carburo de silicio, ó perlas de vidrio.
- Agua destilada.
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 6N.

Material y equipo

- Juego de alcoholímetros graduados (en 0.1 % vol.) con escala certificada en % y referidos a 20°C.
- Termómetro certificado con escala 0-50°C, con graduación máxima de 0.5°C.
- Probeta con diámetro suficiente para efectuar simultáneamente las mediciones alcoholimétricas y de temperatura.
- Matraz volumétrico de 250 ml ó matraz Kjeldahl marcado a 300 ml.

- Matraz de destilación de 1 l.
- Refrigerante tipo graham de 60 cm de longitud, adaptado en el extremo inferior con un tubo y con la punta biselada.
- trampa de vapor.
- Material de vidrio, común en laboratorio.
- Tablas de corrección por temperatura para exfuerza real y riqueza alcohólica a 20°C.(27)

Procedimiento

La destilación se efectúa sobre una muestra homogénea con la ayuda de alambique de laboratorio ó un aparato de destilación. Esta operación debe efectuarse con cuidado y en condiciones rigurosas a fin de obtener una determinación correcta del grado volumétrico.

Para proceder a la destilación, verter en el matraz el liquido problema a una temperatura cercana a 20°C (18-21°C), ayudándose de una pipeta para llevar a la marca correctamente. Verter al liquido cuantitativamente en el alambique de laboratorio ó en el matraz de destilación, a continuación enjuagar el matraz al menos tres veces para completar el agua recomendada en cada caso. Agregar un poco de agua en el matraz. Conectar el aparato de destilación con el matraz para recibir el destilado, si es preciso en un baño de agua fría y proceder a calentar a una ebullición constante y moderada. desde luego, por el refrigerante siempre circulara agua fría. el refrigerante terminara con una adaptación con manguera y tubo con la punta biselada, que entren en el matraz de recepción hasta el agua puesta en este. Una vez que se ha recibido casi todo el destilado, unos 0.5 cm abajo de la marca, sacar el matraz y determinarle la temperatura al destilado, agitando, y si es diferente a la del otro aforo, igualarlas, sacar el termómetro procurando no perder liquido, y aforar con agua destilada a la marca. Mezclar. En una probeta adecuada al tamaño del alcoholimetro y a la cantidad de muestra destilada, verter el destilado enjuagando esta primero con un poco del mismo; Después vaciar el destilado hasta unos 10 cm abajo del nivel total. Introducir el alcoholimetro cuidadosamente y sin dejarlo caer. Este debe flotar libremente; se aconseja que este separado de las paredes de la probeta ± 0.5 cm. Esperar a que se estabilice la temperatura y dando ligeros movimientos con el termómetro, eliminar las burbujas de aire. Leer en la escala del alcoholimetro, colocando la mirada de tal forma que se observe el menisco formado dentro del picnometro; Tomar

al mismo tiempo la lectura del termómetro. El grado obtenido, si es diferente a la temperatura de 20°C (Grado Aparente), se tiene que expresar a grado volumétrico (% de Alcohol en volumen a 20°C, exfuerza real), usando las tablas de la "Guide Practique D'Alcoométrie" en la sección Grado Volumétrico.(29)

En el caso que se trate de vinos carbonatados, eliminar previamente el dióxido de carbono (CO₂) de la muestra mediante agitación magnética ó vacío en frío. Verter en el matraz de 250 a 300 ml de la muestra a una temperatura entre 18 y 21 °C, transferirlos cuantitativamente con 75 a 150 ml de agua destilada al matraz de destilación simple, que contiene perlas de vidrio ó semejantes y armar el aparato para proceder a la destilación, la cual debe relizarse con ebullición controlada. Neutralizar si es necesario.

Verter en al matraz de 250 a 300 ml de la muestra a una temperatura entre 18 y 21 °C, transferirlos cuantitativamente con 100 a 150 ml de agua destilada (la cantidad de agua depende del contenido de azucares en el vino) al matraz de destilación que contiene gránulos ó trozos de carburo de silicio o perlas de vidrio y 2.5 ml de sosa 6 N, conectarlo al refrigerante mediante el adaptador.

Calentar el matraz de destilación y recibir el destilado en el mismo matraz donde se midió la muestra. Se recomienda que el matraz se encuentre sumergido en un baño de agua-hielo durante el curso de la destilación.

Cuando la cantidad de destilado contenida en el matraz, se acerque a la marca, suspender la destilación y llevar el destilado a la temperatura que se midió la muestra. Llevar a la marca con agua destilada, homogeneizar y transferir el destilado a la probeta.

Introducir el alcoholímetro junto con el termómetro, efectuar la lectura de ambos y hacer la corrección necesaria empleando las tablas de corrección de temperatura.

Resultados

Si en el momento de la determinación de la muestra esta a una temperatura diferente a 20°C, la lectura debe corregirse usando las tablas alcoholimétricas en la sección de grado volumétrico (exfuerza real)(27).

El por ciento de alcohol en volumen a 20°C, de la bebida alcohólica, objeto de esta prueba es la lectura ya corregida obtenida en el párrafo anterior, pudiendo abreviarse (% Vol.).

El informe de la prueba debe contener los siguientes datos como mínimo :

- Nombre del producto.
- Prueba a la que se sometió.
- Número de muestras probadas.
- Resultados obtenidos .
- Referencia a esta norma.
- Lugar y fecha de la prueba.
- Nombre y firma de la persona que realizó la prueba.
- Cualquier suceso no usual ocurrido durante la prueba.

Repetibilidad del método. La diferencia entre dos resultados, obtenidos en las mismas condiciones por el mismo analista, no debe exceder del 0.2%; En caso contrario repetir las determinaciones.

Reproducibilidad del método. La diferencia entre las determinaciones de dos analistas en las mismas condiciones, no debe exceder de ± 0.3 % de alcohol en volumen a 20°C.

MÉTODOS OPCIONALES

Los métodos para determinar el grado alcohólico del vino, comienzan todos con la destilación alcalina de este, en una suspensión de hidróxido de calcio. Los instrumentos para la determinación pueden ser, picnómetro, hidrómetro, balanza hidrostática, etc.(28,p.35)

3.2.5 DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES

FUNDAMENTO

Los azúcares predominantes en la vid y la uva, son la fructosa y la glucosa. En uvas maduras generalmente se encuentran en una proporción del 25 - 30 % del total del grano. Mientras madura la uva, la cantidad de azúcar aumenta y la acidez disminuye, entonces se puede encontrar desde 18 g/l hasta 240 g/l incluso 300 g/l en climas secos y cálidos, así como uvas sobremaduras.

En relación con el mosto, son también la glucosa y fructosa, los principales azúcares presentes y que en conjunto con el resto de los glúcidos presentes suman 1/5 parte del peso del mosto.

Los azúcares reductores abarcan todos los tipos existentes en el vino, exhibiendo tanto funciones cetónicas como aldehídicas, y son cuantificados gracias a su acción reductora, por una solución alcalina de sal de cobre. Es decir, después de un tratamiento a la muestra, donde se neutraliza y se remueve el alcohol, se hace reaccionar esta contra un exceso de sal de cobre, y por retrotitulación yodométrica se cuantifica el exceso de sal de cobre, conociendo así por diferencia la cantidad de azúcares reductores presentes en la muestra.

MÉTODO (31)

Reactivos

- Disolución de hidróxido de sodio (NaOH) 5 N.
- Disolución de glucosa al 0.5%.
- Disolución de azul de metileno al 1%.
- Carbón activado.
- Disolución saturada de acetato de plomo $Pb(CH_3COO)_2$
- Fosfato disódico Na_2HPO_4
- Oxalato de sodio $Na_2C_2O_4$
- Ácido acético glacial CH_3COOH
- Ácido clorhídrico concentrado

- Disolución A de Fehling. Disolver en agua, 34.639 g de sulfato de cobre pentahidratado en un matraz volumétrico de 500 ml, llevar a la marca con agua destilada y homogeneizar. Dejar en reposo hasta que clarifique y filtrar a través de papel filtro o con un crisol gooch con capa de asbesto.
- Disolución B de Fehling. Disolver 173 g de tartrato de sodio y potasio, 50 g de hidróxido de sodio, en agua destilada, en un matraz volumétrico de 500 ml llevar a la marca con agua y homogeneizar. Dejar en reposo hasta que clarifique y filtrar a través de lana de vidrio ó con un crisol gooch con capa de asbesto, guardar en botella de vidrio resistente a la alcalinidad.

Material y Equipo

- Crisol gooch con capa de asbesto.
- Bureta de 50 ml.
- Malla metálica.
- Mechero bunsen.
- Lana de vidrio ó papel filtro.
- Equipo y material común de laboratorio

Procedimiento

Para la preparación de la muestra. Neutralizar con disolución de hidróxido de sodio 5 N, 50 ml de muestra, poner en ebullición hasta que el volumen se reduzca a una tercera parte, transferir cuantitativamente el líquido remanente a un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 5 ml de una disolución saturada de acetato de plomo y cantidad suficiente de carbón activado para decolorar el vino (La cantidad de carbón activado que se emplea varía con el tipo de bebida; con 0.1 g se clarifican totalmente la mayoría de los mostos y los vinos blancos mientras que para decolorar vinos rojos se pueden requerir hasta 0.5 g . No se debe agregar en exceso ya que absorbe algo de azúcar) y dos gotas de ácido acético glacial homogeneizar y dejar en reposo durante 10 minutos, llevar ala marca con agua destilada, homogeneizar y filtrar atravez de un papel filtro, recibir el filtrado en un vaso de precipitados de 400 ml que contenga 0.4 g de fosfato disodico ó de oxalato de sodio por cada ml de disolución saturada de acetato de plomo empleado.

Durante la filtración se debe agitar el filtrado para evitar que el fosfato disódico o el oxalato de sodio se aglutinen. En el caso de que el filtrado contenga carbón activado se debe refiltrar.

Al filtrado se adicionan un poco de fosfato de sodio u oxalato de sodio para comprobar que el plomo esta precipitado en su totalidad. Si es necesario, filtrar nuevamente la solución.

Valoración del reactivo Soxhlet. Verter 25 ml del reactivo de Soxhlet (formado por disolución A y B Fehling en partes iguales) en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Adicionar unas perlas de ebullición y 20 ml de disolución de glucosa al 0.5%. Calentar hasta alcanzar la ebullición por 3 minutos, mientras tanto agitar el matraz Erlenmeyer y adicionar disolución de glucosa por medio de una bureta hasta obtener una coloración azul suave, en ese momento adicionar 5 gotas de disolución de azul de metileno y continuar la valoración. El punto final corresponde a la desaparición total del color azul. Entre el inicio de la ebullición y el final de la valoración no deben de transcurrir mas de tres minutos. Los 25 ml de reactivo de Soxhlet, requieren aproximadamente 24 ml de disolución de glucosa al 0.5%. La valoración debe repetirse hasta obtener resultados que no difieren en ± 0.2 ml.

Determinación de azúcares reductores directos. Colocar 25 ml de muestra clarificada de vino que no contenga mas de 1% de azúcares (Si 20 ml de muestra clarificada de vino contienen mas de 1% de azúcar, se puede usar 5 ó 10 ml. y diluir con agua a 20 ml) poner en ebullición y valorar con disolución de glucosa al 0.5% hasta un color azul suave. Adicionar cinco gotas de disolución de azul de metileno al 1% y continuar la titulación hasta el punto final de color rojo-ladrillo acentuado.

La ebullición se debe alcanzar en 3 minutos y en otros 3 minutos debe alcanzarse la valoración, para que el análisis tenga validez.

Determinación de azúcares reductores totales. Colocar 50 ml de muestra clarificada de vino que no contenga mas de 1% de azúcares (Si 50 ml de muestra clarificada de vino contienen mas de 1% de azúcares, pueden utilizarse diluciones de esta) libre de acetato de plomo en un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 20 ml de agua destilada y 10 ml de ácido clorhídrico, gota a gota y agitando. Calentar en un baño de agua regulado a 60°C durante 10 minutos, agitar continuamente durante los primeros 3 minutos, enfriar a temperatura ambiente, neutralizar con NaOH 5 N, enfriar, llevar a la

marca con agua destilada y homogeneizar. Para la titulación se procede como en el caso de azúcares reductores directos.

Resultados

Para los casos de azúcares reductores directos y totales:

El contenido de azúcares reductores en la bebida alcohólica, se calcula sustituyendo los valores correspondientes, según se trate de reductores totales o directos en la siguiente fórmula:

$$A_R = \frac{(a - b) (0.005) (100)}{V} \times \text{Factor de dilución.}$$

En donde :

a = Volumen de disolución de glucosa al 0.5% consumidos por el reactivo de Soxhlet, en ml.

b = Volumen de disolución de glucosa al 0.5% consumidos por la muestra de la bebida alcohólica, en ml.

V = Volumen de la muestra de la bebida alcohólica, en ml.

A_R = Contenido de azúcares reductores totales o directos en la bebida alcohólica, en g/ 100 ml.

MÉTODOS OPCIONALES

FUNDAMENTO

En algunos vinos, el azúcar no fermentado influye desventajosamente sobre el sabor y la calidad de los vinos. Principalmente de aquellos considerados selectos. Los vinos jóvenes presentan frecuentemente pequeñas cantidades de azúcar no fermentado al término de la fermentación. Solo

un análisis químico permite saber la cantidad de azúcar no fermentado al término de la fermentación, sin que ésta haya finalizado totalmente.

Es frecuente encontrar grandes cantidades de sacáridos sobre todo sacarosa en vinos elaborados a partir de mostos corregidos, es decir aquellos que han sido adicionados con azúcar.

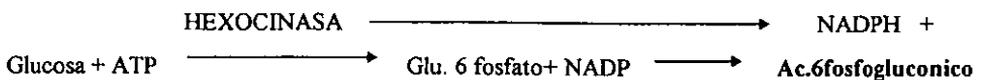
Existen diversos procedimientos para detectar el azúcar contenida en un vino y cuantificarla, estos se basan en la propiedad que tienen los grupos aldehído y cetona de la glucosa y la fructosa (reductores); Así la reducción de una solución alcalina de CuSO_4 , y la formación de un precipitado de Cu_2O el cual es proporcional a la cantidad de azúcar presente.



Para determinar azúcares reductores totales presentes, debe considerarse la presencia de sacarosa, por lo que esta debe invertirse en tal caso.

El procedimiento empleado es la titulación con reactivo de Fehling. Sin embargo no es el único pues existe un método colorimétrico donde se usa también el reactivo de Fehling.

Es posible utilizar también un método enzimático que permite identificar y cuantificar glucosa y fructosa . :



Este ácido se determina a 340 nm por espectrofotómetro.

MÉTODO(33)

Este tiene ligeras modificaciones con respecto al de Fehling, al eficientar los puntos críticos del análisis, como lo es la defecación y/o clarificación del vino y los cálculos.

Reactivos

- Solucion de ácido clorhídrico 1 M
- Solucion de hidroxido de sodio 1 M
- Solucion de ácido acetico 4 M
- Solucion de hidroxido de sodio 2 M
- Resina de intercambio iónico. Dowex 3 (malla 20-50) ó equivalente
- Solucion de acetato de plomo neutro. 250 g en 500 ml de agua muy caliente. agitar hasta disolver
- Carbonato de calcio
- **solución 1:** potasio 2-hexacianoferrato. ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$), 150 g llevados a 1000 ml de agua destilada.
- **solución 2:** Sulfato de cinc heptahidratado. ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$), 300 g llevados a 1000 ml de agua destilada.
- Solucion de sal alcalina de cobre
- Solucion de KI al 30 %
- Acido sulfúrico al 25 %
- Solucion de almidón, 5 g/l
- Solucion de tiosulfato de sodio 0.1 M
- Solucion de azúcar invertida, 5 g/l

Material y equipo

- Bureta
- Material común de laboratorio
- Columna con resina de intercambio iónico.

Procedimiento

CLARIFICACION

Es esta la parte del análisis denominada crítica, pues depende mucho de la defecación del vino el resultado del análisis, aquí se presentan dos formas diferentes de llevarlo a cabo. La primera es por medio de una resina de intercambio iónico, la segunda por medio de una solución que sustituye al acetato de plomo.

PREPARACION DE LA COLUMNA. Colocar en el fondo de la bureta, un pequeño tapón de fibra de vidrio y 15 ml de resina de intercambio iónico. Antes de que la resina sea usada, debe ser sujeta a dos ciclos completos de regeneración, haciendo pasar con alternación las soluciones 1 M de, ácido clorhídrico e hidróxido de sodio a través de ésta. Después enjuagar con 50 ml de solución de ácido acético 4 M y agitar por 5 minutos rellenar la bureta con resina y verter 100 ml de solución de ácido acético 4 M a través de la bureta (es recomendable tener resina almacenada en una botella con solución de ácido acético 4 M). Lavar la columna con agua destilada hasta que el efluente sea neutral.

REGENERACIÓN DE LA RESINA. Verter 150 ml de solución de hidróxido de sodio 2 M, a través de la resina para remover ácidos y la mayoría de los pigmentos fijos en la resina. Enjuagar con 100 ml de agua y entonces verter 100 ml de solución de ácido acético a través de ésta. Lavar la columna hasta que el efluente sea neutral.

DEFECACIÓN DEL VINO. Colocar 50 ml de vino en un contenedor con diámetro de aproximadamente 10 a 12 cm junto con $\frac{1}{2} (n - 0.5)$ ml de solución de hidróxido de sodio 1 M (siendo n el volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 M usado para la determinación de acidéz total en 10 ml de vino), evaporar sobre un baño de vapor en una corriente de aire caliente hasta que el líquido sea reducido a 20 ml.

Verter este líquido a través de una columna con resina de intercambio aniónico en forma de acetato a un rango de 3 ml cada dos minutos. Colectar el efluente en un matraz volumétrico de 100 ml. Lavar la vasija y la columna seis veces usando 10 ml de agua destilada cada vez. Agitando todo el tiempo, adicionar 2.5 ml de solución saturada de acetato de plomo, y 0.5 g de carbonato de calcio

al efluente. : agitar muchas veces y permitir el reposo por lo menos 15 minutos. Aforar a la marca con agua. Filtrar.

1 ml de este filtrado corresponde a 0.5 ml de vino.

Tras esta defecación, se describirá el método convencional utilizando 2-hexacyanoferrato de cinc en lugar de acetato de plomo, sin embargo este último proceso de clarificación solo puede ser usado para vinos blancos, vinos dulces ligeramente coloreados y mostos.

DEFECACIÓN DEL VINO. En un matraz volumétrico de 100 ml, colocar los siguientes volúmenes de vino (o mosto o mistela), las diluciones serán dadas por la siguiente guía:

1. Mostos. preparar una solución al 10% de liquido que será analizado y tomar 10 ml de la muestra diluida.
2. Vinos dulces, fortificados o no. teniendo una densidad de entre 1.005 y 1.038 : preparar 20% de la solución del el liquido que será analizado y tomar 20 ml de la muestra diluida.
3. Vinos semidulces. Teniendo una densidad entre 0.997 y 1.005: tomar 20 ml del vino sin diluir.
4. Vinos secos. Tomar 50 ml del vino sin diluir.

Adicionar 5 ml de solución 1, y 5 ml de solución 2. Mezclar. Aforar a la marca con agua. Esperar 10 min. Filtrar.

En los casos:

1. 1 ml de filtrado corresponde a 0.01 ml de mosto.
2. 1 ml de filtrado corresponde a 0.04 ml de vino dulce.
3. 1 ml de filtrado corresponde a 0.20 ml de vino semidulce.
4. 1 ml de filtrado corresponde a 0.50 ml de vino seco.

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES. Mezclar 25 ml de solución alcalina de sal de cobre, 15 ml de agua y 10 ml de solución clarificada en un matraz iodométrico de 300 ml. Este volumen de solución de azúcar no debe contener mas de 60 mg del sacárido invertido.

Adicionar piedras de ebullición. Ajustar el condensador de reflujo al matraz y llevar a ebullición en dos minutos y permitir esta ebullición por 10 minutos mas.

Enfriar el matraz inmediatamente en un corriente de agua fria. Cuando este completamente fria, adicionar 10 ml de solución de IK al 30 %, 25 ml de ácido sulfurico al 25 % y 2 ml de solución de almidon.

Titular con solución de tiosulfato de sodio 0.1 M. Llamar n al numero de mililitros usados.

Tambien debe correrse un blanco en el cual los 10 ml de solución de azúcar deben ser remplazados por 10 ml de agua destilada. Llamar n' al número de mililitros de tiosulfato de sodio usados en este blanco.

Resultados

La cantidad de azúcar contenida en la muestra, expresada como azúcar invertido, esta dada en la “Tabla A” como función del numero ($n' - n$) de ml de tiosulfato de sodio usado.

La cantidad de azúcar contenida en el vino es expresada en gramos de azúcar invertida por litro hasta con una décima de gramo, considerar la dilación hecha durante la clarificación y el volumen de muestra analizada.

**Relación entre el volumen de solución de tiosulfato de sodio 0.1 M,
(n' - n) ml, y la cantidad de azúcares reductores en mg**

DIFERENCIA	Azúcares Reductores (mg)	ml de Na₂S₂O₃	DIFERENCIA	Azúcares Reductores (mg)	ml de Na₂S₂O₃
2.4	2.4	1	2.7	33.0	13
2.4	4.8	2	2.8	35.7	14
2.5	7.2	3	2.8	38.5	15
2.5	9.7	4	2.9	41.3	16
2.5	12.2	5	2.9	44.2	17
2.6	14.7	6	2.9	47.2	18
2.6	17.2	7	3.0	50.0	19
2.6	19.8	8	3.0	53.0	20
2.6	22.4	9	3.1	56.0	21
2.6	25.0	10	3.1	59.1	22
2.7	27.6	11	--	62.2	23
2.7	30.3	12			

Tabla A

3.2.6 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CENIZAS

FUNDAMENTO⁽³⁴⁾

El contenido de cenizas, se define como todos aquellos productos remanentes, dejados por la calcinación del extracto seco del vino. La calcinación es realizada de modo, que todos los cationes (excluidos los amonio) sean convertidos a carbonatos u otras sales anhidras inorgánicas. Para que esto se cumpla, la calcinación debe realizarse entre los 500 y 550 °C, hasta que la completa combustión (oxidación) del material orgánico sea alcanzada.

MÉTODO⁽³⁷⁾

Reactivos

- Agua destilada
- Aceite puro de oliva

Material y equipo

- Cápsula de porcelana de 100 ml
- Desecador
- Parrilla con regulador de temperatura ó lampara de rayos infrarrojos
- Baño maría con control de temperatura
- Balanza analítica
- Estufa de desecación con control de temperatura
- Mufla con control de temperatura
- Equipo y material común de laboratorio

Procedimiento

La cápsula que contiene el residuo del extracto seco, se coloca en la mufla a una temperatura de 525°C y se calcina hasta obtener sólo cenizas blancas; entonces, se saca la cápsula, se enfría y se humedecen las cenizas con agua, se secan en baño maría y luego en la parrilla; y se recalcinan en la mufla a 525°C hasta obtener masa constante.

En el caso de mostos (por su elevado contenido de azúcares), a la cápsula que contiene el extracto seco, se agregan de una a tres gotas de aceite de olivo y se calienta suavemente sobre la parrilla hasta que cese el esponjamiento del residuo, para proseguir con el proceso de calcinación descrito anteriormente.

Resultados

$$C = \frac{M_c - M_v}{V} (1000000)$$

En donde :

M_c = Masa de la cápsula mas cenizas, en g

M_v = Masa de la cápsula vacía, en g

V = Volumen de la muestra empleada, en ml

C = Cantidad de cenizas, en mg / l

MÉTODOS OPCIONALES

Dentro del análisis de ceniza, se determina también la ALCALINIDAD de estas, la cual se define como la suma de cationes, excepto los iones amonio, combinados con los ácidos orgánicos del vino.

El principio del método, parte de disolver las cenizas en una cantidad conocida (en exceso) de una solución estandarizada, ácida y caliente; el exceso es determinado por titulación alcalina, usando como indicador naranja de metilo.

METODO(34)

Reactivos

- 0.05 M Ácido sulfúrico
- 0.1 M Hidróxido de sodio
- Indicador. Solución al 0.1 % de naranja de metilo en agua destilada
- Baño de vapor de agua

Procedimiento

Adicionar 10 ml de ácido sulfúrico 0.05 M a las cenizas de 20 ml de vino contenidos en disco de platino. Colocar el disco en el baño de vapor de agua por 15 minutos, rompiendo y agitando el residuo con un agitador de vidrio para acelerar la disolución. Adicionar dos gotas de naranja de metilo y titular el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio hasta el vire del indicador a color amarillo.

Resultados

La alcalinidad de las cenizas, expresado en miliequivalentes por litro a un lugar decimal, esta dado por :

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

Donde n ml es el volumen usado de hidróxido de sodio 0.1 M.

3.2.7 DETERMINACIÓN DEL EXTRACTO SECO TOTAL

FUNDAMENTO(38)

La definición de Extracto Seco Total ó la materia seca total, incluye cualquier tipo de materia dentro del vino, la cual no es volátil bajo condiciones físicas específicas. Estas condiciones deben ser en extremo meticulosas debido a que los compuestos que forman el extracto, se pierden a cada pequeña alteración factible mientras el análisis se este llevando a cabo. Además, el extracto libre de azúcares, es la diferencia entre el extracto seco total y los azúcares totales.

Existen dos métodos para determinar E.S.T, uno indirecto y otro directo, el primero debe realizar la medición del peso específico del vino libre de alcohol utilizando el densímetro, para posteriormente conocer el extracto seco total por medio de las tablas que relacionan el peso específico con los gramos de extracto por litro. El segundo, es el propuesto en la NOM-V-12-1986, donde se establece el método convencional de evaporación, hasta obtener masa constante.

Por otro lado, el extracto reducido es la diferencia entre el extracto seco total, y los azúcares totales en exceso de 1g/l, sulfato de potasio en exceso de 1g/l, trazas de manitol ó indicios de cualquier otra sustancia química, la cual pueda haber sido adicionado al vino.

El extracto residual, es el extracto libre de azúcar menos la acidéz corregida expresada como ácido Tartárico.

El extracto seco, es expresado en gramos por litro (g/l) y debe ser determinado dentro de un rango de lo mas cercano a 0.5 g.

* O.J.E.C. Total Dry Matter. p. 50-51.

MÉTODO(37)

Reactivos

- Agua destilada
- Desecante ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Material y equipo

- Cápsula de porcelana de 50 ó 100 ml
- Desecador
- Parrilla con regulador de temperatura ó lampara infrarroja
- Baño María con control de temperatura
- Balanza analítica
- Estufa de desecacion con regulador de temperatura
- Equipo y material de vidrio común de laboratorio

Procedimiento

A una temperatura de 20°C se toman 5-50 ml (en función del contenido de sólidos de la bebida) de la muestra, se transfiere a la cápsula la cual ya se debe encontrar a masa constante, se evapora a sequedad en el baño María, se lleva en la cápsula a la estufa a una temperatura de 95-100°C hasta lograr masa constante en 3 lecturas consecutivas; se deja enfriar en el desecador y se determina su masa.

Resultados

La cantidad de extracto seco se calcula con la siguiente formula :

$$\text{E.S.T.} = \frac{M_{\text{ex}} - M_{\text{v}}}{V} (1000000)$$

Donde :

M_{ex} = Masa de la cápsula mas el extracto en g

M_v = Masa de la cápsula vacía en g

V = Volumen de muestra empleada en ml

E.S.T. = Cantidad de extracto seco expresado en g/l .

MÉTODOS OPCIONALES(38)

Existe el método indirecto, el cual se lleva a cabo por medio de un densímetro.

El Extracto Seco Total del mosto, es calculado indirectamente a partir del peso específico del mosto y para el vino, a partir del peso específico del vino libre de alcohol.

Para el método indirecto, el extracto seco es expresado en términos de la cantidad de sacarosa, la cual, cuando es disuelta en agua y llevada al volumen de 1 l, se obtiene una solución del mismo peso específico que el de vino libre de alcohol con lo que se pueden elaborar las tablas de consulta.

Reactivos

- Agua destilada
- Mezcla alcohol-agua (ρ_a) del mismo grado alcohólico que la muestra.

Material y Equipo

- Probeta graduada de 1 l
- Densímetro

Procedimiento

Se determina el Peso Especifico del vino por densimetría. También se determinara para la mezcla hidro-alcoholica (ρ_a).

Una vez que se han obtenido los valores se les da el siguiente tratamiento matemático :

El peso específico del vino sin alcohol $^{20}/_{20}$ (dr) es calculado usando la siguiente formula:

Donde:
$$dr = dv - da + 1000$$

dv = peso específico del vino a 20 °C (corregido por acidez volátil). ($^{\circ}$)

da = peso específico a 20°C de una mezcla alcohol-agua de la misma graduación que el vino.

El Peso Especifico del vino (dr) podría ser calculado también a partir de densidades a 20 °C, de el vino ρv y de la mezcla alcohol-agua ρa de igual grado alcohólico, usando la siguiente formula :

$$dr = 1.0018 (\rho v - \rho a) + 1.000$$

donde el coeficiente 1.0018 se aproxima a 1 cuando ρv esta por debajo de 1.05 lo cual es lo común en estos casos.

Resultados

Para el cálculo del Extracto Seco en g/l a partir del Peso Especifico $^{20}/_{20}$ dr ó de vino sin alcohol ó del Peso Especifico del mosto 20°C/20°C, debe ser utilizada la tabla 3.7.A.

El Extracto seco esta expresado en g/l a un decimal.

* Antes de llevar a cabo el calculo, el peso específico (ó la densidad) del vino medido como por encima de las especificaciones debe ser corregido por el efecto de la acidez volátil usando la siguiente formula :
 $dv = d^{20^{\circ}C}/_{20^{\circ}C} - 0.0000086a$ ó $\rho v = \rho_{20} - 0.0000086a$
donde "a" es la acidez volatil expresada en miliequivalentes por litro.

Tabla 3.7.A para el calculo del contenido de Extracto Seco Total (g/l)

Tercer decimal en la medición de Peso Especifico										
P.E.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Gramos de extracto por litro									
1.00	0	2.6	5.1	7.7	10.3	12.9	15.4	18	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	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla de interpolación

4º decimal de P.E.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Gramos de Extracto / l	0.3	0.5	0.8	1.0	1.3	1.6	1.8	2.1	2.3

3.2.8 DETERMINACIÓN DE FURFURAL

FUNDAMENTO(40)

El furfural, también llamado 2-furan-carbonell ó 2 furaldehído, es un compuesto que se forma por la deshidratación de las pentosas en medio ácido y con calor. Su concentración varia de acuerdo al tipo de bebida, el tipo de destilación y las reacciones que presente durante su proceso de añejamiento. Sin embargo, no contribuye al sabor y aroma de las bebidas, por ser uno de los componentes de menor proporción en las bebidas destiladas.

En la determinación de este compuesto, es necesaria la utilización de las técnicas modernas de análisis instrumental, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en ingles), la espectrofotometría visible e infrarroja, e incluso la resonancia magnética nuclear (RMN). Dentro de estas técnicas la mas económica es la espectrofotometría en la región visible, ó colorimétrica, donde se determinan los aldehídos derivados del furano, principalmente el hidroximetilfurfural, los cuales forman un compuesto cromático al hacer reaccionar el furfural que contenga la bebida, con anilina en medio ácido, por un periodo de 20 min. a 20°C. La intensidad de la coloración rojo-cereza que se produce, es proporcional a la concentración de furfural presente en la muestra, la cual se mide en el espectro visible a 520 nm (determinación de absorbancia). Además, es factible determinar estos aldehídos por medio de otro compuesto cromático, el cual se forma al hacer reaccionar la muestra con ácido barbitúrico y paraditolueno, para posteriormente ser leído en el espectro visible a 550 nm. Por otro lado, se tiene que un acople de HPLC con un espectrofotometro que lea en la región infrarroja, podrian determinar el furfural a 280 nm con un notable ahorro de tiempo y calidad en el análisis.

MÉTODO(40)

Reactivos.

Los reactivos que se mencionan a continuación deben ser grado analítico cuando se hable de agua, debe ser “agua destilada”.

- Furfural (de preferencia recientemente destilado a $161 \pm 0.1^\circ\text{C}$ con $P=1.1594$ $n_D^{20^\circ\text{C}}=1.52603$).

- Anilina (recientemente destilada).
- Ácido Acético glacial ó ácido Clorhídrico concentrado.
- Alcohol etílico (con mas del 95% en Vol., libre de furfural).
- Alcohol etílico de 50% Vol., recientemente destilado y libre de furfural.
- Solución valorada de furfural. Se redestila el furfural, se recoge la fracción que destile a $161 \mp 0.1^{\circ}\text{C}$ y se corrige por presión atmosférica; se pesa exactamente 1g de furfural recientemente destilado y se diluye con alcohol etílico al 95% vol. aforando a 100 ml en un matraz volumétrico; de esta solución se toma 1 ml, se lleva a otro matraz volumétrico y se afora a 100 ml con alcohol etílico de 50% vol. . Esta es la solución valorada de furfural con una concentración de 100 mg/l.

Material y Equipo

- Equipo de destilación completa, con juntas esmeriladas (de 1000 ml de capacidad, de preferencia).
- Perlas de ebullición.
- Pinzas para montar el equipo de destilación.
- Parrilla de calentamiento.
- Matraces volumétricos de 50, 100, 500 ml.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5, 10 ml.
- Baño de agua (mantenerla a 20°C).
- Material común de laboratorio.
- Termómetro de inmersión -35°C a 50°C calibrado.
- Balanza analítica con sensibilidad de $\mp 0.0001\text{g}$.
- Espectrofotómetro, con capacidad de leer a 520 nm ó calorímetro con filtro verde.

Procedimiento.

Todas las bebidas a las que se aplique este método de prueba, deben llevarse a una temperatura de 20°C, para evitar la variación en dos pruebas de una misma muestra. Para llevar a cabo de la mejor manera la destilación de la muestra, consultar el método de prueba para la determinación del “ % Alc. Vol. a 20°C”.

Para la preparación de la curva de furfural, se preparan una serie de soluciones tipo, de 50 ml cada una a partir de la solución valorada de furfural y del alcohol a 50 % vol. que contengan 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg de furfural/l, se llevan al volumen con etanol a 50% vol. Se adiciona 1 ml de anilina a cada una de las soluciones tipo y 0.5 ml de ácido acético ó clorhídrico y se lleva la muestra a un baño a 20°C durante 30 min., al termino de los cuales se lee la absorbancia espectrofotometrica a 520 nm.

El tratamiento de la muestra se da como sigue; Se miden 10 ml de muestra destilada y se diluyen a 50 ml con etanol a 50% vol.. Se colocan en un matraz aforado de 50 ml y se procede a hacer la reacción ácida con anilina y la subsecuente lectura en el espectro fotómetro como se indica en la preparación de la curva.

Se realiza una grafica de las lecturas de la serie de estándares vs. concentración en mg/l de furfural de cada uno, trazar la curva, determinar su correlación lineal, si es menor del 97% repetir el proceso de preparación de soluciones tipo.

Resultados.

Los resultados se expresan en mg de furfural/l de alcohol anhidrido mediante la siguiente expresión:

$$F = \frac{5 \times F_1 \times 100}{\% \text{ Alc. Vol.}}$$

En donde:

F = mg furufural/l de alcohol base anhidra.

F₁ = Concentración de la muestra obtenida en gráfica.

5 = Factor de dilución.

% Alc. Vol. = Grado volumétrico de la muestra a 20°C.

Repetibilidad del método; Cuando se requieran mayor confiabilidad de los resultados, se repite la prueba tres veces a diferente concentración, los resultados no deben variar en más de 5%.

Las medidas de seguridad para la realización de este método de prueba son las siguientes; La muestra a la que se determina el contenido de furfural debe ser recientemente destilada obtenida de su volumen real medido a 20°C, de lo contrario se obtendrían valores bajos de furfural. En cuanto a los reactivos de la curva de calibración, deben ser recientemente destilados y libres de toda oxidación. si se destilan deben guardarse en frascos color ámbar perfectamente cerrados, protegidos de la luz y del calor. La solución de furfural concentrado es estable si se le conserva bien tapada en frasco ámbar y en refrigeración para usos posteriores.

Por otro lado, el analista debe ampliar el equipo de seguridad que se en el proceso de destilación de la muestra y los reactivos (lentes de seguridad y guantes de asbesto); Además para la preparación de las muestras (guantes de cirujano) e impedir el contacto con los reactivos tóxicos e irritantes, con la piel.

MÉTODOS OPCIONALES(41)

Como se ha mencionado, existe otra opción para los métodos espectrofotométricos, cuyo resultado se lee en la región visible a 550 nm y el cual se elabora de la siguiente manera :

Reactivos

- Ácido barbitúrico 0.5% solución (m/v). Disolver 500 mg de ácido barbitúrico $C_4O_3N_2H_4$, en agua destilada y calentar ligeramente sobre un baño a 100°C. Llevar a 100 ml con agua destilada. La solución se mantiene por al rededor de una semana.
- Solución al 10 % (m / v) paratoludieno. Colocar 10 g de paratoludieno, $C_6H_4(CH_3)NH_2$, en un matraz volumétrico de 100 ml.; agregar 50 ml de isopropanol, $CH_3CH(OH)CH_3$, y 10 ml. de ácido acético glacial, CH_3COOH ($\rho_{20} = 1.05 \text{ g / ml}$). Aforar a 100 ml con isopropanol. Esta solución debe ser renovada diariamente.

- Etanol (acetaldehído) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, solución acuosa al 1% (m / v). Preparar justo antes de usarse.
- Solución acuosa de hidroximetilfurfural, $\text{C}_6\text{O}_3\text{H}_6$, 1 g / l. Preparar soluciones sucesivas que contengan 5, 10, 20, 30 y 40 mg / l. Las disoluciones y el 1 g / l deben ser preparadas próximo al análisis.

Procedimiento

Preparación de la muestra. Use la solución obtenida por dilución del concentrado de mosto rectificado a 40% (m / v) como se describe en Acidez Total. Continúe la determinación con 2 ml de esta solución.

Las muestras con hidroximetilfurfural cuya concentración se encuentre por encima de los 30 mg / l debe ser diluida antes del análisis.

Para la curva de calibración coloque 2 ml de las diluciones de hidroximetilfurfural desde 5 a 40 mg / l en dos conjuntos (a y b) de matraces de 25 ml y trátelos como en la determinación de la muestra.

Dentro de cada uno de 2 matraces de 25 ml (a y b) equipados con tapón de fondo de vidrio, adicionar 2 ml de la muestra preparada. Agregar en cada matraz 5 ml de solución de paratoludieno; mezclar.

Adicionar 1 ml de agua destilada en el matraz b (control) y 1 ml de ácido barbitúrico al matraz a.

Agitar hasta homogeneizar. Transferir el contenido de los matraces a celdas espectrofotométricas con guías ópticas de 1 cm. El matraz b marcará de la escala usada el cero de absorbancia a una longitud de onda de 550 nm. Seguir la variación de absorbancia contra tiempo en el matraz a; Reportar el máximo valor de a, el cual es alcanzado después de dos a cinco minutos.

Resultados

La concentración de hidroximetilfurfural en mosto es expresada en mg / Kg de azúcares totales.

La concentración de hidroximetilfurfural (C mg / l) en la muestra a analizar es la concentración en la curva de calibración correspondiente a la absorbancia A medida en la muestra.

La concentración de hidroximetilfurfural en mg / Kg de azúcares totales esta dada por:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

Donde :

P = porcentaje masa de la concentración de azúcares totales en mosto concentrado rectificado.

No obstante los dos métodos anteriores existe también un método por (HPLC) por cromatografía de alta resolución acoplada a un espectrofotometro que mida a 280 nm.

3.2.9 DETERMINACIÓN DE METANOL(39)

FUNDAMENTO

La obtención de datos analíticos, que en la actualidad son necesarios para la vinificación y el tratamiento ulterior del vino, y prácticamente obligatorios (examen de calidad, concesión de premios ó castigos de compra, etc.), son casi siempre un trabajo para el laboratorio químico, es por ello que los análisis del vino, tal y como están prescritos por el examen legal de calidad (NOM), los deben de llevar a cabo laboratorios autorizados. El hecho de que en algunos casos concretos los datos analíticos permitan detectar adulteraciones ó falsificaciones, demuestra que son necesarios.

En los países en que los vinos son comercializados y valorados sobre todo por su contenido alcohólico, no es posible renunciar a los valores analíticos, aunque sea solo por razones de venta.

MÉTODO

Reactivos

Los reactivos deben ser de grado analítico; y por agua debe entenderse agua destilada.

- Disolución acuosa de ácido fosfórico 1:20
- Disolución acuosa de permanganato de potasio 1:20
- Disolución acuosa de bisulfito de sodio (NaHSO_3) 1:20
- Disolución de ácido cromotrópico. Disolver 50 mg de ácido cromotrópico ó de su sal de sodio en 100 ml de ácido sulfúrico al 75 %.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Bisulfito de sodio
- Disolución acuosa al 5 % de la sal sodica del ácido cromotrópico. Debe filtrarse si presenta turbiedad y preparase por lo menos cada semana.

- Disolución de permanganato de potasio en ácido fosfórico. Disolver 3 g de permanganato de potasio con 15 ml de ácido fosfórico en un matraz volumétrico de 100 ml, llevar al aforo con agua. Esta disolución se debe preparar por lo menos cada mes.
- Alcohol etílico bidestilado. Por destilación simple, eliminando el 15 % de cabezas en cada una de las destilaciones y recolectando el 50 %. Estas destilaciones deben efectuarse a una velocidad aproximada de 250 ml / 30 min.

Material y equipo

- Espectrofotometro.
- Matraz de destilación de 500 ml
- Refrigerante tipo Liebig de 40 a 60 cm de longitud con el extremo inferior terminado en tubo y con la punta cortada en bisel.
- Trampa de vapor.
- Matraces volumétricos de 50 ml
- Pipetas volumétricas de 1 y 2 ml.
- Termómetro graduado de 0 a 100°C (273 a 373 K).
- Baño María con regulador de temperatura.
- Baño de hielo.
- Equipo común de laboratorio.

Procedimiento

Preparación de la muestra. Cuando el extracto seco de la muestra exceda de 0.7 g/l ó esta (sic) presente coloración, destilar como se indica en el capítulo 3.4.

Diluir la muestra a una concentración de alcohol entre 5 y 6 % en volumen usar para la prueba.

Método cualitativo (Identificación del alcohol metílico). En un tubo de ensayo poner dos gotas de destilado, agregar una gota de disolución de ácido fosfórico (1:20) y una gota de disolución de

permanganato de potasio (1:20), mezclar cuidadosamente y dejar reposar la mezcla durante un minuto.

Agregar disolución acuosa de bisulfito de sodio (1:20), gota a gota, hasta que el color violeta del permanganato de potasio desaparezca. Si la mezcla toma coloración café agregar una disolución acuosa de ácido fosfórico (1:20), a la disolución incolora resultante, agregar 5 ml de disolución de ácido cromotrópico recientemente preparado y calentar la mezcla en baño María 60°C durante diez minutos.

En presencia de metanol se observa una coloración violeta, si la reacción cualitativa es positiva, procédase a cuantificar el metanol.

Método Cuantitativo. Poner 2 ml de la disolución de permanganato de potasio en ácido fosfórico en un matraz volumétrico de 50 ml, colocándolo en un baño de hielo, adicionar 1 ml de la muestra diluida y fría, y dejar reposar 30 min en el baño de hielo.

Decolorar con un poco de bisulfito de sodio, y agregar 1 ml de disolución de ácido cromotrópico al 5 %. Agregar lentamente, gota a gota, 15 ml de ácido sulfúrico concentrado, dejándolo escurrir por las paredes del matraz, agitando constantemente y colocarlo en baño maría entre 60 y 75°C durante 15 minutos. Enfriar y adicionar, con agitación, agua hasta un volumen próximo al aforo, enfriar a temperatura ambiente y llevar al aforo con agua, homogeneizar y reposar durante 5 minutos.

Preparar un blanco con alcohol etílico al 5.5% en volumen y una solución patrón conteniendo 0.025 % en volumen de metanol en alcohol etílico al 5.5 % en volumen; tratar de igual manera que la muestra diluida, leer la absorbancia de la solución patrón y de la muestra a 575 nm utilizando el blanco para el ajuste del espectrofotómetro.

Resultados

El contenido de metanol expresado en mg por 100 ml de alcohol anhidro, se calcula con la siguiente fórmula :

$$M = \frac{A}{A^*} \times 0.025 \times FD \times 0.790 \times \frac{100}{G.A.R.} \times 1000$$

en donde :

M = Metanol expresado en mg por 100 ml de alcohol anhidro.

A = Absorbancia de la muestra.

A* = Absorbancia de la dilucion patrón de metanol.

0.025 = % de metanol en la solución patrón.

$$FD = \frac{\text{Volúmen de la dilución}}{\text{Vol. de la muestra empleada en la dilucion}}$$

G.A.R. = Grado alcohólico real de la muestra a 15°C en la escala Gay Lussac, determinado de acuerdo con la NOM-V-13.

0.790 = Densidad del metanol expresado en g/ml.

3.6 = Densidad del metanol expresado en g/ml.

Repetibilidad del método. La diferencia entre dos resultados sucesivos, obtenidas en las mismas condiciones, no deben exceder de 5 % del promedio de los mismos. En caso contrario repetir las determinaciones.

Reproducibilidad del método. La diferencia entre dos determinaciones no debe exceder el 15 % del promedio de las mismas.

MÉTODOS OPCIONALES(39)

El método colorimétrico, se basa en la formación de un complejo colorido, el cual se cuantifica por medio de un espectrofotómetro. La parte alternativa corresponde al método de cromatografía de gases, el cual es una técnica de separación, usado para separar compuestos volátiles en la muestra. Por ejemplo, el vino (ó jugo, destilado, etc.) es inyectado a una cámara de evaporación donde los compuestos vaporizados son conducidos a través de un tubo, el cual esta empacado con una cama porosa de absorbente especializado, a través del cual fluye un gas inerte. El etanol y otros compuestos volátiles son evaporados y acarreados a través del tubo (conocido como la columna del cromatógrafo de gas) hasta el sensor electrónico que detecta la presencia de estos. A causa de las diferentes interacciones, entre los compuestos problema con el absorbente de la columna, existen también diferencias de tiempo de migración de compuestos problema, a través de la columna, y son separados por el tiempo que tardan en llegar a ser detectados. Para cuantificar algún compuesto es necesario preparar un estándar de concentración conocida, se inyecta dentro del GC, y se comparan las respuestas obtenidas con las de la muestra desconocida.

Reactivos

Los reactivos deberán ser de pureza adecuada; y por agua debe entenderse agua destilada ó desmineralizada.

- Alcohol etílico de alta pureza y libre de metanol.
- Disolución de metanol al 0.5% m/v (1g / 200 ml) en Alcohol Etílico de 40° G.L.
- Disolución de metanol al 0.1 % m/v poner 20 ml de disolución de metanol al 0.5 % en un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con alcohol etílico de 40° G.L.
- Disolución de Estándar Interno al 0.5% m/v (1g / 200 ml) en alcohol etílico de 40° G.L.
- Disolución de estándar interno 0.1% m/v. Poner 20 ml de disolución de estándar interno al 0.5% en un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con alcohol etílico de 40 G.L.

Se pueden usar múltiplos de estas cantidades conservando las mismas concentraciones.

El estándar interno puede ser N-Butanol, N-Hexanol, u otro alcohol que no se trasape con los componentes de la muestra.

Disoluciones de estándar interno y metanol para muestras que contengan 128 y 650 mg de metanol por 100 ml de alcohol anhidro (disoluciones de trabajo A, B,C,D Y E, para la curva de calibración).

Ver la siguiente tabla:

TABLA 1

Disolución	mg de std. 100 ml	mg metanol 100 ml	ml solución al 0.5 % de metanol	ml solución al 0.5 % de estándar	Relación metanol- estándar Cm/Ce
A	150	50	10	30	0.33
B	150	100	20	30	0.67
C	150	150	30	30	1.00
D	150	200	40	30	1.33
E	150	250	50	30	1.67
	1	2	3	4	5

En la tabla anterior las diluciones de las columnas 3 y 4 se refieren a ml de las soluciones al 0.05% de metanol y del estándar., que se deberán diluir a 100 ml en el mismo matraz con etanol de 40° G.L. para tener las concentraciones que se indican en las columnas 1 y 2 y la relación de concentraciones que se indican en la columna 5 que serán abscisas de la curva de calibración; Las ordenadas serán las relaciones de área del pico de metanol entre el área del pico del estándar.

Solución de muestra estandarizada (adicionado de estándar interno). En un matraz volumétrico de 100 ml, poner 30 ml de estándar interno y aforar con la muestra preparada.

En caso de bebidas que contengan menos de 128 mg de metanol por 100 ml de alcohol anhidro, elaborar una curva de calibración equivalente a las disoluciones de estándar interno, pero cambiando las concentraciones de metanol y estándar interno.

DISOLUCIÓN	mg STD. 100 ml	mg METANOL 100 ml	ml de disolución al .1%METANOL	ml de disolución al 0.1% de STD.	RELACIÓN METANOL- STD. Cm/Ce
A	3	1	1	3	0.33
B	3	2	2	3	0.67
C	3	3	3	3	1.00
D	3	4	4	3	1.33
E	3	5	5	3	1.67
F	8	4	4	8	0.5
G	8	6	6	8	0.75
H	8	8	8	8	1.00
I	8	10	10	8	1.25
J	8	12	12	8	1.50
K	30	10	10	30	0.33
L	30	20	20	30	0.67
M	30	30	30	30	1.00
N	30	40	40	30	1.33
O	30	50	50	30	1.67
Nº de tubo	1	2	3	4	5

En la tabla anterior las disoluciones de las columnas 3 y 4 se refieren a ml de las soluciones al 0.1 % de metanol y del std. interno que se deberán diluir a 100 ml en el mismo matraz con alcohol etílico de 40° G.L. para tener las concentraciones que se indican en las columnas 1 y 2.

Material y equipo

1. *Cromatógrafo de gases* equipado con detector de ionización de flama, siendo opcional el sistema dual por programador de temperatura, registrador integrador ó sistema de procesamiento de datos (computador).

Parámetros de operación recomendables. En cada caso deberán optimarse de acuerdo a la situación geográfica y al aparato, la temperatura de la columna isotérmica $150^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ó programada de : inicial 70°C de 0 a 4 minutos y aumentando lineal de $4 - 8^{\circ}\text{C}$ por minuto hasta llegar a 120°C , manteniendo esta temperatura constante.

- Temperatura del inyector. 150°C .
- Temperatura del detector. 200°C .
- Flujo del gas portador. 50 ml/min (aprox.).

Las condiciones de operación óptimas varían de acuerdo a la columna e instrumentos utilizados, los cuales son determinados por medio de soluciones estándares, y curvas del número de platos teóricos (N) contra velocidad lineal de gas ó flujo (optimización por ecuación de Van Deemter).

Los parámetros serán ajustados para obtener resolución óptima entre el metanol y el etanol de acuerdo con la siguiente ecuación :

$$R = \frac{2 \Delta T}{a_m + a_e}$$

R = Resolución.

ΔT = Diferencia de tiempos de retención.

a_m = Amplitud del pico en la base correspondiente al metanol.

a_e = Amplitud del pico en la base correspondiente al etanol.

NOTA: Las unidades de ΔT , a_m , a_e , deberán ser las mismas.

2. *Columnas*. Empacadas, especificaciones :

- Material: Inerte a la muestra (vidrio ó acero inoxidable).
- Longitud: 1.8 - 6.0 m

- Diámetro interno: 2 mm aproximadamente.
- Empaque: Apropriado para obtener resolución mayor ó igual a 1, entre el metanol y el etanol. Se recomienda entre otros el siguiente: fase fija ó liquido de partición; Polietilenglicol 1540 al 15 ó 20%.
- Soporte: Tierra de diátomeas blanca lavada con ácido y con tamaño de partícula entre las cribas M 0.180 y F 0.125 (80 - 120 ASTM).

Podrán ser empleadas otras columnas cuya resolución sea mayor o igual a uno entre el metanol y el etanol.

- Fase móvil : Nitrógeno, Helio, ó Argón, de alta pureza.
- Hidrógeno prepurificado.
- Aire seco prepurificado.
- Jeringa de 5-10 μ l
- Jeringa ó pipeta de 100-500 μ l

Procedimiento

Cuando el extracto seco de la muestra exceda de 5 g/l destilar como se indica en NOM-V-13. Se admite el uso de precolumna, en cuyo caso no se requiere destilar.

Inyectar en el cromatografo de 1 a 5 μ l de la solución de muestra estandarizada y de cada una de las soluciones estándar (A, B, C, etc. de la tabla que corresponda) para obtener los cromatogramas respectivos, haciendo las atenuaciones convenientes para obtener un buen cromatograma cuantitativo, verificando que la resolución entre el metanol y el etanol sea mayor ó igual a uno.

Resultados

Curva de calibración. Calculo y relaciones de áreas; Calcule el área correspondiente al metanol (A_m) y al estándar interno (A_e) en cada cromatograma de las soluciones estándar (A, B, C, etc.),

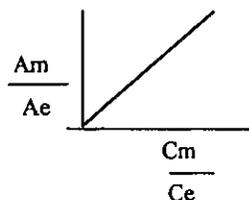
divida el área del metanol entre el área del estándar interno y con los valores obtenidos, trace la curva de relación de concentraciones contra relación de áreas (columna 5 de la tabla que corresponda).

A_m = Área del pico del metanol.

A_e = Área del pico del estándar

C_m = Concentración del metanol. .

C_e = Concentración del estándar.



Calcule las áreas del metanol y del estándar interno (C_e) agregado a la solución de muestra estandarizada podemos calcular la concentración de metanol en la muestra (C_m) con las siguientes fórmulas :

$$C_m = C_e \times R_g$$

En donde :

C_m = Metanol expresado en mg por 100 ml de muestra directa .

C_e = mg de estándar interno agregados a la solución de muestra estandarizada.

R_g = relación de C_m/C_e obtenida

en la curva de calibración.

$$M = \frac{100}{\text{G.A.R.}} \times C_m \times \text{FD}$$

En donde :

M = Grado alcohólico real de la muestra a 15 °C en la escala Gay Lussac, determinado de acuerdo con la NOM-V-13.

FD = Volumen total de la muestra estandarizada / Volumen de la muestra diluida en la estandarización.

Los cálculos anteriores pueden hacerse utilizando alturas de picos en lugar de áreas.

Repetibilidad del método. La diferencia entre dos resultados sucesivos, obtenidos en las mismas condiciones, no deben exceder el 5% del promedio de los mismos. En caso contrario repetir las determinaciones.

Reproducibilidad del método. La diferencia entre dos determinaciones no deberá exceder del 15 % del promedio de las mismas.

La diferencia entre las dos determinaciones no debe exceder del 15 % del promedio de las mismas, para concentraciones mayores de 50 mg de metanol por 100 ml de alcohol anhidro. En caso de concentraciones menores, la diferencia podrá ser mayor debido a la alta sensibilidad del método cromatografico.

3.2.10 DETERMINACIÓN DE BIÓXIDO DE AZUFRE TOTAL

FUNDAMENTO(16)

El **bióxido de azufre total**, esta definido como la sumatoria de los diferentes estados del SO₂ presente en vino, tanto en estado libre, como combinado con los constituyentes de este.

Una de las propiedades mas interesantes del SO₂ es oponerse mas al desarrollo de las bacterias que al de las levaduras, realizando una verdadera selección, aunque, las sulfitaciones abundantes del mosto efectúan a menudo también una selección de especies de levadura, nefasta para vinificación de vinos licorosos, eso sin contar con la amenaza de conservación de los vinos. Es por ello que la legislación internacional lo considera y Chile por ejemplo tiene su limite máximo permitido de SO₂ TOTAL para producto terminado en 300 mg/l, y de 75 mg/l en su estado *Libre*, y tratándose de vinos dulces el rango se eleva hasta 400 y 100 mg/l respectivamente.(42)

Para su valoración existen, el método rápido basado en la valoración directa por yodo, y un método potenciométrico preciso muy útil sobre todo en la valoración de vinos coloridos.

Por otro lado, el SO₂ libre también es determinado por titulación iodométrica directa; Subsecuentemente el SO₂ combinado también se determina por titulación iodométrica, previa hidrólisis alcalina. Además, cuando se suma este al primero, obtenemos el valor del SO₂ total.

MÉTODO(43)

Reactivos

Los reactivos que se mencionan a continuación deben ser grado analítico, cuando se mencione agua debe ser destilada.

- HCl concentrado.
- Disolución de iodo 0.05N
- Disolución de almidón al 2%
- BaCl₂·2H₂O

Material y equipo

- Matraz de tres bocas
- Embudo de separación
- Condensador
- Bureta
- Equipo y material común de laboratorio

Procedimiento

En un matraz de tres bocas se colocan 200 ml de agua, se calienta a ebullición. A través de un embudo de separación, se adicionan 25 ó 50 ml de la muestra y 20 ml de ácido clorhídrico. Calentar a ebullición lo mas rápidamente posible. El destilado se hace pasar por un condensador eficiente y se recoge en agua que contiene una o dos gotas de disolución 0.05N de iodo y unas gotas de almidón. La recolección de la muestra se hace por medio de un adaptador. La disolución de iodo se adiciona por medio de una bureta a medida que la destilación continua hasta que el color azul persista.

Generalmente el bióxido de azufre se desprende en unos 5 minutos, pero el punto final se toma cuando el color azul debido a la adición de 0.1 ml de la disolución de iodo 0.05N persista durante un minuto.

Cada ml de la disolución 0.05N de iodo equivale a 0.0016 g de SO_2 . Para confirmar que el destilado ya no contiene bióxido de azufre, la disolución que queda después de la titulación puede acidificarse con ácido clorhídrico y dejar en ebullición hasta poco volumen, entonces el ácido sulfúrico se precipita agregando cloruro de bario y se pesa como sulfato.

En este caso se prepara un blanco con los reactivos y si precipita sulfato de bario restarlo del valor obtenido de sulfatos.

Resultados

El contenido de bióxido de azufre total se calcula de la siguiente forma:

$$\text{SO}_2 \text{ total, mg/l} = \frac{M \times 32 \times 0.05 \times 1000}{V}$$

En donde:

M = Volumen de la disolución de iodo 0.5 N, en ml

V = Volumen de la muestra tomada, en ml.

MÉTODOS OPCIONALES

FUNDAMENTO

El bióxido de azufre libre está definido, como el SO_2 presente en el mosto ó el vino de la siguiente manera: H_2SO_3 , HSO_3^- .

El equilibrio entre estos compuestos es función del pH y la temperatura.



El H_2SO_3 representa el estado molecular del SO_2 .

En todo vino existe un equilibrio entre el sulfuroso libre y el combinado, de modo que todo aumento (por adición) o toda disminución (por oxidación) del sulfuroso libre, lleva consigo una variación del combinado, en el mismo sentido. El estado de este equilibrio depende mucho de la temperatura, que influye en la misma forma en el momento de analizar el anhídrido de azufre en una muestra.

El anhídrido sulfuroso ó bióxido de azufre, ha sido siempre usado para la limpieza y conservación de los toneles utilizados, también se añade directamente al vino para protegerlo contra las alteraciones, debido a su poder antiséptico y antioxidante; Por otro lado, el gas sulfuroso adicionado a los vinos se combina, en horas ó días, con el aldehído etílico, los azúcares, el

acetilmetilcarbinol, los polifenoles, la materia colorante en especial, y en éste estado no es directamente oxidable por el yodo. Aún cuando la cantidad adicionada de anhídrido sulfuroso sea la adecuada, una parte de él queda en estado *libre*, lo cual no quiere decir en su forma ácida (H_2SO_3 ó SO_2), sino como anión HSO_3^- , en equilibrio con una pequeña cantidad de SO_2 . Es por lo anterior que debe verificarse el contenido de este compuesto.

MÉTODO

Reactivos

- Solución valorada de yodo 0.05N

Material y equipo

- Potenciometro de calomel / Pt
- Bureta de 50 ml
- Vaso de precipitados de 250 ml
- Agitador magnético
- Material común de laboratorio.

Procedimiento

El método potenciométrico se puede utilizar para determinar el momento en que existe un pequeño exceso de yodo libre en el vino, después de oxidar completamente el SO_2 libre. Se introducen en un recipiente con 50 ml de vino acidificado un electrodo de platino y otro de calomel que hace contacto con el líquido, directamente o mediante un puente salino. Se mide de forma continua la diferencia de potencial entre los dos electrodos, mientras se añade solución valorada de yodo, mientras trabaja el agitador magnético.

* 16, p 310.

En cuanto se ha oxidado todo el SO₂ libre y existe un pequeño exceso de yodo en el vino, el potencial aumenta bruscamente, lo que suspende la adición de yodo.

Resultados

El calculo es similar al del SO₂ TOTAL;

$$\text{SO}_2 \text{ total, mg / l} = \frac{M \times 0.0016 \times 100}{V}$$

En donde:

M = Volumen de la disolución de iodo 0.5 N, en ml.

V = Volumen de la muestra tomada, en ml.

3.2.11 DETERMINACIÓN DE ALCOHOLES SUPERIORES.

(Aceite de Fusel) (40)

FUNDAMENTO

Este método sólo determina los alcoholes superiores de cuatro carbonos en adelante, es decir superiores al Propílico, ya que parte de éste se pierde como propileno durante la preparación de la muestra, además de su baja sensibilidad por el p-dimetilamino benzaldehído.

El método se basa en la coloración producida cuando se somete a los alcoholes superiores al calor y a la presencia de ácido sulfúrico concentrado, la reacción se sensibiliza más con la adición de aldehídos aromáticos. La absorbancia del compuesto colorido producido se lee en el espectrofotómetro entre 538 y 543 nm.

Los alcoholes superiores son compuestos orgánicos con mas de dos átomos de carbono y uno o mas grupos hidóxilos.

Los principales alcoholes superiores del vino son : Propanol-1, metil-2 propanol-1, feniletil alcohol, alcohol isobutilico: metil-2,propanil y los alcoholes amilicos : mezcla de metil 3- butnol-1 y metil3-butaniil 1. (A la mezcla de estos tres alcoholes se le llama aceite de fusel).

La formación de estos alcoholes se atribuye a los azúcares de las bebidas a través de los cuales se sintetizan los aminoácidos.

MÉTODO

Reactivos.

Los reactivos deben ser de grado analítico y por agua debe entenderse "agua destilada".

- Ácido sulfúrico concentrado.
- Alcohol isobutilico.
- Alcohol isoamilico.

- Solución de p-dimetilamino benzaldehído; Disolver 1g de la sal de p-dimetilamino benzaldehído en una mezcla de 5 ml de ácido sulfúrico y 40 ml de agua, contenida en un matraz volumétrico de 100 ml, llevar a volumen con agua y homogeneizar.
- Alcohol etílico bidestilado; Por destilación simple, eliminando el 15 % de cabezas en cada una de las destilaciones y recolectando el 50 %. Estas destilaciones deben efectuarse a una velocidad aproximada de 250 ml/ 30 min.
- Solución patrón de aceite de Fusel al 0.1 masa/volumen; Transferir 2 g de alcohol isobutilico y 8 g de alcohol isoamilico a un matraz volumétrico de 1000 ml, llevar al volumen con agua y homogeneizar. Tomar de la solución anterior una alícuota de 10 ml y transferirla a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar al volumen con agua y homogeneizar.

Preparar con alcohol etílico bidestilado una disolución de grado alcohólico igual al que se espera tener en la muestra cuando es pasada al tubo de análisis.

Soluciones tipo para la curva de calibración; preparar seis soluciones tipo, conteniendo de 1 a 6 mg de aceite de Fusel/100 ml, poniendo en matraces volumétricos de 100 ml, alícuotas de 1 a 6 ml de solución patrón de aceite de Fusel y llevar al aforo con la solución de grado alcohólico igual al que se espera tener en la muestra cuando esta es pasada al tubo de análisis. Para comprobar la solución patrón sintética de aceite de Fusel, simultáneamente preparar un testigo con 6 ml de solución patrón de aceite de Fusel, en un matraz volumétrico de 100 ml, llevar al aforo con alcohol etílico bidestilado al 95 %Vol.. Tratando este testigo como a la muestra problema debe dar una absorbancia de 0.83 ± 0.03 a una longitud de onda de 530 nm, de lo contrario preparar nuevamente la disolución patrón de aceite de Fusel.

Material y Equipo.

- Aparato de destilación como se indica en el método de prueba para la determinación del %Alc. Vol. a 20°C.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g
- Espectrofotómetro.

Procedimiento.

Curva de calibración. Soluciones tipo. Preparar seis soluciones tipo, conteniendo de 1 a 6 mg de aceite de fusel por 100 ml; Agregar en matraces volumétricos de 100 ml alícuotas de 1 a 6 ml de la solución patrón de aceite de fusel y llevar al aforo con la solución de grado alcohólico igual al que se espera tener en la muestra cuando esta es pasada al tubo de análisis.

Para comprobar la solución patrón de aceite de fusel sintética, simultáneamente preparar un testigo con 6 ml de solución patrón de aceite de fusel, en un matraz volumétrico de 100 ml llevar al aforo con alcohol etílico bidestilado al 95% vol. tratando este testigo como se describe en el "tratamiento de la muestra", debe dar una absorbancia de 0.83 ± 0.03 a una longitud de onda de 530 nm, de lo contrario preparar nuevamente la disolución patrón de aceite de fusel.

Preparación de la muestra. En un matraz volumétrico de 100 ml colocar directamente un volumen conocido de muestra, debido a su bajo contenido de alcoholes superiores, llevar al aforo con agua, homogeneizar y proceder al "tratamiento de la muestra".

Tratamiento de la muestra. En una serie de tubos de ensayo poner 2 ml de la muestra, 2 ml de cada una de las soluciones tipo preparadas y 2 ml de la disolución testigo y en otro tubo poner 2 ml de agua como blanco.

Los tubos se colocan en un baño de hielo, agregarles 1 ml de solución de p-dimetilaminobenzaldehído, dejarlos en el baño de hielo durante 3 minutos. Adicionar a cada tubo lentamente gota a gota por medio de una bureta de 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, dejándolo escurrir por las paredes del tubo, agitar los tubo individualmente, colocarlos nuevamente en el baño de hielo durante 3 minutos y pasarlos a un baño de agua en ebullición durante 20 minutos; Colocarlos después en el baño de hielo entre 3-5 minutos, sacarlos y llevarlos a temperatura ambiente.

Leer la absorbancia de los tipos y las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda entre 538 - 543 nm contra el blanco usado como referencia. Usar la misma longitud de onda para soluciones tipo y soluciones problema.

Con los datos obtenidos, construir en papel milimétrico la curva de calibración, colocando en las abscisas las concentraciones de las soluciones tipo de aceite de fusel y en las ordenadas la absorbancia de las mismas.

Es importante hacer la medición de volúmenes de muestras, siempre en 20 °C a fin de evitar el error por volumen en dos pruebas de una misma muestra.

Debe emplearse el equipo de seguridad necesario y adecuado, lentes de seguridad y guantes para el manejo de sustancias tóxicas.

Resultados

El contenido de alcoholes superiores (aceite de fusel), expresado en mg / ml de alcohol anhidro, se calcula con la siguiente fórmula :

$$A.S. = \frac{P \times FD \times 100}{\% \text{ Alc. Vol.}}$$

En donde :

A.S. = Alcoholes superiores (aceite de fusel) en mg / 100 ml de alcohol anhidro. Superiores al propílico.

P = mg de aceite de fusel / 100 ml de muestra, calculados a partir de la curva de calibración.

$$FD = \frac{\text{Volumen total de la dilación}}{\text{Volumen de la muestra empleada en la dilación}}$$

% Alc. Vol. = Grado alcohólico real de la muestra a 20 °C (293 K) en porcino de alcohol en volumen.

Repetibilidad. La diferencia entre dos resultados sucesivos, obtenidos en las mismas condiciones, no debe de exceder del 5 % del promedio de los mismos. En caso contrario, repetir las determinaciones.

Reproducibilidad. La diferencia entre dos determinaciones no debe exceder del 15 % del promedio de las mismas.

MÉTODOS OPCIONALES

En la actualidad, el análisis instrumental permite este análisis, por el método cromatográfico (Cromatografía de gases).

FUNDAMENTO

Este método, se basa en los principios de la cromatografía de gases y consiste en la inyección de una pequeña cantidad de la muestra (constituida por una mezcla de sustancias volátiles) en el inyector de un cromatógrafo de gases, en el que son vaporizadas y transportadas por un gas inerte a través de una columna, empacada o capilar, con un líquido de partición que presenta solubilidad selectiva con los componentes de la muestra, ocasionando su separación .

La identificación de cada componente registrado como un pico en el cromatograma, se realiza por inyección del o de los componentes que se sospecha contiene la muestra en forma pura y en las mismas condiciones que la muestra, midiendo el tiempo de retención en esas condiciones. También se puede comprobar por adición del componente a la muestra e inyectándola nuevamente para apreciar el incremento de altura o área del pico correspondiente.

La cuantificación se puede efectuar por cualquiera de estos 3 métodos; normalización, estandarización externa y estandarización interna, siendo este último el que se describe a continuación :

La cuantificación por estandarización interna, consiste en obtener el cromatograma de la muestra estandarizada, o sea adicionada de una sustancia llamada estándar interno que deberá aparecer en un sitio del cromatograma, libre de traslapes y desde luego no deberá ser componente de la muestra, aunque es recomendable que sea de la misma naturaleza química y del mismo rango de concentración que el componente de la muestra por cuantificar. Deberán obtenerse cromatogramas paralelos con soluciones de concentración conocida de cada componente por cuantificar y del estándar interno que sea el adecuado al tipo de muestra (2 Pentanol, n-Butanol, Hexanol ó sec-butyl-acetato) y trazar una curva de calibración que tenga por ordenadas la relación de

concentraciones correspondientes al componente por cuantificar y al estándar interno. Esta curva servirá para situar en sus ordenadas, la relación de áreas correspondientes al componente por cuantificar y al estándar interno del cromatograma de la muestra estandarizada y así ubicar la relación correspondiente de concentraciones.

MÉTODO

Reactivos

Los reactivos deberán ser de pureza cromatográfica y por lo menos de 99.0 % (de no ser así, calcular cromatográficamente su pureza real y efectuar las correcciones necesarias para tener valores de calibración verdaderos en la tabla de calibración para cada componente del estándar) y deberá emplearse agua destilada ó desmineralizada.

- Acetaldehído; Por la naturaleza volátil de este compuesto se recomienda usar una ampolleta sellada de 5 ml
- Metanol
- 2-Butanol
- n-Propanol
- iso-Butanol
- iso-Amilico (3 metil 1-butanol)
- 1-Pentanol
- Acetato de etilo
- Alcohol etílico de alta pureza y libre de impurezas, (redistilado y verificado por cromatograma de gases, antes de usarlo).
- Solución de alcohol etílico de alta pureza de 40 % Alc. Vol.

Considerar el estándar interno apropiado con una pureza mayor al 99.0% (puede ser n-Butanol, 2-Pentanol, sec-Butilacetato, Hexanol)

Material y equipo

- Matraces y pipetas volumétricos de diferentes capacidades clase A ó calibrados
- Material común de laboratorio
- Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de flama, con sistema de inyección capilar ó empacada
- Columna para sistema capilar; de sílica fundida DB-WWAX de 60 m de longitud de 0.25 micras de espesor de película y 0.25 mm de diámetro interno o columna equivalente. Inserto para columna capilar, de acuerdo a la marca y modelo del cromatógrafo, empacado con 10% de OV-101/Chromosorb WHP 100/120 mallas.
- Columna para sistema de empacado; Columna de vidrio de 2.0 m de longitud y 2 mm de diámetro interno y 6 mm de diámetro externo con configuración de acuerdo a la marca y modelo del cromatógrafo y empacada con carbopack B sobre 5 % Carbobax 20 M, 80-120 mallas. Esta columna solo deberá tener tratamiento con ácido fluorhídrico para el vidrio ó columna equivalente. Inserto de vidrio para columna empacada.
- Jeringa Hamilton de 10 microlitros.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g
- Baño de agua a temperatura constante

GASES PARA EL CROMATÓGRAFO :

- Nitrógeno de alta pureza
- Nitrógeno prepurificado Aire extraseco

Procedimiento

Preparación de estándares. CONCENTRADO. Para preparar el estándar concentrado se puede optar por dos procedimientos:

Preparar los estándares de los componentes en forma individual ó prepara un estándar concentrado que contenga todos los componentes a analizar.

Los estándares deberán prepararse para obtener las concentraciones aproximadas a las establecidas en la siguiente tabla.

TABLA DE DISOLUCIONES N° 1		
N°	COMPONENTE	Concentración en g/100 ml de disolución de alcohol al 40 % Alc. Vol.
1	Acetaldehído	0.16
2	Metanol	1.20
3	s-Butanol	0.20
4	n-Propanol	0.60
5	i-Butanil	0.60
6	n-Butanol	0.20
7	i-Amílico	0.60
8	n-Amílico	0.60
9	Estándar interno	0.60
10	Acetato de etilo	0.30

Preparación de estándares. ACETALDEHÍDO. En un matraz volumétrico de 100 ml llenar aproximadamente la mitad con etanol al 40 % Alc. Vol., taponar el matraz y pesarlo, anotar el peso. En una campana de extracción, medir 5 ml de acetaldehído ó transferir el contenido de la ampollita sellada de 5 ml, taponar el matraz y pesarlo nuevamente anotando el peso, llevar al volumen con la solución de etanol al 40 % Alc. Vol. y homogeneizar. Colocar el matraz volumétrico en el baño de agua a temperatura constante a 20 °C por 30 min. Remover y ajustar el aforo nuevamente. Esta solución se guarda en congelación y deberá verificarse antes de volver a usarla.

Para la medición del acetaldehído debe refrigerarse la pipeta antes de la medición y el reactivo llevarse a 20 °C, a fin de que pueda medirse a esta temperatura sin proyectarse (dada su temperatura de ebullición de 29 °C).

La concentración de acetaldehído en el estándar se calcula de la siguiente manera :

$$\text{Concentración de acetaldehído en g / 100 ml} = P_1 - P_2$$

En donde :

P_1 = peso del matraz con etanol al 40 % y acetaldehído.

P_2 = peso del matraz con etanol al 40 %.

En caso de efectuarse por volumen hacer el ajuste a peso tomando en cuenta la densidad del compuesto.

Preparación de estándares. INTERNO. En este caso se ejemplificara la preparación de 2-Pentanol.

Si se opta por preparar las soluciones en forma individual :

En un matraz volumétrico de 100 ml medir a 20 °C 2.0 ml de 2-Pentanol y llevar al volumen a 20 °C con etanol al 40 % Alc.Vol..

En otro matraz volumétrico de 100 ml medir a 20 °C 36 ml de la solución anterior y llevar al volumen a 20 °C. En esta solución estándar se tiene una concentración aproximada de 0.5977 g / 100 ml.

Si se opta por preparar el estándar concentrado, el estándar interno deberá adicionarse al matraz que contiene a todos los componentes.

Se pueden preparar múltiplos y diluciones de acuerdo a las concentraciones que se espera encontrar en las muestras por analizar.

Preparando los estándares de acuerdo a las concentraciones recomendadas en la tabla N° 1 se obtienen las concentraciones aproximadas en mg / ml, las cuales se indican en la tabla N° 2.

TABLA N° 2										
ml STD. CONC.	STD. INTERNO	ACETAL DEHIDO	META-NOI.	s-BUOH	n-PROH	I-BUOH	n-BUOH	I-AMILICO	n-AMILICO	ACETAT ETILO
1	30.00	1.6	12	2	6	6	2	6	6	3
2	30.00	3.2	24	4	12	12	4	12	12	6
3	30.00	4.8	36	6	18	18	6	18	18	9
4	30.00	6.4	48	8	24	24	8	24	24	12
5	30.00	8.0	60	10	30	30	10	30	30	15
6	30.00	9.6	72	12	36	36	12	36	36	18
7	30.00	11.2	84	14	42	42	14	42	42	21
8	30.00	12.8	96	16	48	48	16	48	48	24
9	30.00	14.4	108	18	54	54	18	54	54	27
10	30.00	16.0	120	20	60	60	20	60	60	30

Preparación de estándares. DE CALIBRACIÓN. Para preparar el ó los estándares de calibración medir a 20 °C en un matraz volumétrico de 100 ml las cantidades necesarias para obtener las concentraciones aproximadas establecidas en la tabla N° 3 y llevar al volumen con etanol al 40 % Alc. Vol. Estas soluciones deben guardarse bien tapas en refrigeración.

La concentración del estándar de calibración dependerá de la concentración que se espera determinar en la muestra por analizar deberá ser lo mas aproximada a ésta.

Las condiciones de operación varían de acuerdo a la columna e instrumentos utilizados y deberán ser optimizados por cada laboratorio, los cuales son determinados por medio de soluciones estándares, y curvas de número de platos teóricos (N) contra velocidad lineal del flujo del gas, los parámetros serán ajustados para obtener la resolución optima de todos los componentes de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$R = \frac{2 Dt}{ac + cs}$$

En donde :

R = Resolución

Dt = Diferencia de tiempos de retención

ac = Amplitud del pico en la base correspondiente al componente por cuantificar

cs = Amplitud del pico en la base correspondiente al componente mas cercano

NOTA : Las unidades de Dt, ac y cs deberán ser las mismas.

TABLA N° 3 mg DE COMPONENTE EN 100 ml DE ALCOHOL ANHÍDRO											
ml STD. CONC.	STD. INTERNO	ACETAL DEHIDO	META NOL	s-BUOH	n-PROH	i-BUOH	n-BUOH	i-AMI-LICO	n-AMI-LICO	ACETAT ETILO	
1	75.00	4	30	5	15	15	5	15	15	7.5	
2	75.00	8	60	10	30	30	10	30	30	15.0	
3	75.00	12	90	15	45	45	15	45	45	22.5	
4	75.00	16	120	20	60	60	20	60	60	30.0	
5	75.00	20	150	25	75	75	25	75	75	37.5	
6	75.00	24	180	30	90	90	30	90	90	45.0	
7	75.00	28	210	35	105	105	35	105	105	52.5	
8	75.00	32	240	40	120	120	40	120	120	60.0	
9	75.00	36	270	45	135	135	45	135	135	67.5	
10	75.00	40	300	50	150	150	50	150	150	75.0	

Preparación de la muestra. A todas las muestras deberá determinarse el %Alc.Vol. a 20 °C.

Cuando el extracto seco de la muestra excede de 5 g/l destilar como se indica en el método para determinar %Alc.Vol. a 20 °C, se admite el uso de una precolumna o inserto en cuyo caso no se requiere destilar.

Para tener resultados confiables es conveniente preparar las muestras a volúmenes exactos (en matraces volumétricos) y a temperatura de 20 °C, adicionando la misma concentración de estándar interno que fue agregado al estándar de calibración, tomando en cuenta que en el cromatograma el

pico del estándar interno deberá tener una altura mínima del 50 % de la escala y esta señal no deberá saturar la escala.

Inyectar al cromatógrafo la cantidad adecuada de estándar ó estándares para obtener los cromatogramas respectivos. Enseguida inyectar al cromatógrafo la cantidad adecuada de muestra para obtener el cromatograma correspondiente.

Resultados

Los resultados se expresan en mg / 100 ml de alcohol anhidro.

Cálculos :

Calcule el área correspondiente al componente "i"(Aib) y al estándar interno (Ae) en cada cromatograma de acuerdo a la tabla N°3 dividiendo el área del componente "i"entre el área del estándar interno y con los valores obtenidos, trace la curva de relación de concentraciones contra la relación de áreas que corresponden a las concentraciones esperadas.

Aib = Área del pico del componente en el estándar de calibración.

Ae = Área del pico del estándar interno en el estándar de calibración.

Cib = concentración del componente "i"en el estándar de calibración.

Ce = Concentración del estándar interno en el estándar de calibración.

Calcular las áreas del componente "i"y del estándar interno en el cromatograma de la muestra estandarizada y obtener el valor del Aib/Ae con el cual se localiza en la curva de calibración el valor Cib/Ce.

Con el valor de Cib/Ce obtenido para la muestra en la curva de calibración y conociendo la cantidad de estándar interno (Ce) agregado a la solución de muestra estandarizada podemos calcular la concentración del componente "i"en la muestra Cib con la siguiente formula :

$$Cib = Ce \times Rg$$

En donde :

Cib = componente "i" expresado en mg/100 ml de muestra directa

Ce = mg de estándar interno agregados a la solución de muestra estandarizada

Rg = Relación de Cib / Ce obtenida en la curva de calibración

$$IB = \frac{Cib \times Fd \times 100}{\% Alc.Vol.}$$

En donde :

IB = componente "i" expresado en mg / 100 ml de alcohol anhidro

%Alc.Vol. = Por ciento de alcohol en volumen a 20 °C

$$Fd = \text{Factor de dilución} = \frac{\text{Volumen total de la muestra estandarizada}}{\text{Volumen de la muestra diluida en la estandarizacion}}$$

Los cálculos anteriores pueden hacerse utilizando alturas de picos en lugar de áreas.

NOTA.- Es importante hacer la medición de volúmenes siempre a 20 °C a fin de evitar el error por volumen en dos pruebas de una misma muestra. Así como la diferencia entre dos determinaciones no deberá exceder el 5 %.

3.3 ETIQUETADO

Dentro de los aspectos fundamentales que debe cubrir la legislación nacional en el ámbito enológico, se encuentran el de proteger la salud pública, prevenir el fraude, proteger los derechos de la industria y prevenir la competencia desleal(46); Todo lo anterior se fomenta, desde el momento en que se establecen y se llevan a cabo las reglas de etiquetado para bebidas alcohólicas.

No obstante lo anterior, los VINOS deben tener una reglamentación específica para su etiquetado, debido a que éste informa sobre las cualidades (origen, grado alcohólico, cantidad neta) y virtudes (tipo de cepa, técnica enológica utilizada, tipo de vino) del vino en referencia, esta información además, está investida de una importancia coyuntural, ya que la información obtenida entre líneas, es crucial en el momento de la adquisición de este producto, por lo tanto el cumplimiento de este ordenamiento, es obligado a ser vigilado por un organismo oficial, el cual tenga la facultad de extender certificados de Denominación de Origen, como en el caso del tequila por ejemplo, y que además supervise la adecuada aplicación de esta norma, desde luego, sin perder de vista los lineamientos básicos para etiquetado que establecen que la información en la etiqueta sea clara y precisa, ya que la consideración principal para cualquier regla de etiquetado en alimentos, debe ser la necesidad de orientar y proteger al consumidor, para que así forme una acertada opinión de los productos a su alcance, y compare éstos incluso con los de importación, sin que nadie vea mermado su mercado, sino por el contrario, amplíen éste en función de las bondades de sus vinos, por medio de una competencia honesta y en favor del consumidor y productor.

Actualmente, la Norma Oficial Mexicana vigente para bebidas alcohólicas NOM-V-12-1986 solo contempla ciertos puntos del etiquetado de manera endeble. Al revisar la Norma Oficial Mexicana para bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. NOM-142-SSA1-1995 y compararla con reglas para Etiquetado que actualmente están vigentes en la Comunidad Europea, resulta necesario pensar en actualizar y equiparar las reglas de etiquetado, para hacer más fluido y seguro el proceso comercial con estos países, quienes son grandes consumidores de estos caldos.

Aunque en principio aparentan estas normas, la nacional y la europea(47,48,49,50), requerir los mismos datos en la etiqueta, la Comunidad Europea utiliza una clasificación de vinos peculiar y

homogénea, lo que junto con sus reglas de etiquetado, le permite al consumidor ser fácilmente selectivo, en función del tipo de vino que desee.

La legislación europea clasifica varios tipos de vino en subclases específicas, las cuales son determinadas por, los métodos de producción utilizados, el origen del vino, etc.; En primer lugar, el vino del mundo se divide en dos clases (51):

CLASE 1	Vinos producidos en países de la C.E.E
CLASE 2	Vinos producidos en países fuera de este grupo

Los vinos de la C.E.E. son clasificados a su vez en dos subclases, vinos de mesa y vinos psr, que establecerán los diferentes requerimientos de etiquetado para cada tipo de vino, según la clasificación a la que corresponda.

VINOS DE MESA.	Son aquellos vinos que cumplen con la definición internacional de vino, instaurada en la NOM actual.
VINOS psr.	Vinos que tienen un certificado por Denominación de Origen, que en ingles significa Produce in Specific Region

Lo anterior ayuda a distinguir las clases de vino a primera vista, debido a que esta clasificación determina, además, el tipo de botella en la cual deba ser envasado, las cuales son tan peculiares y distintas entre sí, que precisan sus cualidades y virtudes.

Todo esto, muestra el desarrollo de una tipificación del vino, que permite al consumidor no solo distinguir las regiones de las que provienen estos caldos, también las diferentes calidades de éste y de forma prácticamente instantánea .

Con respecto a los vinos europeos de calidad excelsa, es necesario mencionar que para otorgar una Denominación de Origen, se realiza un estudio analítico, periódico, a cada generación de vinos y a cada región vitivinicultora, lo que les permite a los europeos tener una base de datos, sobre la cual establecer un rango en el que las características del vino, de diferentes regiones, cepas, y épocas, puedan oscilar.

métodos internacionales para medir estas, con el fin de actualizar y modernizar nuestros sistemas de control. A continuación presento dicha disección en dos cortes:

El origen. Cuando en una mesa consultiva es solicitado un cambio sustancial en los métodos de prueba aplicables, ya sea para actualizar ó para hacer mas sensible el método, surge el fantasma de la austeridad económica, personalizado por los representantes de la industria quienes tratando de aterrorizar a los presentes, argumentan los altísimos costos que para sus empresas representa el modernizar sus viejos laboratorios de control de calidad sin pensar en lo que significan estos cambios para los mexicanos como nación, sin embargo, tratan de acordar el siguiente punto y concluir la junta; Lo mismo sucede con los representantes de las autoridades, que lejos de ejercer esta autoridad sobre los miembros del comité y de tomar la batuta de la mesa de trabajo para orientar esfuerzos e instaurar una mecánica de toma de decisiones, se limitan a realizar ligeros cambios de forma y no de fondo, tal vez orillados a esto por el tortuguismo y poca visión del gobierno federal para concretar estos programas multidisciplinarios de actualización dentro de organismos como la Secretaria de Salud, la Secretaria de Comercio y Fomento Industrial, además de órganos menores pero no menos importantes como los Laboratorios Nacionales de Salud Pública.

La consecuencia. En primer lugar, la poca importancia que le dan los representantes de las dependencias convocadas crean el ambiente de apatía y escepticismo que impera en éstas mesas; En segundo lugar, aunque igual de trascendental, la “formalidad” burócrata, que da pie a la inconsistencia, en la participación y la asistencia de los miembros; Finalmente, se concluye, se firma, y se expide la Norma Oficial Mexicana.

Todo lo anterior, ignorando el entorno internacional dentro del cual nacemos al comercio mundial, lo que demanda un espíritu de competitividad por parte de los mexicanos y que en este caso es muy sencillo objetivar con una conclusión: “Necesitamos una propuesta que nos permita modernizar lo obsoleto”.

La solución. El artículo 40 párrafo XV de la Ley federal de Normalización instauro los apoyos a las denominaciones de origen para productos del país; Lo que se traduce dentro de esta propuesta en particular, como el **CERTIFICADO POR DENOMINACIÓN DE ORIGEN PARA VINOS DE MESA NACIONALES**, documento que todos los países productores de vinos excelentes lo expiden, excepto el nuestro.

3.4 VISIÓN INTERNACIONAL

El equiparar la NOM con normas internacionales, es con el fin de complementar las técnicas de laboratorio vigentes en el país, para alcanzar los estándares sanitarios y de calidad, establecidos por los productores tecnológicamente mas avanzados, al mismo tiempo se busca fortalecer ésta imagen de calidad con un análisis químico mas sensible, que permita satisfacer a los consumidores mas exigentes en el mundo.

Ésta investigación concuerda con la legislación de la Comunidad Económica Europea, en cuanto a las técnicas elementales de análisis químico, aunque la diferencia con este bloque comercial estriba en los avances tecnológicos de laboratorio, utilizados para incrementar la calidad del análisis y, por supuesto, del vino al depurar las técnicas de vinificación utilizadas; sin embargo, en México no se utiliza generalmente el análisis instrumental, lo que a largo plazo resulta extraordinariamente costoso en tiempo y calidad.

La Ley Federal sobre Metrología y Normalización establece que, las NOM tienen como fin asentar las características y especificaciones del producto a regular, al mismo tiempo deben decretar los métodos de prueba para comprobar las mismas, así como el equipo y materiales adecuados para aplicar las pruebas correspondientes. Esto es sin embargo, inoperante en la NOM-V-12-1986 para vino, ya que el artículo 41 de la misma Ley establece que, las NOM deben contener el grado de concordancia con normas y recomendaciones internacionales, lo anterior, por supuesto, con el fin de homogeneizar y actualizar dichas normas.

Es obvio que este parámetro no se asienta en la NOM vigente para vinos, esto se debe a que nos separa un abismo tecnológico de los principales países productores de vino, y no me refiero a la producción volumétrica anual, sino a la excelente calidad de cada botella y los exhaustivos análisis químicos que conforman esta calidad.

No solo el grado de concordancia internacional es ignorado en una mesa consultiva de normalización, también los elementos fundamentales son eludidos, algo tan grave debe ser analizado de manera profunda; Debemos diseccionar un comité consultivo de normalización para reconocer sus partes, y darnos cuenta porque algunos aspectos elementales de las NOM no son contemplados, como el grado de concordancia internacional ó el especificar características y

Concretando, al instituir ésta denominación de origen obligamos a una modernización a nivel nacional de los laboratorios de análisis enológico, lo cual no solo constituye un beneficio para el prestigio de los vitivinicultores nacionales, además representa un producto mexicano excelente en el mercado mundial, lo que deberá repercutir en mejoras económicas para el país, siendo la columna vertebral de este certificado, el análisis químico instrumental.

CAPITULO 4 . ANÁLISIS

Es innegable que la industria vitivinícola nacional, no ha tenido un desarrollo consistente desde sus inicios con Hernán Cortés hasta nuestros días, esto no solo por razones políticas (como el primer tropiezo de México en la vinicultura con Felipe II), ó de guerra (como en la independencia), también existen actualmente las de tipo comercial (TLC), éstas últimas son calificadas bajo los términos de calidad que actualmente rigen el comercio mundial, lo anterior es obvio en los sistemas de calidad *ISO-9000*.

Con todo, se ha obtenido un desarrollo sustentable; sin embargo, el aspecto normativo enológico de nuestro país se encuentra abandonado, es por ello se propone sea revalidada la NOM-V-12-1986, con objeto de considerar los avances tecnológicos del ámbito, y actualizar los notorios retrasos que con respecto a las normas de calidad, del comercio mundial, presenta la citada norma.

Esto es, el utilizar los nuevos métodos de análisis instrumental para investigar no solo las características cuantitativas de los compuestos que deseamos regular, sino también de aquellos que nos interesa conocer cualitativamente o que por su importancia toxicologica (por aspectos contaminantes ó adición de aditivos) se encuentran en trazas, así que estos deben monitorearse con análisis mas sensibles por salud pública.

Por calidad, un análisis es requerido incluso por el vitivinicultor o productor, ya que para mantener un estándar en el producto es necesario un sistema de calidad, con este, el consumidor tiene la certeza de la autenticidad del vino (ó al menos de lo que informa la etiqueta del producto adquirido), determinando así una identidad para cada variedad y/o procedencia, donde el mejor negocio es donde ganan todos los involucrados en el mismo.

Esta revisión muestra de manera global, que la serie de métodos considerados (listados en el capítulo 3.2), es la actualización de los Métodos de Prueba requeridos por la NOM vigente y que cada determinación cubre tanto el método oficial (denominado MÉTODO), como el método propuesto (denominado MÉTODO OPCIONAL).

En primer lugar, se suman las determinaciones de Furfural y Alcoholes Superiores (incluidas dentro de los 47 análisis recomendados por la C.E.E.), debido a que han sido consideradas importantes para determinar adulteraciones en vinos, por lo tanto, básicas para ésta revisión; El

hecho de incluir sólo éstos dos y no todos, marca una directriz de calidad, lo cual se pretende instaurar en ésta propuesta.

Aunque en segundo lugar, es de crucial importancia el uso del análisis instrumental dentro de los Métodos de Prueba propuestos; El caso de la determinación de Furfural es un excelente ejemplo, ya que se puede determinar por HPLC, Espectrofotometría e incluso RMN; Las determinaciones de Metanol y Alcoholes Superiores, se llevan a cabo por Cromatografía de Gases; La determinación de Azúcares Reductores no utiliza instrumentación analítica, sin embargo, usa una columna de intercambio iónico en uno de los puntos críticos del Método, con el fin de optimizar el análisis y facilitar la titulación, que en el caso del Método de Fehling se realiza con la muestra en ebullición; La determinación de Acidez Volátil, es enriquecida por las determinaciones secuenciales de bióxido de azufre libre y combinado, optimizando el tiempo en este caso; En el resto de los casos cuando se trata de una titulación se realiza mediante un potenciómetro en lugar de un indicador colorido.

En otro orden de ideas, tenemos que la parte medular de la normalización, se encuentra en poder establecer parámetros los cuales nos informen de posibles adulteraciones, de fraudes latentes para la sociedad o de vinos con determinada calidad, en este sentido es que trabaja esta investigación, ya que con un producto con tanto tiempo en el mercado mundial y siendo éste de uso común, resulta obsoleto que las Normas Oficiales Mexicanas, no usen los avances científicos para evaluar el nivel de la calidad del producto que se exporta y/o se importa, o que no consideren apartados específicos para etiquetado de vinos de mesa ya que esto da elementos necesarios al consumidor para decidir el nivel de compra que desea.

El beneficio de ésta investigación es social, pues se busca alcanzar en la realidad, los objetivos primordiales de la NOM (Norma Oficial Mexicana), como lo establece el Art. 40 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, en sus fracciones VII, XI, XII, Y XV; Es fundamental precisar que ésta última fracción, determina que las NOM tendrán como fin establecer los apoyos a las denominaciones de origen para productos del país. Así la industria vitivinícola, tendrá dispuestas un serie de reglas para no encontrar en el camino de la globalización, el fantasma de la competencia desleal.

Es irresponsable que a la fecha no exista una denominación de origen para vinos de mesa en México, esto considerando que Argentina la obtuvo desde diciembre de 1990, y Argentina es el penúltimo país al que llegó la *vitis vinifera* en América hace 450 años. Por lo anterior, es necesario

para la industria enológica, que la Secretaría de Salud expida un certificado por, denominación de origen para vinos de mesa, de las diferentes regiones del país, el cual sea respaldado por el trabajo de sus órganos mas íntimos, como lo es el Laboratorio Nacional de Salud Pública y que se consolide con la acción de los vinicultores.

En el transcurso de esta investigación, a sido notable la falta de bibliografía concerniente a las características de los vinos nacionales, básicamente resultados de análisis químicos, lo que implica la necesidad de impulsar de una manera formal este tipo de investigación, ya que a industriales e investigadores nacionales parece no importarles. Todo esto, para obtener una base de datos en la que la autoridad cimiente un reconocimiento a la calidad, Pej. un Certificado por Denominación de Origen, que proporcione a la NOM-V-12 una verdadera visión internacional, y que al mismo tiempo dará a las Normas Oficiales Mexicanas un prestigio en el mundo, como garantía de calidad.

Definitivamente los comités consultivos para normalización de vinos y bebidas alcohólicas, no se han planteado lo que aquí se propone, y es obvio que existen las bases legales y tecnológicas, para generar una delegación, que a la par con los órganos encargados de la Secretaría de Salud, evalúe y otorgue una garantía por **DENOMINACIÓN DE ORIGEN**; Con esta no solo tendremos información precisa en la etiqueta, sino la garantía de que tenemos en las manos un producto que tiene y mantiene una calidad a nivel mundial.

CAPITULO 5 . CONCLUSIONES

La presente revisión de los Métodos de Prueba de la Norma Oficial Mexicana-V-12, resulta de gran utilidad para el Laboratorio de Análisis, puesto que nos muestra una optimización en cuanto a los recursos técnicos y los tiempos de realización.

Durante la investigación se advirtió, un gran rezago tecnológico en los Métodos de Prueba de la NOM-V-12-1986, también la falta del grado de concordancia con normas internacionales; Lo anterior indica que los Métodos de Prueba aún son vigentes, aunque no son actuales; además carecen de la visión tecnológica necesaria, para recibir el nuevo siglo y sus vicisitudes.

Mas que proponer una serie de Métodos de Prueba actualizados, resultado de esta investigación, la misma, arroja la firme propuesta de crear un **Certificado Por Denominación De Origen Para Vinos De Mesa**; ya que es parte del perfil de excelencia, calidad y prestigio, que necesita el vino mexicano en el mundo, y la parte medular de este certificado será un análisis químico de similar calidad, el cual deberá ser realizado a todos los lotes de vino producidos en el país, con el fin de crear esa base de datos necesaria para caracterizar al vino mexicano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carbonel Razquin Mateo."Tratado de Vinicultura".Ed. Aedos.Barcelona.1ª Edicion.1970.
2. Amerine M.A. and Singleton. " WINE. An introduction for Americans " University of California press Berkeley and L.A. 1965.
3. Genesis 9 : 20-21 cap. 8
4. Durvan. "Diccionario Enciclopedico Durvan".Ed. Artes graficas Grijelmo S.A..2ª Edicion.España.1974.Tomo 4 pag. 382.
5. Garcia Maynez, Eduardo."INTRODUCCION A LA HISTORIA DEL DERECHO". Ed.Porrúa SA de CV. 1ªEdicion.1940.México.Pp.3,4,5,6,7,77-96.
6. LEY GENERAL DE SALUD.11ªEdicion actualizada.Ed. Porrúa. 1994.México.
7. Diario Oficial de la Federación. 6 de noviembre de 1992.
8. Diario Oficial de la Federación. 24 de diciembre de 1992.
9. Sarmiento, Sergio."Enciclopedia Hispanica".Encyclopaedia Britannica Publishers.Barcelona,1990.T.1
- 10.Larouse. "Gran Enciclopedia Larousse".Ed. Planeta.España.1992.T 10.
11. El Financiero."Los Vinos Espumosos".Miguel Guzman Peredo.México D.f.,Domingo 19 Dic. 1993.
- 12.Noguera Pujol, José."Enotecnia Industrial". Ed. Dlagro. Lerida, España. 1974.
- 13.Amerine M.A. and Cruess, et al. "The Technology of wine making". Avi publishing company,Inc. USA. 1982.
- 14.Carles, Jules."La Quimica del Vino".Ed. Oikos-Tau S.A. España.1972.
- 15.Vogt ."El Vino".Ed Acribia.Zaragoza.1986.
- 16.J. Riberau-Gayon, E. Penynaud; Analisis de vinos, Editorial Aguilar; Madrid, España. 1962,
- 17.J.Grossman Harold."Grossman's Guide.To wines, spirits and beers".New York.1943.P. 131,7.
- 18.De Blas, Jose Juan."Los vinos internacionales".Cia. Editorial Continental, S.A. de C.V. México.1987.
- 19.Fessenden Ralph j."Quimica Orgánica".Ed. Iberoamericana.México.1992.P Cap.7.
- 20.Official Journal of the European Communities. O.J.E.C. L272. Vol. 33. 3Oct1990. P.84.

21. Norma Oficial Mexicana. NOM-V-26-1986. Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de acidéz volátil".P. 1,2.
22. Mareca, Cortez. "Enología". Editorial Alhambra. España. 1982.
23. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). "Official Methods of Analysis". William Horwitz Editor. 12^a Edition. Washington D.C. 1975.
24. Official Journal of the European Communities. O.J.E.C. L272. Vol. 33. 30 Oct 1990. p.88
25. Norma Oficial Mexicana. NOM-V-16-S-1980. "Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de acidez total"
26. Official Journal of the European Communities. O.J.E.C. L272 V33 03 Oct 90 p.81-83.
27. Norma Mexicana. NMX-V-13-1993-SCFI. "Bebidas alcohólicas. Determinación del porcentaje de alcohol en volúmen (% Alc. Vol. a 20°C) a 20°C".
28. Official Journal of the European communities. O.J.E.C. L 272, Vol. 33 03 Oct 90.
29. Winton. "Análisis de Alimentos" Ed. Hispanoamericana. Argentina. 1947.
30. P. Oudin, Poitiers. Guide Pratique D'Alcoométrie, 3^a Edition, Edition conforme aux prescriptions de L'Administration, Imprimerie Librairie Adm.
31. Norma Oficial Mexicana. NOM-V-6-1983. "Bebidas alcohólicas. Azúcares reductores, directos y totales. Método de prueba."
32. Amerine, M. A. and C.S. Ough. "Vine and Must Analysis". John Wiley and Sons Inc.
33. Official Journal of the European communities. O.J.E.C. L 272, Vol. 33. 03 Oct 93. "Reducing Sugars"
34. Official Journal of the European communities. O.J.E.C. L 272, Vol. 33. 03 Oct 93. "Ash Content"
35. M.A. Amerine and C.S. Ough. "Methods for Analysis of Must and Wines". University of California. Ed. John Wiley and Sons Inc. 1980.
36. Cruess, W.V.. "The principles and practice of wine making". De. Mack Printing Co. 1947.
37. Norma Oficial Mexicana. NOM-V-17-1984. "Determinación de extracto seco y cenizas"
38. Official Journal of the European communities. O.J.E.C. L 272, Vol. 33. 03 Oct 90. "Total dry extract".
39. Norma Oficial Mexicana. NOM-V-21-1986. "Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de metanol"

40. Mesas nacionales de consulta para normalización. Secretaría de Salud. Bebidas alcohólicas. P. 26-29.
41. Official Journal of the European communities. O.J.E.C. L 272, Vol. 33. 03 Oct 90. "Hydroxymethylfurfural".
42. Disposiciones Generales sobre Alcoholes. Ministerio de Agricultura Chileno. 31 julio 1986.
43. Norma Oficial Mexicana. NOM-V-35-S-1981. "Bebidas alcohólicas. Determinación de bioxido de azúfre total".
44. Mesas nacionales de consulta para normalización. Secretaría de Salud. Bebidas alcohólicas. SO₂ Total.
45. Pearson David. *"The chemical Analysis of foods"*. Fifth Edition. J. & A. Churchill LTD. 1962.
46. Ley Federal sobre Metrología y Normalización.
47. Norma Oficial Mexicana. DGN-V-44-1972. Etiquetado de bebidas alcohólicas.
48. Council Regulation (EEC) N° 2392/89. Arts. 2(1), 20(1), 26(1), 11(1), 25(1), 27(1). Requerimientos para etiquetado de vinos según la C.E.E.
49. Council Regulation (EEC) N° 3201/90. Localización y tamaño de los datos de la etiqueta
50. Norma Oficial Mexicana. NOM-142-SSA1-1995. Bebidas Alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.
51. Australian and New Zeland wine industry Journal. "Legal issues in exporting wine". Maitland, I. 94. Vol. 9. N° 1. p. 61.
52. NOM-EE-32-1983. "Envase y envalaje. Envases de vidrio para bebidas en general".
53. NOM-V-12-1986. "Bebidas alcohólicas. Vinos. Especificaciones".
54. NOM-V-17-1984. "Bebidas alcohólicas. Determinación de extracto seco y cenizas".
55. NOM-V-30-1986. "Bebidas alcohólicas. Vinos generosos especificaciones".
56. NOM-V-15-S-1980. "Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de acidéz fija".
57. NOM-002-SCFI-1993. Productos preenvasados. Contenido neto, tolerancias y métodos de verificación".
58. NOM-Z-12/2-1987. "Muestreo para la inspección por atributos-parte 2: Metodos de muestreo, tablas, graficas".
59. European food law review. "Labelling requirements for wines under E.C. law". Ebeling, Jan-Willem. 92. Vol. 3. N° 2-3. 159-178.

60. Day, Robert. "como escribir y publicar trabajos científicos". Organización panamericana de la salud. D.C., Washington. 1990.
61. Journal of wine research. "'Sulphur dioxide and other preservatives". Rose, A.H.. 1993. Vol. 4. N° 1. 43-47.
62. Council Regulation (EEC) N° 822/87. O.J.E.C. 1987. L 84. Vol. 1. Información complementaria autorizada por la comunidad europea.
63. Council Regulation (EEC) N° 1734/91. O.J.E.C. 1991. L 163. Vol. 6. Etiquetado
64. Council Regulation (EEC) N° 79 / 112. Requerimientos de etiquetado para alimentos.
65. NOM-142-SSA1-1995. "Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias, etiquetado y comercial".
66. Diario Oficial de la federación del miércoles 1° de julio de 1992.
67. NOM-V-28-S-1981. "Bebidas Alcohólicas. Determinación de taninos".
68. NOM-V-34-1982. "Alcohol etílico".
69. Diario Oficial de la Federación del 18 de enero de 1988. "Disposiciones generales para bebidas alcohólicas"..
70. Diario Oficial de la Federación del 31 de mayo de 1993. "NOM para tequila".
71. Larrea, Redondo A." Enología básica". Ed. Aedos. Barcelona, 1983. P.p.20-24.
72. Troost, Gerhard. "Tecnología del vino". Ed. Omega S.A. Barcelona. 1985. 1,29.
73. Mareca, Cortes. "Enología; enfoques científicos y técnicos, sobre la vid y el vino".Ed. Alhambra. España. 1969.24-30.
74. Peynaud, Emile. "Enología práctica, conocimiento y elaboración del vino". Ed. Mundi-prensa. España. 1989. 53-72.
75. De Rosa, Tullio."Tecnología de los vinos espumosos". Ed. Mundi-prensa. Madrid. 1990. p. 10.
76. Zoecklein, B.W. and Fugel Sang, K.C.."Production wine analysis". Ed. Van Nostrand Reinhold. New York. 1991. p. 170.
77. Ibar, L. "Manual practico de enología moderna".Ed. de Vecchi. S.A. Barceona. 1985.
78. SEVI. "Una aportación sobre la cantidad de sodio en los vinos de rioja". Larrea Redondo, A. Valencia. N°1366. Oct 72.
79. Diaz Cervantes, Y.; "Programa de enología del CIANOC".Diviltec-CIANOC. México. 1985.
80. Díaz Jimenez, Blas. "Los vinos internacionales".Ed. Continental. 4ª edición. España. 1982.

81. American journal of enology and viticulture. "Lead in wines". Ough, C.S. Vol. 44. Nº4. P. 464-467. 1993.
82. El financiero. "Los vinos de La Rioja". Miguel Guzmán Peredo. México D.F.. Domingo 24 Oct 93.
83. Industrie delle Bevande. "Quality control of red wines". Mazzoleni, V. 1992. Vol. 21. Nº 119. p. 210-216.
84. Journal of agricultural and food chemistry. "Study of lability of heavy metals in wines with different degrees of aging". Arcos, M.T.; Ancin, M.C.; Echeverria, J.C.; 1993. Vol. 41. Nº 12. p. 2333-2339.
85. Biotechnology progress. "Recent applications of biotechnology in wine production". Colagrande, O.; Silva, A.; Fumi, M.D.; 1994. Vol. 10. Nº 1. p. 2-18.
86. Analytical chemistry. "Determination of , total and free, sulfur dioxide in wine". Bartroli, J.; Escalada, M.; 1991. Vol. 63. Nº 21. p. 2532-2535.
87. Vignevini. "New ideas on Montefiascone, Est! Est!! Est!!! wines". Massantini, R.; Contini, M.; 1990. Vol. 17. Nº 10. p. 44.
88. Journal of agricultural and food chemistry. "Natural antioxidants in grapes and wines". Kanner, J.; Frankel, E.; Granit, R.; 1994. Vol. 42. Nº 1. p. 64-69.
89. NOM-Z-13-1977. "Guía para la redacción y estructuración de NOM".
90. Diario Oficial de la Federación del 9 de julio de 1997. "NOM-142-SSA1-1995. Bebidas alcohólicas."
91. Herstein, Karl M. "Chemistry and technology of wines and liquors". New York. 1935. P. 360.
92. Lopez Cano, J. Luis. "Taller de redacción". Ed. Esfinge. T. 1. 1983. México.
93. Lopez Cano, J. Luis. "Taller de redacción". Ed. Esfinge. T. 2. 1983. México.
94. Guitrón Fuentevilla, Julian. "Tesis". Ed. Promociones jurídicas y culturales, S.C.. 1991. México.
95. Anteproyecto de NOM de bebidas alcohólicas destiladas.
96. Anteproyecto de NOM de bebidas alcohólicas fermentadas.
97. Diario Oficial de la Federación del 16 de julio de 1992. "Acuerdo por el cual se modifica la denominación de las normas oficiales mexicanas de caracter voluntario por el de normas mexicanas".

- 98.NOM-120-SSA1-1994. "Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas".
- 99.NOM-117-SSA1-1994. "Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, hierro, cinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica".
- 100.Industria Alimentaria. " Oportunidades a futuro para el vino mexicano ". Michaud, Julio. Vol. 15. Nº 3. 1993. P. 46.
- 101.Agricultura Técnica. " Contenido de glicerol 2,3 butanodiol y alcoholes amílicos en vinos chilenos. Utilización de un método por cromatografía de gases". Ureta, fernando; Brinnkmann E., Cecilia. Vol. 46. Nº 4. 1986. P. 429 - 439.
- 102.Agricultura Técnica. " Evaluación química y organoléptica de vinos tintos finos, Cabernet Sauvignon, de diferentes edades pero de un mismo origen". Vol. 45. Nº 3. 1985. P. 241 - 246.
- 103.Ciencia e Investigación Agraria. Composición química y calidad de mostos y vinos obtenidos de racimos diferentemente asoleados". Pszczolkowski, Ph.; Morales, A.; Cava, S.. Vol. 12 Nº 3. 1985. P. 181 - 188.
- 104.Rivista di Viticoltura e di Enologia. " Copper and iron content in wines ". Dikanovik-Lucan, Z.; Palic, A. et.al.. Vol. 45. Nº 4. 1992. P. 29 - 33.
- 105.El Financiero. " Made-in-chismo en Vinos ". Miguel Guzmán Peredo. Enero 30, 1994. México, D.F.
- 106.El Universal. " El Culto a Dionisios ".Miguel Guzmán Peredo. Enero 13, 1994. México D.F..
- 107.El Financiero. " Los Vinos Mexicanos ". Miguel Guzmán Peredo. Diciembre 26, 1993. México, D.F..
- 108.Revista de revistas. " Los Vinos de Bratislava ". Miguel Guzmán Peredo. Diciembre 13, 1993. México D.F.
- 109.El Financiero. " Las Subastas de Vinos: Hasta 500 mil Dólares por Botella ". Miguel Guzmán Peredo. Noviembre 14, 1993. México D.F..
- 110.El Financiero. " Sustrato de las Bebidas Alcoholicas ". Miguel Guzmán Peredo. Noviembre 7, 1993. México, D.F.

- 111.El Financiero. " Vinos de Mesa sin Alcohol ". Miguel Guzmán Peredo. Octubre 31, 1993. México, D.F..
- 112.El Universal. " Los vinos de Inglaterra ". Miguel Guzmán Peredo. Octubre 30, 1993. México, D:F..
- 113.El Financiero. " Los Vinos Gallegos ". Miguel Guzmán Peredo.Octubre 17, 1993. México, D.F.
- 114.El Financiero. "Los Vinos de la Riviera del Duero ". Miguel Guzmán Peredo. Septiembre 26, 1993. México D.F
- 115.El Universal. " Un concurso enológico ". Miguel Guzmán Peredo. Septiembre 8, 1993. México, D.F..
- 116.El Universal. " Los Vinos de California ". Miguel Guzmán Peredo. Agosto 31, 1993. México D.F..
- 117.Revista de Revistas. " Los Vinos de Portugal ". Miguel Guzmán Peredo. Agosto 23, 1993. México D.F.
- 118.El Financiero. " Vinos de Baja California ". Miguel Guzmán Peredo. Julio 25, 1993. México D.F.
- 119.El Universal. " Las ferias del vino ". Miguel Guzmán Peredo. Julio 11, 1993. México, D.F.
- 120.Revista de Revistas. " La mejoría de los vinos mexicanos ". Miguel Guzmán Peredo. Abril 12, 1993. México D.F..
- 121.Revista de Revistas. " La enología y el TLC ". Miguel Guzmán Peredo.
- 122.Revista de Revistas. " Los vinos de Italia ". Miguel Guzmán Peredo. Febrero 15, 1993. México, D.F.
- 123.El Universal. " Las Tribulaciones de la enología mexicana ". Miguel Guzmán Peredo. Septiembre 13, 1991. México, D.F..
- 124.La mesa del gourmet. " Los vinos de mesa de México ". Miguel Guzmán Peredo.