I

(Actos cuya publicación es una condición para su aplicabilidad)

REGLAMENTO (CEE) Nº 2676/90 DE LA COMISIÓN

de 17 de septiembre de 1990

por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Visto el Reglamento (CEE) nº 822/87 del Consejo, de 16 de marzo de 1987, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola (1), modificado por el Reglamento (CEE) nº 388/90 (2), y, en particular, su artículo 74,

Considerando que el apartado 1 del artículo 74 del Reglamento (CEE) nº 822/87 dispone la adopción de métodos de análisis que permitan determinar la composición de los productos mencionados en el artículo 1 de este Reglamento y de las normas que permitan establecer si tales productos han sido sometidos a tratamientos que infrijan las prácticas enológicas autorizadas;

Considerando que, si bien la Comunidad no ha establecido todavía los límites, en cifras, de los elementos presentes característicos de la utilización de determinadas prácticas enológicas, ni las tablas para la comparación de los datos analíticos, procede autorizar a los Estados miembros a determinar los límites;

Considerando que el apartado 1 del artículo 13 del Reglamento (CEE) nº 822/87 prevé un examen analítico que determine, como mínimo, los valores de los elementos característicos del vcprd de que se trate, que figuren entre los enumerados en el Anexo de este Reglamento;

Considerando que, para controlar las indicaciones recogidas en los documentos relativos a los productos de que se trate, es necesario establecer métodos de análisis uniformes que garanticen la obtención de datos precisos y comparables; que, en consecuencia, tales métodos deben ser obligatorios para cualquier transacción comercial y cualquier operación de control; que, habida cuenta de las posibilidades limitadas del comercio, es conveniente admitir un número restringido de procedimientos usuales que permitan una determinación rápida y suficientemente segura de los elementos investigados;

Considerando que es pertinente seleccionar, en la medida de lo posible, aquellos métodos que gocen de reconocimiento general, como los desarrollados en el marco del Convenio internacional de 1954 para la unificación de los métodos de análisis y evaluación de vinos, publicados por la Oficina Internacional de la Viña y el Vino en la Recopilación de métodos internacionales de análisis de vinos;

Considerando que los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino han sido establecidos por el Reglamento (CEE) nº 1108/82 de la Comisión (3); que el progreso científico ha hecho necesario sustituir determinados métodos por otros más adecuados, modificar algunos e introducir otros nuevos, en particular los que desde entonces han sido aprobados por la Oficina Internacional de la Viña y el Vino; que por razón del gran número y complejidad de dichas adaptaciones, es conveniente agrupar todos los análisis en un nuevo reglamento y derogar el Reglamento (CEE) nº 1108/82;

Considerando que, para garantizar que los resultados obtenidos en aplicación de los métodos de análisis mencionados en el artículo 74 del Reglamento (CEE) nº 822/87 son comparables, es conveniente atenerse, respecto a la repetibilidad y reproductibilidad de esos resultados, a las definiciones de la Oficina Internacional de la Viña y el Vino;

Considerando que, a fin de tener en cuenta el progreso científico, por un lado, y el material técnico de los laboratorios oficiales, por otro, y para que el trabajo de estos laboratorios resulte más eficaz y rentable, procede permitir la aplicación de métodos de análisis automatizados en determinadas condiciones; que es importante precisar que en caso de litigio los métodos automatizados no podrán reemplazar a los de referencia ni a los usuales;

Considerando que los resultados de la medición de la densidad mediante el método automatizado basado en el principio de un resonador de flexión son, en cuanto a su exactitud, repetibilidad y reproductibilidad, iguales por lo menos a los resultados obtenidos con los métodos que figuran en el punto 1 del Anexo del presente Reglamento, para medir la masa volúmica o la densidad relativa; que, en virtud de lo dispuesto en el apartado 3 del artículo 74 del Reglamento (CEE) nº 822/87, resulta, pues, indicado considerar el método automati-

(1) DO nº L 84 de 27. 3. 1987, p. 1.
(2) DO nº L 42 de 16. 2. 1990, p. 9.
(3) DO nº L 133 de 14. 5. 1982, p. 1.

zado como equivalente a los que figuran en el Anexo del presente Reglamento;

Considerando que el procedimiento descrito en el capítulo 25 en el punto 2.2.3.3.2 del Anexo del presente Reglamento para analizar el contenido en dióxido de azufre total de los vinos y de los mostos con un contenido estimado de menos de 50 mg/l produce una mejor extracción de esta sustancia que el procedimiento descrito en el capítulo 13, punto 13.4 del Anexo del Reglamento (CEE) nº 1108/82; que da lugar a resultado más elevado en dióxido de azufre total de los productos analizados que pueden sobrepasar, especialmente en el caso de ciertos zumos de uvas; que a fin de evitar dificultades para la circulación de los zumos de fruta ya elaborados en el momento de la entrada en vigor del presente Reglamento y en espera que los procedimientos de elaboración se adaptasen para conseguir una desulfitación más completa de los mostos de uva apagados, es necesario permitir durante un período transitorio que el modo operatorio descrito en el Reglamento antes mencionado se utilice todavía;

Considerando que las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité de gestión del vino,

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

1. Figuran en el Anexo del presente Reglamento los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino que permiten, en las transacciones comerciales y en cualquier operación de control:

— establecer la composición de los productos contemplados en el artículo 1 del Reglamento (CEE) nº 822/87,

— comprobar si tales productos han sido sometidos a tratamientos que infrinjan prácticas enológicas autorizadas.

2. Cuando se establezcan métodos de referencia y métodos usuales, los resultados obtenidos con los primeros serán los que prevalezcan.

Artículo 2

Para la aplicación del presente Reglamento:

a) La repetibilidad representa el valor por debajo del cual está situado, con una probabilidad especificada, el valor absoluto de la diferencia de dos resultados individuales obtenidos a partir de medidas efectuadas en las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y un corto intervalo de tiempo).

b) La reproductibilidad representa el valor por debajo del cual está situado, con una probabilidad especificada, el valor absoluto de la diferencia de dos resultados individuales obtenidos en condiciones diferentes (operadores diferentes, aparatos diferentes y/o laboratorios diferentes, y/o épocas diferentes).

El término «resultado individual» es el valor obtenido cuando se aplica, una vez y por completo, el método de ensayo normalizado sobre una sola muestra.

En ausencia de indicación la probabilidad es del 95 %.

Artículo 3

1. Se admitirán métodos de análisis automatizados, bajo la responsabilidad del director de laboratorio, a condición de que la exactitud, la repetibilidad y la reproductibilidad de los resultados sean por lo menos equivalentes a las de los obtenidos mediante los métodos de análisis que figuran en el Anexo.

En caso de litigio, los métodos que figuran en el Anexo no podrán ser sustituidos por los métodos automatizados.

2. El método automatizado para medir la densidad basado en el principio de un resonador de flexión se considerará como equivalente a los métodos que figuran en el punto 1 del Anexo del presente Reglamento.

Artículo 4

Cuando se haga referencia al agua para las soluciones, diluciones o lavados, se tratará de agua destilada o desmineralizada de pureza al menos equivalente. Todos los productos deberán ser de calidad analítica, salvo que se especifique otra cosa.

Artículo 5

Queda derogado el Reglamento (CEE) nº 1108/82.

No obstante, el apartado 4 del artículo 1 del Reglamento antes citado es aplicable hasta el 31 de diciembre de 1990.

Artículo 6

El presente Reglamento entrará en vigor el día de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*.

Será aplicable a partir del 1 de octubre de 1990.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 17 de septiembre de 1990.

Por la Comisión
RAY MAC SHARRY
Miembro de la Comisión

ANEXO

1. MASA VOLÚMICA A 20 °C Y DENSIDAD RELATIVA A 20 °C

1. DEFINICIONES

La masa volúmica es el cociente de la masa de un determinado volumen de vino o mosto a 20 °C por ese volumen. Se expresa en gramos por mililitro y su símbolo es ρ' 20 °C.

La densidad relativa a 20 °C o densidad 20 °C/20 °C es la relación, expresada en número decimal, entre la masa de un cierto volumen de vino o de mosto a 20 °C y la masa del mismo volumen de agua a la misma temperatura. Su símbolo es $d^{20\,°C}_{20\,°C}$.

2. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

La masa volúmica y la densidad relativa a 20 °C se determinan en la muestra de ensayo:

— bien por picnometría: método de referencia,

— bien por areometría o densimetría con balanza hidrostática: métodos usuales.

Nota:

En determinaciones muy precisas, debe corregirse la acción del dióxido de azufre sobre la masa volúmica:

ρ 20 °C = ρ' 20 °C − 0.006 · S,

ρ 20 °C = masa volúmica corregida,

ρ' 20 °C = masa volúmica observada,

S = dióxido de azufre total en g/l.

3. TRATAMIENTO PREVIO DE LA MUESTRA

Si el vino o el mosto contiene cantidades importantes de dióxido de carbono, eliminar la mayor cantidad posible agitando 250 ml de vino en un enienmeyer 1 000 ml o filtrando a baja presión sobre 2 g de algodón colocado en un soporte.

4. MÉTODO DE REFERENCIA

4.1. **Material**

Material corriente de laboratorio, y en particular:

4.1.1. Picnómetro (1), de vidrio pyrex, con una capacidad de 100 ml aproximadamente y termómetro móvil con esmerilado, graduado en décimas de grado, de 10 ° a 30 °C. Este termómetro debe estar contrastado (figura 1).

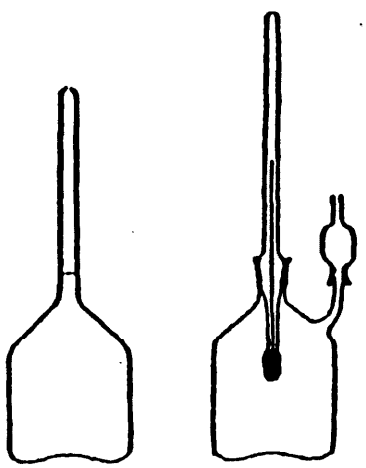


FIGURA 1

Picnómetro y su frasco tara

(1) Puede utilizarse cualquier picnómetro de características equivalentes.

Este picnómetro consta de un tubo lateral de 25 mm de longitud y 1 mm, como máximo, de diámetro interior, terminado en una parte cónica esmerilada. El tubo lateral puede estar cubierto por un «tapón receptor» constituido por un tubo cónico esmerilado terminado en una parte afilada. Dicho tapón sirve de cámara de dilatación.

Las dos partes esmeriladas del aparato deben estar realizadas con gran cuidado.

4.1.2. Frasco tara, del mismo volumen exterior (con una aproximación de 1 ml) que el picnómetro y de masa igual a la del picnómetro lleno de líquido de densidad 1,01 (solución al 2 % (m/v) de cloruro sódico).

Recipiente termostatado que se ajuste exactamente al cuerpo del picnómetro.

4.1.3. Balanza de dos platos de una capacidad de 300 g por lo menos y una sensibilidad de una décima de miligramo,

o

balanza monoplato de una capacidad de 200 g por lo menos y una sensibilidad de una décima de miligramo.

4.2. **Calibrado del picnómetro**

El calibrado del picnómetro supone la determinación de las características siguientes:

— la tara en vacío,

— el volumen a 20 °C,

— la masa del agua a 20 °C.

4.2.1. **Utilización de una balanza de dos platos**

Poner el frasco tara en el plato izquierdo de la balanza y el picnómetro limpio, seco y con su «tapón receptor» en el plato derecho, equilibrar colocando al lado del picnómetro masas conocidas de p gramos.

Llenar con cuidado el picnómetro con agua destilada a temperatura ambiente y colocar el termómetro; secar cuidadosamente el picnómetro y colocarlo dentro del recipiente termostatado; agitar por inversión hasta que el termómetro señale una temperatura constante. Enrasar exactamente hasta el borde superior del tubo lateral. Secar dicho tubo, colocar el tapón receptor; leer la temperatura t °C con cuidado y, en su caso, corregir la inexactitud de la escala del termómetro. Pesar el picnómetro lleno de agua; se denominará p' a la masa en gramos com la que se consigue el equilibrio.

Cálculos (1)

Tara del picnómetro vacío:

Tara en vacío = p + m

m = masa de aire contenida en el picnómetro

$m = 0{,}0012\ (p - p')$

Volumen a 20 °C:

$V_{20\,°C} = (p + m - p') \cdot F_t$

F_t = factor tomado de la tabla I para la temperatura t °C

$V_{20\,°C}$ debe conocerse con una aproximación de ± 0,001 ml.

Masa de agua a 20 °C:

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

0,998203 = masa volúmica del agua a 20 °C.

(1) En el punto 6 de este capítulo figura un ejemplo numérico.

4.2.2. Utilización de una balanza monoplato

Determinar:

— la masa del picnómetro limpio y seco: P,

— la masa del picnómetro lleno de agua a t ° C: P_1, siguiendo las indicaciones que figuran en 4.2.1,

— la masa del frasco tara T_o.

Cálculos (1)

Tara del picnómetro vacío:

Tara en vacío = P — m

m = masa de aire contenida en el picnómetro

$m = 0{,}0012 (P_1 — P)$

Volumen a 20 ° C:

$V_{20\,°C} = [P_1 — (P — m)]. F_t$

F_t = factor tomado de la tabla I para la temperatura t ° C

El volumen a 20 ° C debe conocerse con una aproximación de ± 0,001 ml.

Masa de agua a 20 ° C:

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

0,998203 = masa volúmica del agua a 20 ° C.

4.3. **Procedimiento** (1)

4.3.1. *Utilización de una balanza de dos platos*

Pesar el picnómetro lleno de la muestra preparada para el ensayo (3) siguiendo las indicaciones que figuran en 4.2.1. Sea p" la masa en gramos con la que se consigue el equilibrio a t ° C.

Masa del líquido contenido en el picnómetro = p + m — p".

Masa volúmica aparente a t ° C:

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

Calcular la masa volúmica a 20 ° C utilizando una de las tablas de corrección que figuran a continuación, en función de la naturaleza del líquido estudiado: vino seco (tabla II), mosto natural o concentrado (tabla III), vino dulce (tabla IV).

La densidad 20° C/ 20 ° C del vino se expresa dividiendo la masa volúmica a 20 ° C por 0,998203.

4.3.2. *Utilización de una balanza monoplato* (1)

Pesar el frasco tara; sea su masa T_1

Calcular $dT = T_1 — T_O$

Masa del picnómetro vacío en el momento de la medida = P — m + dT

Pesar el picnómetro lleno de la muestra preparada para ensayo siguiendo las indicaciones que figuran en 4.2.1. Sea P_2 su masa a t ° C.

(1) En el punto 6 de este capítulo figura un ejemplo numérico.

Masa del líquido contenido en el picnómetro a t ° C = $P_2 - (P - m + dT)$

Masa volúmica aparente a t ° C:

$$\rho_{t\,°C} = \frac{P_2 - (P - m + dT)}{V_{20\,°C}}$$

Calcular la masa volúmica a 20 ° C del líquido estudiado: vino seco, mosto natural o concentrado y vino dulce, tal como se indica en 4.3.1.

La densidad 20 ° C/20 ° C se obtiene dividiendo la masa volúmica a 20 ° C por 0,998203.

4.3.3. Repetibilidad en la masa volúmica

Para los vinos secos y semisecos: r = 0,00010

Para los vinos dulces: r = 0,00018

4.3.4. Reproductibilidad en la masa volúmica

Para los vinos secos y semisecos: R = 0,00037

Para los vinos dulces: R = 0,00045

5. Métodos usuales

5.1. **Areometría**

5.1.1. *Aparatos*

5.1.1.1. Areómetro

Los areómetros deben cumplir las prescripciones de la ISO en cuanto a sus dimensiones y graduación.

Deben tener un cuerpo cilíndrico y un tallo de sección circular de 3 mm de diámetro, como mínimo. Para los vinos secos, deben estar graduados de 0,983 a 1,003 en milésimas y 1/5 de milésima. Entre una milésima y la milésima siguiente debe haber, como mínimo, 5 mm. Para medir la densidad de los vinos desalcoholizados, vinos dulces y mostos, se utilizará un juego de 5 areómetros graduados de 1,000 a 1,030; 1,030 a 1,060; 1,060 a 1,090; 1,090 a 1,120; 1,120 a 1,150. Estos aparatos deben estar graduados en masas volúmicas a 20 ° C, en milésimas y medias milésimas, como mínimo, estando separada cada milésima de la siguiente por 3 mm por lo menos.

Estos areómetros deben estar graduados de forma que la lectura se efectúe en «la parte superior del menisco». La indicación de la graduación en masa volúmica a 20 ° C o en densidad relativa a 20 ° C y de la lectura en la «parte superior del menisco» se indicará, bien sobre la escala graduada o bien con una banda de papel que irá en el interior del cuerpo cilíndrico.

Estos aparatos deben estar contrastados por un servicio oficial.

5.1.1.2. Termómetro contrastado, graduado de medio grado Celsius, como mínimo.

5.1.1.3. Probeta cilíndrica de 36 mm de diámetro interior y 320 mm de altura, mantenida verticalmente mediante un soporte con tornillos niveladores.

5.1.2. *Procedimiento*

5.1.2.1. Técnica de una medida

Verter, en la probeta 5.1.1.3, 250 ml de muestra preparada para el ensayo (3), introducir el areómetro y el termómetro. Leer el termómetro un minuto después de haber agitado para obtener el equilibrio de temperatura. Retirar el termómetro y leer la masa volúmica aparente a t ° C sobre el tallo del areómetro tras un minuto de reposo.

Corregir la acción de la temperatura sobre la masa volúmica aparente a t ° C mediante las tablas que se aplican en los casos de vinos secos (tabla V), mostos (tabla VI) y vinos que contienen azúcar (tabla VII).

La densidad 20 ° C/20 ° C se obtiene dividiendo la masa volúmica a 20 ° C por 0,998203.

5.2. **Densimetría con balanza hidrostática**

5.2.1. *Material*

5.2.1.1. Balanza hidrostática

La balanza hidrostática, de una capacidad máxima de 100 g, por lo menos, debe tener una sensibilidad de una décima de mg.

Debajo de cada plato se fija un flotador de vidrio pyrex que tenga un volumen de 20 ml, como mínimo. Estos dos flotadores idénticos se suspenden de un hilo de diámetro inferior o igual a 0,1 mm.

El flotador suspendido debajo del plato de la derecha debe poder introducirse en una probeta cilíndrica que lleve una marca de nivel. Dicha probeta debe tener un diámetro interior superior en 6 mm, como mínimo, al del flotador. Este último debe poder introducirse por completo en el volumen de la probeta situada debajo de la marca, debiendo atraversar la superficie del líquido únicamente el hilo de suspensión. La temperatura del líquido contenido en la probeta se medirá mediante un termómetro graduado en 1/5 de grado.

Una balanza hidrostática monoplato puede igualmente ser utilizada.

5.2.2. *Procedimiento*

5.2.2.1. Calibrado de una balanza hidrostática

Con los dos flotadores suspendidos, se equilibra la balanza colocando sobre el plato de la derecha las masas p.

Se llena la probeta de agua pura hasta la marca, se mide la temperatura t ° C después de agitar y se deja reposar durante 2 o 3 minutos. Se restablece el equilibrio mediante masas que se colocan en el plato de la derecha; se denominará p' a estas masas.

Volumen del flotador a 20 ° C:

$V_{20\,°C} = (p' - p)(F + 0{,}0012)$

F = factor dado por la tabla I para la temperatura t ° C.
p y V_{20} son las características del flotador.

5.2.2.2. Procedimiento

El flotador de la derecha se sumerge en la probeta llena de vino (o de mosto) hasta la marca. Leer la termperatura t ° C del vino (o del mosto); sean:

p" las masas que restablecen el equilibrio,
ρ t ° C la masa volúmica aparente:

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

Referir esta masa volúmica a 20 ° C utilizando una de las tablas II, III o IV.

6. Ejemplo de cálculo de la masa volúmica a 20 ° C y de la densidad 20 ° C/20 ° C (método de referencia)

6.1. **Picnometría con balanza de dos platos**

6.1.1. *Determinación de las constantes del picnómetro*

1. Pesada del picnómetro limpio y seco:

   Tara = picnómetro + p
   p = 104,9454 g

2. Pesada del picnómetro lleno de agua a la temperatura t ° C:

   Tara = picnómetro + agua + p'
   p' = 1,2396 g para t = 20,5 ° C.

3. Cálculo de la masa de aire contenida en el picnómetro:

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

4. Características que deben anotarse

   Tara del picnómetro vacío, p + m:
   p + m = 104,9454 + 0,1244
   p + m = 105,0698 g

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

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

   Masa del agua a 20 °C = $V_{20\,°C} \cdot 0{,}998203$
   $M_{20\,°C} = 103{,}8405$ g.

6.1.2. *Determinación de la masa volúmica a 20 ° C y de la densidad 20 ° C/20 ° C de un vino seco:*

p'' = 1,2622 a 17,80 °C

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

$\rho_{17{,}80\,°C} = 0{,}99788$ g/ml

La tabla II permite calcular $\rho_{20\,°C}$ a partir de $\rho_{t\,°C}$ mediante la relación:

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

Para t = 17,80 °C y para un grado alcohólico de 11 % vol se encuentra c = 0,54

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

$\rho_{20\,°C} = 0{,}99734$ g/ml

$$d^{20\,°C}_{20\,°C} = \frac{0{,}99734}{0{,}998203} = 0{,}99913$$

6.2. **Picnometría con balanza monoplato**

6.2.1. *Determinación de las constantes del picnómetro*

1. Pesada del picnómetro limpio y seco:

   P = 67,7913 g

2. Pesada del picnómetro lleno de agua a la temperatura t °C:

P_1 = 169,2715 a 21,65 °C.

3. Cálculo de la masa de aire contenida en el picnómetro:

$m = 0{,}0012 (P_1 - P)$
$m = 0{,}0012 \times 101{,}4802$
$m = 0{,}1218$ g

4. Características que deben anotarse

Tara del picnómetro vacío: P − m
P − m = 67,7913 − 0,1218
P − m = 67,6695 g
Volumen a 20 °C = $[P_1 - (P - m)] F_{t\,°C}$
$F_{21{,}65\,°C} = 1{,}002140$
$V_{20\,°C} = (169{,}2715 - 67{,}6695) \cdot 1{,}002140$
$V_{20\,°C} = 101{,}8194$ ml

Masa del agua a 20 °C = $V_{20\,°C} \cdot 0{,}998203$
$M_{20\,°C} = 101{,}6364$ g
Masa del frasco tara: T_o
$T_o = 171{,}9160$ g.

6.2.2. Determinación de la masa volúmica a 20 °C y de la densidad 20 °C/20 °C de un vino seco:

$T_1 = 171{,}9178$ g
$dT = 171{,}9178 - 171{,}9160 = + 0{,}0018$ g
$P - m + dT = 67{,}6695 + 0{,}0018 = 67{,}6713$ g
$P_2 = 169{,}2799$ a 18 °C

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

$\rho_{18\,°C} = 0{,}99793$ g/ml

La Tabla II permite calcular ρ 20 °C a partir de $\rho_{t\,°C}$ mediante la relación

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

Para t = 18 °C y para un grado alcohólico de 11 % vol, se encuentra c = 0,49

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

$\rho_{20\,°C} = 0{,}99744$ g/ml

$$d^{20\,°C}_{20\,°C} = \frac{0{,}99744}{0{,}998203} = 0{,}99923$$

TABLA I

Tabla de factores F

por los que hay que multiplicar la masa del agua contenida en el picnómetro de vidrio pyrex a t °C, para calcular el volumen del picnómetro a 20 °C

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

TABLA II

Tabla de correcciones c de temperatura sobre la masa volúmica de vinos secos y vinos secos en los que se ha eliminado el alcohol, medida en un picnómetro de vidrio pyrex a t°C para referir el resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si t° es inferior a 20 °C} \\ + \text{ si t° es superior a 20 °C} \end{matrix}$$

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

Nota: Se puede utilizar esta tabla para transformar la densidad d^t_{20} en densidad d^{20}_{20}.

TABLA III

Tabla de correcciones c de temperatura sobre la masa volúmica de mostos naturales y concentrados medida a t °C mediante un picnómetro de vidrio pyrex, para referir el resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si t° es inferior a 20 °C} \\ + \text{ si t° es superior a 20 °C} \end{matrix}$$

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

Nota: Se puede utilizar esta tabla para transformar la densidad d^t_{20} en densidad d^{20}_{20}.

TABLA IV

Tabla de correcciones c de temperatura sobre la masa volúmica de vinos de 13 % vol o más que contengan azúcar residual, medida con un picnómetro de vidrio pyrex a t °C para referir el resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si t° es inferior a 20 °C} \\ + \text{ si t° es superior a 20 °C} \end{matrix}$$

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

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

TABLA V

Tabla de correcciones c de temperatura sobre la masa volúmica de vinos secos y vinos secos en los que se ha eliminado el alcohol, medida a t °C con un areómetro o un picnómetro de vidrio ordinario, para referir el resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si t° es inferior a 20 °C} \\ + \text{ si t° es superior a 20 °C} \end{matrix}$$

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

Nota: Se puede utilizar esta tabla para convertir la densidad d^t_{20} en densidad d^{20}_{20}.

TABLA VI

Tabla de correcciones c de temperatura sobre la masa volúmica de mostos naturales y mostos concentrados medida a t °C con un picnómetro o un areómetro de vidrio ordinario, para referir el resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si t° es inferior a 20 °C} \\ + \text{ si t° es superior a 20 °C} \end{matrix}$$

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

Nota: Se puede usar esta tabla para transformar la densidad d^t_{20} en densidad d^{20}_{20}.

TABLA VII

Tabla de correcciones c de temperatura sobre la masa volúmica de vinos de 13 % vol o más que contengan azúcar residual, medida a t °C con un areómetro o un picnómetro de vidrio ordinario, para referir el resultado a 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si t° es inferior a 20 °C} \\ + \text{ si t° es superior a 20 °C} \end{matrix}$$

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

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

2. EVALUACIÓN MEDIANTE REFRACTOMERÍA DEL CONTENIDO EN AZÚCARES DE MOSTOS, MOSTOS CONCENTRADOS Y MOSTOS CONCENTRADOS RECTIFICADOS

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El índice de refracción a 20 °C, expresado de modo absoluto o como porcentaje en masa de sacarosa, se lleva a la tabla correspondiente para obtener el contenido en azúcares en gramos por litro y en gramos por kilogramo de mosto, mosto concentrado y mosto concentrado rectificado.

2. MATERIAL

2.1. Refractómetro del tipo Abbé

El refractómetro utilizado deberá estar provisto de una escala que indique:

— el porcentaje en masa de sacarosa, con precisión de 0,1 %, o bien

— el índice de refracción con 4 decimales.

El refractómetro deberá estar provisto de un termómetro, cuya escala estará graduada de + 15 °C a + 25 °C como mínimo, y de un dispositivo de circulación de agua que permita realizar las mediciones a una temperatura de 20 °C ± 5 °C.

Deberán seguirse estrictamente las instrucciones sobre el manejo de este instrumento, en particular, las concernientes al calibrado y a la fuente luminosa.

3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

3.1. Mostos y mostos concentrados

Puede pasarse el mosto a través de una gasa seca doblada en cuatro y, tras haber eliminado las primeras gotas de filtrado, se efectúa la determinación sobre el producto filtrado.

3.2. **Mosto concentrado rectificado**

Utilizar, según su concentración, el mosto concentrado rectificado o la solución obtenida añadiendo agua a 200 g de mosto concentrado rectificado exactamente pesados hasta que aquélla alcance 500 g.

4. PROCEDIMIENTO

Llevar la muestra a una temperatura póxima a 20 °C. Colocar unas gotas de muestra en el prisma inferior del refractómetro procurando que, estando los prismas en estrecho contacto, aquélla cubra uniformemente la superficie de vidrio, y efectuar la medición con arreglo a las instrucciones de manejo del aparato utilizado.

Medir el porcentaje en masa de sacarosa con una aproximación de 0,1 % o anotar el índice de refracción con 4 decimales.

Efectuar al menos dos determinaciones de cada muestra preparada. Anotar la temperatura t °C.

5. CÁLCULOS

5.1. **Corrección de temperatura**

5.1.1. Aparatos graduados en % en masa de sacarosa. Utilizar la tabla I para la corrección de temperatura.

5.1.2. Aparatos graduados en índices de refracción; llevar el índice medido a t °C a la tabla II para obtener (columna 1) el valor correspondiente del procentaje en masa de sacarosa a t °C. Mediante la tabla I se corregirá este valor expresándolo a 20 °C.

5.2. Contenido en azúcares de mostos y mostos concentrados

Llevar el porcentaje en masa de sacarosa a 20 °C a la tabla II para obtener el contenido en azúcares invertidos en gramos por litro y en gramos por kilogramo. Se expresará con un decimal.

5.3. Contenido en azúcares de mosto concentrado rectificado

Llevar el porcentaje en masa de sacarosa a 20 °C a la tabla III para obtener el contenido en azúcares en gramos por litro y en gramos por kilogramo. El contenido en azúcares se expresará en azúcar invertido con 1 decimal.

Si la medición se ha efectuado con el mosto concentrado rectificado diluido, se multiplicará el resultado por el factor de dilución.

5.4. Índice de refracción de mostos, mostos concentrados y mostos concentrados rectificados

Llevar el porcentaje en masa de sacarosa a 20 °C a la tabla II para obtener el índice de refracción a 20 °C. Se expresará con 4 decimales.

TABLA I

Corrección que deberá efectuarse cuando el porcentaje en masa de sacarosa sea determinado a una temperatura diferente de 20 °C

Temperatura °C	Sacarosa en gramos por 100 gr de producto									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Restar									
15	0,25	0,27	0,31	0,31	0,34	0,35	0,36	0,37	0,36	0,36
16	0,21	0,23	0,27	0,27	0,29	0,31	0,31	0,32	0,31	0,23
17	0,16	0,18	0,20	0,20	0,22	0,23	0,23	0,23	0,20	0,17
18	0,11	0,12	0,14	0,15	0,16	0,16	0,15	0,12	0,12	0,09
19	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,07	0,05
	Sumar									
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
22	0,12	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
23	0,18	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22
24	0,24	0,26	0,26	0,27	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29
25	0,30	0,32	0,32	0,34	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37

Las variaciones de la temperatura con relación a 20 °C no deberán exceder de ± 5 °C.

TABLA II

Tabla del contenido en azúcar (1), en gramos por litro y en gramos por kilogramo, de mostos y mostos concentrados, determinado mediante un refractómetro graduado en porcentaje en masa de sacarosa a 20 °C o en índice de refracción a 20 °C. Figura también la masa volúmica a 20 °C.

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

(1) El contenido en azúcares está expresado en azúcar invertido.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

TABLA III

Tabla del contenido en azúcar (1), en gramos por litro y en gramos por kilogramo, de mostos concentrados rectificados, determinado mediante un refractómetro graduado en porcentaje en masa de sacarosa a 20 °C o en índice de refracción a 20 °C. Figura también la masa volúmica a 20 °C

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

(1) El contenido en azúcares está expresado en azúcar invertido.

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

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

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

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

3. GRADO ALCOHÓLICO VOLUMÉTRICO

1. DEFINICIÓN

El grado alcohólico volumétrico es igual al número de litros de etanol contenidos en 100 litros de vino, medidos ambos volúmenes a la temperatura de 20 °C. Su símbolo es «% vol».

Nota:

El etanol, sus homólogos y los ésteres de ambos están comprendidos en el grado alcohólico, por encontrarse en el destilado.

2. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

2.1. Destilación del vino alcalinizado mediante una suspensión de hidróxido de calcio. Determinación del grado alcohólico en el destilado.

2.2. Método de referencia: determinación de la masa volúmica del destilado por picnometría.

2.3. **Métodos usuales**

2.3.1. *Determinación del grado alcohólico del destilado por areometría*

2.3.2. *Determinación del grado alcohólico del destilado por densimetría con balanza hidrostática*

2.3.3. *Determinación del grado alcohólico del destilado por refractometría*

Nota:

Para expresar el grado alcohólico a partir de la masa volúmica del destilado, utilícense las tablas prácticas I, II, III que figuran en el Anexo II de este capítulo. Se han calculado a partir de la tabla alcohólica internacional publicada en 1972 por la Organización internacional de Metrología Legal (OIML) en su Recomendación nº 22 y fue adoptada por la OIV (Asamblea general de 1974).

En la tabla I (Anexo II) se da la ecuación general por la que se relaciona el grado alcohólico volumétrico y la masa volúmica de las mezclas hidroalcohólicas en función de la temperatura.

3. OBTENCIÓN DEL DESTILADO

3.1. **Material**

3.1.1. Aparato de destilación compuesto por:

— un matraz de fondo redondo de 1 litro de capacidad con esmerilado normalizado,

— una columna rectificadora de una altura de unos 20 cm o cualquier dispositivo para impedir el arrastre,

— una fuente de calor; debe evitarse toda pirogenación de las materias extractivas mediante un dispositivo adecuado,

— un refrigerante terminado en un tubo afilado que conduzca el destilado al fondo del matraz aforado receptor que deberá contener algunos mililitros de agua.

3.1.2. Aparato de arrastre por vapor de agua, formado por:

1. un generador de vapor de agua,
2. un borboteador,
3. una columna rectificadora,
4. un refrigerante.

Puede utilizarse cualquier otro modelo de aparato de destilación o cualquier otro aparato de arrastre por vapor de agua siempre que responda al ensayo siguiente:

Destilar 5 veces consecutivas una mezcla hidroalcohólica de 10 % vol. Después de la quinta destilación, el destilado debe presentar un grado alcohólico de 9,9 % vol, como mínimo, es decir, no debe producirse una pérdida de alcohol superior a 0,02 % vol durante cada destilación.

3.2. **Reactivos**

3.2.1. *Suspensión de hidróxido de calcio 2 M*

Se obtiene vertiendo, con cuidado, un litro de agua caliente (60-70 °C) sobre 120 g de cal viva CaO.

3.3. **Preparación de la muestra**

En los vinos jóvenes o espumosos debe eliminarse previamente la mayor cantidad posible de dióxido de carbono, agitando 250-300 ml de vino en un erienmeyer de 500 ml.

3.4. **Procedimiento**

Echar en un matraz aforado un volumen de vino de 200 ml.

Anotar la temperatura del vino.

Verterlo en el matraz del aparato de destilación o en el borboteador del aparato de arrastre por vapor de agua. Lavar el matraz aforado cuatro veces con 5 ml de agua que se verterán en el matraz de destilación o en el borboteador. Añadir 10 ml de hidróxido de calcio (3.2.1) y algunos fragmentos de materia porosa inerte (piedra pómez).

Recoger el destilado en el matraz aforado de 200 ml que ha servido para medir el vino.

Debe recogerse un volumen igual a las tres cuartas partes, aproximadamente, del volumen inicial en el caso de la destilación, o 198-199 ml de destilado en el caso de arrastre por vapor de agua. Completar a 200 ml con agua destilada a una temperatura idéntica a la temperatura inicial, con una aproximación de ± 2 °C.

Mezciar con precaución, mediante un movimiento circular.

Nota:

En el caso de vinos especialmente cargados de iones amoniacales, efectuar una nueva destilación del destilado en las condiciones anteriormente descritas, sustituyendo la suspensión de hidróxido de calcio por 1 ml de ácido sulfúrico al 10 % (v/v).

4. MÉTODO DE REFERENCIA

Determinación del grado alcohólico del destilado por picnometría.

4.1. **Aparatos**

4.1.1. Utilizar el picnómetro calibrado como se indica en el capítulo «Masa volúmica».

4.2. **Procedimiento**

Determinar la masa volúmica aparente a T °C del destilado (3.4), como se indica en el capítulo «Masa volúmica», en 4.3.1 y 4.3.2; sea ρ_t dicha masa volúmica.

4.3. **Expresión de los resultados**

4.3.1. *Método de cálculo*

Expresar el grado alcohólico a 20 °C utilizando la tabla I. En la línea horizontal de la tabla correspondiente a la temperatura T °C expresada en número entero buscar la menor

masa volúmica superior a ρ_t. Empléese la diferencia tabular leída debajo de esta masa volúmica para calcular la masa volúmica ρ a la temperatura T.

En la línea de la temperatura T, buscar la masa volúmica ρ' inmediatamente superior a ρ y calcular la diferencia entre las dos masas volúmicas ρ y ρ'. Esta diferencia se dividirá por la diferencia tabular leída a la derecha de la masa volúmica ρ'. El cociente da la parte decimal del grado alcohólico, mientras que la parte entera de dicho grado viene indicada en la cabecera de la columna en que se encuentra la masa volúmica ρ'.

En el Anexo I de este capítulo figura un ejemplo de cálculo del grado alcohólico.

Nota:

Esta corrección de temperatura ha sido programada y, en su caso, puede efectuarse automáticamente.

4.3.2. *Repetibilidad (r):*

r = 0,10 % vol

4.3.3. *Reproductibilidad (R):*

R = 0,19 % vol

5. MÉTODOS USUALES

5.1. **Areometría**

5.1.1. *Aparatos*

5.1.1.1. Alcohómetro

El alcohómetro debe ajustarse a las especificaciones de los aparatos de las clases I o II definidas en la recomendación internacional nº 44, «Alcohómetros y areómetros para alcohol», de la OIML.

5.1.1.2. Termómetro graduado en grados y décimas de grado de 0 ° a 40 °C, con una aproximación comprobada de 1/20 de grado.

5.1.1.3. Probeta cilíndrica de 36 mm de diámetro y 320 mm de altura, mantenida en posición vertical mediante un soporte con tornillos niveladores.

5.1.2. *Procedimiento*

Verter el destilado (3.4) en la probeta cilíndrica. Mantener la probeta en posición vertical. Introducir el termómetro y el alcohómetro. Efectuar la lectura del termómetro 1 min., después de haber agitado para igualar la temperatura de la probeta, del termómetro, del alcohómetro y del destilado. Retirar el termómetro y leer el grado alcohólico aparente tras 1 min. de reposo. Realizar por lo menos tres lecturas utilizando una lupa. En el grado aparente medido a t °C debe corregirse la acción de la temperatura utilizando la tabla II.

Es necesario que la temperatura del líquido no se diferencie en mucho de la temperatura ambiente (5 °C de diferencia, como máximo).

5.2. **Densimetría con balanza hidrostática**

5.2.1. *Material*

Utilizar la balanza hidrostática como se indica en el capítulo «Masa volúmica».

5.2.2. *Forma de operar*

Proceder a la determinación de la masa volúmica aparente a t °C del destilado como se indica en el capítulo «Masa volúmica» en 5.2.2.

5.2.3. *Expresión de los resultados*

Expresar el grado alcohólico a 20 °C siguiendo las indicaciones del apartado 4.3.1 y utilizando la tabla I, si el flotador es en vidrio pyrex y la tabla III si el flotador es en vidrio normal.

5.3. **Refractometría**

5.3.1. *Material*

5.3.1.1. Refractómetro que permita la medida de los índices de refracción comprendidos entre 1,330 y 1,346.

En función del tipo de aparato, las medidas deberán realizarse:

— bien a 20 °C, con ayuda de un dispositivo adecuado;

— bien a temperatura ambiente t °C, medida con un termómetro que permita determinarla con una aproximación de 0,05 °C, como mínimo. Con el aparato se facilita una tabla de corrección de temperatura.

5.3.2. *Procedimiento*

La medida del índice de refracción se efectúa en el destilado de vino (3.4), siguiendo el procedimiento prescrito para el tipo de aparato utilizado.

5.3.3. *Expresión de los resultados*

El índice de refracción a 20 °C se lleva a la tabla IV para obtener el grado alcohólico.

Nota:

En la tabla IV figura la correspondencia entre los índices de refracción de las mezclas hidroalcohólicas puras y de los destilados de vino. En el caso de destilados de vino, se tienen en cuenta las impurezas del destilado (principalmente alcoholes superiores). La presencia de metanol se traduce en la disminución del índice de refracción y, por lo tanto, del grado alcohólico.

6. EJEMPLO DE CÁLCULO DEL GRADO ALCOHÓLICO DE UN VINO

6.1. **Picnometría con balanza de dos platos**

6.1.1. Las constantes del picnómetro se deben determinar y calcular como se indica en el punto 6.1.1 del capítulo 1 «Masa volúmica y densidad relativa».

6.1.2. *Pesada del picnómetro lleno de destilado*

Ejemplo numérico

Tara = picnómetro + destilado a t °C + p″ { t °C = 18,90 °C; t °C corregido = 18,70 °C; p″ = 2,8074 g

p + m − p″ = masa del destilado a t °C 105,0698 − 2,8074 = 102,2624 g

Masa volúmica aparente a t °C

$$\rho_t \frac{p + m - p''}{\text{volumen del picnómetro a 20 °C}} \quad \left\{ \rho 18{,}70\,°C = \frac{102{,}2624}{104{,}0229} = 0{,}983076 \right.$$

6.1.3. *Cálculo del grado alcohólico*

Se utiliza el cuadro de masas volúmicas aparentes de las mezclas hidroalcohólicas a diferentes temperaturas, como se indicó anteriormente

En la línea 18 °C de la tabla de masas volúmicas aparentes, la menor masa superior a la masa observada 0,983087 es 0,98398, en la columna 11

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

La parte decimal del grado alcohólico es
$75/114 = 0{,}65$

El grado alcohólico es: 11,65 % vol

6.2. **Picnometría con balanza monoplato**

6.2.1. Las constantes del picnómetro se han determinado y calculado en el punto 6.2.1 del capítulo «Masa volúmica y densidad relativa».

6.2.2. *Pesada del picnómetro lleno de destilado:*

Peso del frasco tara en el momento de la determinación: $T_1 = 171{,}9178$ g

Picnómetro lleno de destilado a 20,50 °C: $P_2 = 167{,}8438$ g

Variación del empuje del aire: $dT = 171{,}9178 - 171{,}9160 = + 0{,}0018$

Masa del destilado a 20,50 °C: $L_1 = 167{,}8438 - (67{,}6695 + 0{,}0018) = 100{,}1725$

Masa volúmica aparente del destilado: $\rho 20{,}5\ °C = \frac{100{,}1725}{101{,}8194} = 0{,}983825$

6.2.3. *Cálculo del grado alcohólico:*

Utilizar la tabla de masas volúmicas aparentes de las mezclas hidroalcohólicas a diferentes temperaturas, como se indicó anteriormente

En la línea 20 °C de la tabla de masas volúmicas aparentes, la menor masa superior a la masa observada 0,983825 es 0,98471, en la columna 10 %

La masa volúmica a 20 °C es:
$(98382{,}5 + 0{,}50 \times 24)\ 10^{-5} = 0{,}983945$
$0{,}98471 - 0{,}983945 = 0{,}000765$

La parte decimal del grado alcohólico es:
$76{,}5/119 = 0{,}64$
El grado alcohólico es: 10,64 % vol

FÓRMULA PARA CALCULAR LAS TABLAS ALCOHÓLICAS DE LAS MEZCLAS DE ALCOHOL ETÍLICO Y AGUA

La masa volúmica «ρ», expresada en kilogramos por metro cúbico (kg/m³), de una mezcla de alcohol etílico y agua a la temperatura t, expresada en grados Celsius, viene dada por la fórmula siguiente, en función de:

— el grado en masa p expresado por un número decimal, (1)

— la temperatura t expresada en grados Celsius, (EIPT 68)

— los coeficientes numéricos que figuran a continuación.

La fórmula es válida para las temperaturas comprendidas entre − 20 °C y + 40 °C

$$\varrho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k\, p^{k-1} + \sum_{k=1}^{6} B_k (t - 20\,°C)^k$$

$$+ \sum_{i=1}^{n} \sum_{k=1}^{m} C_{i,k}\, p^k (t - 20\,°C)^i \qquad \begin{array}{llll} n = 5 & & m_3 = 9 \\ m_1 = 11 & & m_4 = 4 \\ m_2 = 10 & & m_5 = 2 \end{array}$$

Coeficientes numéricos de la fórmula

k	A_k kg/m³	B_k
1	9,982 012 300 · 10²	− 2,061 851 3 · 10⁻¹ kg/(m³ · °C)
2	− 1,929 769 495 · 10²	− 5,268 254 2 · 10⁻³ kg/(m³ · °C²)
3	3,891 238 958 · 10²	3,613 001 3 · 10⁻⁵ kg/(m³ · °C³)
4	− 1,668 103 923 · 10³	− 3,895 770 2 · 10⁻⁷ kg/(m³ · °C⁴)
5	1,352 215 441 · 10⁴	7,169 354 0 · 10⁻⁹ kg/(m³ · °C⁵)
6	− 8,829 278 388 · 10⁴	− 9,973 923 1 · 10⁻¹¹ kg/(m³ · °C⁶)
7	3,062 874 042 · 10⁵	
8	− 6,138 381 234 · 10⁵	
9	7,470 172 998 · 10⁵	
10	− 5,478 461 354 · 10⁵	
11	2,234 460 334 · 10⁵	
12	− 3,903 285 426 · 10⁴	

k	$C_{1,k}$ kg/(m³ · °C)	$C_{2,k}$ kg/(m³ · °C²)
1	1,693 443 461 530 087 · 10⁻¹	− 1,193 013 005 057 010 · 10⁻²
2	− 1,046 914 743 455 169 · 10¹	2,517 399 633 803 461 · 10⁻¹
3	7,196 353 469 546 523 · 10¹	− 2,170 575 700 536 993
4	− 7,047 478 054 272 792 · 10²	1,353 034 988 843 029 · 10¹
5	3,924 090 430 035 045 · 10³	− 5,029 988 758 547 014 · 10¹
6	− 1,210 164 659 068 747 · 10⁴	1,096 355 666 577 570 · 10²
7	2,248 646 550 400 788 · 10⁴	− 1,422 753 946 421 155 · 10²
8	− 2,605 562 982 188 164 · 10⁴	1,080 435 942 856 230 · 10²
9	1,852 373 922 069 467 · 10⁴	− 4,414 153 236 817 392 · 10¹
10	− 7,420 201 433 430 137 · 10³	7,442 971 530 188 783
11	1,285 617 841 998 974 · 10³	

k	$C_{3,k}$ kg/(m³ · °C³)	$C_{4,k}$ kg/(m³ · °C⁴)	$C_{5,k}$ kg/(m³ · °C⁵)
1	− 6,802 995 733 503 803 · 10⁻⁴	4,075 376 675 622 027 · 10⁻⁶	− 2,788 074 354 782 409 · 10⁻⁸
2	1,876 837 790 289 664 · 10⁻²	− 8,763 058 573 471 110 · 10⁻⁶	1,345 612 883 493 354 · 10⁻⁸
3	− 2,002 561 813 734 156 · 10⁻¹	6,515 031 360 099 368 · 10⁻⁶	
4	1,022 992 966 719 220	− 1,515 784 836 987 210 · 10⁻⁶	
5	− 2,895 696 483 903 638		
6	4,810 060 584 300 675		
7	− 4,672 147 440 794 683		
8	2,458 043 105 903 461		
9	− 5,411 227 621 436 812 · 10⁻¹		

(1) Ejemplo: para un grado en masa de 12 %: p = 0,12.

TABLA I

GRADO ALCOHÓLICO INTERNACIONAL A 20 °C

Tabla de masas volúmicas aparentes de mezclas hidroalcohólicas Picnómetro de vidrio pyrex

Masas volúmicas a t °, corregidas del empuje del aire

	Grado alcohométrico volumetrico en %																													
t°	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11							
0°	999,64	1,50	998,14	1,44	996,70	1,40	995,30	1,35	993,95	1,30	992,65	1,24	991,41	1,19	990,22	1,14	989,08	1,10	987,98	1,05	986,93	1,00	985,93	0,95						
	−0,07		−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,05		−0,04		−0,03		−0,02		−0,01							
1°	999,71	1,51	998,20	1,44	996,76	1,40	995,36	1,35	994,01	1,30	992,71	1,24	991,47	1,20	990,27	1,15	989,12	1,11	988,01	1,06	986,95	1,01	985,94	0,97						
	−0,05		−0,05		−0,04		−0,04		−0,04		−0,04		−0,03		−0,03		−0,02		−0,02		−0,01		0,00							
2°	999,76	1,51	998,25	1,45	996,80	1,40	995,40	1,35	994,05	1,30	992,75	1,25	991,50	1,20	990,30	1,16	989,14	1,11	988,03	1,07	986,96	1,02	985,94	0,98						
	−0,03		−0,03		−0,03		−0,02		−0,02		−0,02		−0,02		−0,01		−0,01		0,00		0,01		0,02							
3°	999,79	1,51	998,28	1,45	996,83	1,41	995,42	1,35	994,07	1,30	992,77	1,25	991,52	1,21	990,31	1,16	989,15	1,12	988,03	1,08	986,95	1,03	985,92	1,00						
	−0,02		−0,02		−0,01		−0,02		−0,01		−0,01		0,00		0,00		0,01		0,02		0,03		0,04							
4°	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,36	994,08	1,30	992,78	1,26	991,52	1,21	990,31	1,17	989,14	1,13	988,01	1,09	986,92	1,04	985,88	1,00						
	0,00		0,00		0,00		0,00		0,01		0,02		0,02		0,02		0,02		0,03		0,04		0,05							
5°	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,37	994,07	1,31	992,76	1,26	991,50	1,21	990,29	1,17	989,12	1,14	987,98	1,10	986,88	1,05	985,83	1,01						
	0,01		0,01		0,01		0,02		0,01		0,02		0,03		0,04		0,05		0,05		0,05		0,06							
6°	999,80	1,51	998,29	1,46	996,83	1,41	995,42	1,36	994,06	1,32	992,74	1,27	991,47	1,22	990,25	1,18	989,07	1,14	987,93	1,10	986,83	1,06	985,77	1,03						
	0,03		0,03		0,03		0,03		0,04		0,04		0,04		0,05		0,06		0,07		0,08		0,09							
7°	999,77	1,51	998,26	1,46	996,80	1,41	995,39	1,37	994,02	1,32	992,70	1,27	991,43	1,23	990,20	1,19	989,01	1,15	987,86	1,11	986,75	1,07	985,68	1,03						
	0,05		0,04		0,04		0,05		0,05		0,05		0,05		0,06		0,06		0,07		0,08		0,09							
8°	999,72	1,50	998,22	1,46	996,76	1,42	995,34	1,37	993,97	1,32	992,65	1,27	991,38	1,24	990,14	1,19	988,95	1,16	987,79	1,12	986,67	1,08	985,59	1,05						
	0,05		0,06		0,06		0,06		0,06		0,06		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,11							
9°	999,67	1,51	998,16	1,46	996,70	1,42	995,28	1,37	993,91	1,32	992,59	1,28	991,31	1,24	990,07	1,20	988,87	1,17	987,70	1,13	986,57	1,09	985,48	1,06						
	0,07		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,08		0,09		0,09		0,10		0,11		0,12							
10°	999,60	1,51	998,09	1,46	996,63	1,42	995,21	1,37	993,84	1,33	992,51	1,28	991,23	1,25	989,98	1,20	988,78	1,17	987,60	1,14	986,46	1,10	985,36	1,06						
	0,09		0,09		0,09		0,08		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,12		0,13							
11°	999,51	1,51	998,00	1,46	996,54	1,41	995,13	1,38	993,75	1,33	992,42	1,29	991,13	1,25	989,88	1,21	988,67	1,18	987,49	1,15	986,34	1,11	985,23	1,07						
	0,10		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,11		0,12		0,13		0,13		0,14							
12°	999,41	1,50	997,91	1,46	996,45	1,42	995,03	1,38	993,65	1,34	992,31	1,29	991,02	1,25	989,77	1,22	988,55	1,19	987,36	1,15	986,21	1,12	985,09	1,09						
	0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,12		0,12		0,13		0,14		0,15		0,16							
13°	999,30	1,50	997,80	1,46	996,34	1,42	994,92	1,38	993,54	1,34	992,20	1,30	990,90	1,25	989,65	1,23	988,42	1,20	987,22	1,16	986,06	1,13	984,93	1,09						
	0,12		0,12		0,12		0,13		0,13		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16		0,16							
14°	999,18	1,50	997,68	1,46	996,22	1,43	994,79	1,38	993,41	1,34	992,07	1,30	990,77	1,26	989,51	1,23	988,28	1,21	987,07	1,17	985,90	1,13	984,77	1,11						
	0,13		0,14		0,14		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16		0,16		0,17		0,18							
15°	999,05	1,51	997,54	1,46	996,08	1,42	994,66	1,38	993,28	1,35	991,93	1,30	990,63	1,27	989,36	1,24	988,12	1,21	986,91	1,18	985,73	1,14	984,59	1,12						
	0,15		0,14		0,14		0,15		0,15		0,15		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,19							
16°	998,90	1,50	997,40	1,46	995,94	1,43	994,51	1,38	993,13	1,35	991,78	1,31	990,47	1,27	989,20	1,25	987,95	1,21	986,74	1,19	985,55	1,15	984,40	1,13						
	0,16		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,19		0,20							
17°	998,74	1,50	997,24	1,46	995,78	1,43	994,35	1,38	992,97	1,36	991,61	1,31	990,30	1,28	989,02	1,25	987,77	1,22	986,55	1,19	985,36	1,16	984,20	1,14						
	0,17		0,17		0,17		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22							
18°	998,57	1,50	997,07	1,46	995,61	1,42	994,19	1,39	992,80	1,36	991,44	1,32	990,12	1,28	988,84	1,26	987,58	1,23	986,35	1,20	985,15	1,17	983,98	1,14						
	0,18		0,18		0,18		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,20		0,21		0,22							
19°	998,39	1,50	996,89	1,46	995,43	1,43	994,00	1,39	992,61	1,36	991,25	1,32	989,93	1,29	988,64	1,26	987,38	1,23	986,15	1,21	984,94	1,10	983,76	1,16						
	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24							
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16						

	Grado alcohométrico volumetrico en %																													
t°	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11							
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16						
	0,20		0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24							
21°	998,00	1,50	996,50	1,46	995,04	1,43	993,61	1,40	992,21	1,36	990,85	1,33	989,52	1,30	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,23	984,47	1,19	983,28	1,18						
	0,21		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,24		0,26							
22°	997,79	1,50	996,29	1,46	994,83	1,43	993,40	1,40	992,00	1,37	990,63	1,33	989,30	1,31	987,99	1,28	986,71	1,25	985,46	1,23	984,23	1,21	983,02	1,18						
	0,22		0,22		0,23		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,25							
23°	997,57	1,50	996,07	1,47	994,60	1,43	993,17	1,40	991,77	1,37	990,40	1,34	989,06	1,31	987,75	1,28	986,47	1,26	985,21	1,24	983,97	1,20	982,77	1,20						
	0,24		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,26		0,27		0,29							
24°	997,33	1,49	995,84	1,47	994,37	1,43	992,94	1,41	991,53	1,37	990,16	1,34	988,82	1,32	987,50	1,29	986,21	1,26	984,95	1,25	983,70	1,22	982,48	1,20						
	0,24		0,25		0,24		0,25		0,24		0,25		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,28							
25°	997,09	1,50	995,59	1,46	994,13	1,44	992,69	1,40	991,29	1,38	989,91	1,35	988,56	1,32	987,24	1,29	985,95	1,27	984,68	1,26	983,42	1,22	982,20	1,21						
	0,25		0,25		0,26		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,28		0,28		0,28		0,30							
26°	996,84	1,50	995,34	1,47	993,87	1,43	992,44	1,41	991,03	1,38	989,65	1,35	988,30	1,32	986,98	1,31	985,67	1,27	984,40	1,26	983,14	1,24	981,90	1,22						
	0,26		0,26		0,26		0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,29		0,30		0,30							
27°	996,58	1,50	995,08	1,47	993,61	1,44	992,17	1,41	990,76	1,38	989,38	1,35	988,03	1,33	986,70	1,31	985,39	1,28	984,11	1,27	982,84	1,24	981,60	1,23						
	0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,32							
28°	996,31	1,50	994,81	1,47	993,34	1,44	991,90	1,42	990,48	1,38	989,10	1,36	987,74	1,33	986,41	1,31	985,10	1,29	983,81	1,28	982,53	1,25	981,28	1,23						
	0,28		0,28		0,28		0,29		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,31		0,31		0,32							
29°	996,03	1,50	994,53	1,47	993,06	1,45	991,61	1,41	990,20	1,39	988,81	1,36	987,45	1,34	986,11	1,32	984,79	1,29	983,50	1,28	982,22	1,26	980,96	1,24						
	0,28		0,29		0,29		0,29		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,32		0,32		0,33							
30°	995,75	1,51	994,24	1,47	992,77	1,45	991,32	1,42	989,90	1,39	988,51	1,37	987,14	1,34	985,80	1,32	984,48	1,30	983,18	1,28	981,90	1,27	980,63	1,25						
	0,30		0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,34		0,34							
31°	995,45	1,51	993,94	1,47	992,47	1,45	991,02	1,43	989,59	1,39	988,20	1,37	986,83	1,34	985,49	1,33	984,16	1,31	982,85	1,29	981,56	1,27	980,29	1,26						
	0,31		0,31		0,31		0,32		0,31		0,32		0,32		0,33		0,33		0,34		0,35		0,36							
32°	995,14	1,51	993,63	1,47	992,16	1,46	990,70	1,42	989,28	1,40	987,88	1,37	986,51	1,35	985,16	1,33	983,83	1,32	982,51	1,30	981,21	1,28	979,93	1,26						
	0,31		0,31		0,32		0,32		0,32		0,33		0,33		0,34		0,35		0,35		0,35		0,35							
33°	994,83	1,51	993,32	1,48	991,84	1,46	990,38	1,42	988,96	1,41	987,55	1,37	986,18	1,36	984,82	1,34	983,48	1,32	982,16	1,30	980,86	1,28	979,58	1,28						
	0,32		0,33		0,33		0,33		0,35		0,34		0,35		0,35		0,34		0,35		0,36		0,37							
34°	994,51	1,52	992,99	1,48	991,51	1,46	990,05	1,44	988,61	1,40	987,21	1,38	985,83	1,36	984,47	1,33	983,14	1,33	981,81	1,31	980,50	1,29	979,21	1,28						
	0,33		0,33		0,34		0,35		0,34		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37							
35°	994,18	1,52	992,66	1,49	991,17	1,47	989,70	1,43	988,27	1,41	986,86	1,38	985,48	1,36	984,12	1,34	982,78	1,33	981,45	1,31	980,14	1,30	978,84	1,29						
	0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38							
36°	993,84	1,53	992,31	1,49	990,82	1,47	989,35	1,43	987,92	1,41	986,51	1,38	985,13	1,37	983,76	1,34	982,42	1,34	981,08	1,31	979,77	1,31	978,46	1,29						
	0,35		0,35		0,36		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38		0,37		0,39		0,39							
37°	993,49	1,53	991,96	1,50	990,46	1,46	989,00	1,44	987,56	1,41	986,15	1,39	984,76	1,37	983,39	1,35	982,04	1,33	980,71	1,33	979,38	1,31	978,07	1,30						
	0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39							
38°	993,13	1,53	991,60	1,50	990,10	1,47	988,63	1,44	987,19	1,41	985,78	1,39	984,39	1,37	983,02	1,36	981,66	1,34	980,32	1,32	979,00	1,32	977,68	1,31						
	0,36		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,38		0,39		0,38		0,39		0,40		0,40							
39°	992,77	1,54	991,23	1,50	989,73	1,47	988,26	1,45	986,81	1,41	985,40	1,39	984,01	1,38	982,63	1,35	981,28	1,35	979,93	1,33	978,60	1,32	977,28	1,32						
	0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39		0,39		0,39		0,40		0,39		0,40		0,41							
40°	992,40	1,54	990,86	1,51	989,35	1,48	987,87	1,44	986,43	1,42	985,01	1,39	983,62	1,38	982,24	1,36	980,88	1,34	979,54	1,34	978,20	1,33	976,87	1,32						

	Grado alcohólico volumétrico en %																													
t	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21							
0	986,93	1,00	985,93	0,95	984,98	0,92	984,06	0,88	983,18	0,84	982,34	0,80	981,54	0,78	980,76	0,75	980,01	0,73	979,28	0,72	978,56	0,70	977,86	0,70						
	−0,02		−0,01		0,01		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,17							
1	986,95	1,01	985,94	0,97	984,97	0,92	984,05	0,90	983,15	0,85	982,30	0,83	981,47	0,79	980,68	0,77	979,91	0,75	979,16	0,74	978,42	0,73	977,69	0,72						
	−0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18							
2	986,96	1,02	985,94	0,98	984,96	0,94	984,02	0,91	983,11	0,88	982,23	0,84	981,39	0,81	980,58	0,79	979,79	0,77	979,02	0,76	978,26	0,75	977,51	0,74						
	0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19							
3	986,95	1,03	985,92	1,00	984,92	0,95	983,97	0,92	983,05	0,89	982,16	0,86	981,30	0,83	980,47	0,81	979,66	0,79	978,87	0,78	978,09	0,77	977,32	0,77						
	0,03		0,04		0,04		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18		0,20							
4	986,92	1,04	985,88	1,00	984,88	0,97	983,91	0,93	982,98	0,91	982,07	0,87	981,20	0,85	980,35	0,83	979,52	0,81	978,71	0,80	977,91	0,79	977,12	0,79						
	0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,22							
5	986,88	1,05	985,83	1,01	984,82	0,98	983,84	0,95	982,89	0,92	981,97	0,89	981,08	0,87	980,21	0,84	979,37	0,83	978,54	0,82	977,72	0,82	976,90	0,80						
	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,13		0,14		0,17		0,19		0,21		0,22							
6	986,83	1,06	985,77	1,03	984,74	0,99	983,75	0,96	982,79	0,94	981,85	0,90	980,95	0,88	980,07	0,87	979,20	0,85	978,35	0,84	977,51	0,83	976,68	0,83						
	0,08		0,09		0,09		0,10		0,12		0,13		0,15		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23							
7	986,75	1,07	985,68	1,03	984,65	1,00	983,65	0,98	982,67	0,95	981,72	0,92	980,80	0,89	979,91	0,89	979,02	0,86	978,16	0,86	977,30	0,85	976,45	0,85						
	0,08		0,09		0,11		0,13		0,13		0,14		0,15		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25							
8	986,67	1,08	985,59	1,05	984,54	1,02	983,52	0,98	982,54	0,96	981,58	0,93	980,65	0,92	979,73	0,90	978,83	0,88	977,95	0,88	977,07	0,87	976,20	0,87						
	0,10		0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,26							
9	986,57	1,09	985,48	1,06	984,42	1,02	983,40	1,00	982,40	0,98	981,42	0,95	980,47	0,93	979,54	0,92	978,62	0,89	977,73	0,90	976,83	0,89	975,94	0,89						
	0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,17		0,18		0,20		0,20		0,23		0,24		0,26							
10	986,46	1,10	985,36	1,06	984,30	1,04	983,26	1,02	982,24	0,99	981,25	0,96	980,29	0,95	979,34	0,92	978,42	0,92	977,50	0,91	976,59	0,91	975,68	0,91						
	0,12		0,13		0,14		0,16		0,16		0,17		0,19		0,20		0,23		0,25		0,27		0,29							
11	986,34	1,11	985,23	1,07	984,16	1,06	983,10	1,02	982,08	1,00	981,08	0,98	980,10	0,96	979,14	0,95	978,19	0,94	977,25	0,93	976,32	0,93	975,39	0,92						
	0,13		0,14		0,16		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,25		0,27		0,28							
12	986,21	1,12	985,09	1,09	984,00	1,06	982,94	1,04	981,90	1,01	980,89	1,00	979,89	0,97	978,92	0,97	977,95	0,95	977,00	0,95	976,05	0,94	975,11	0,95						
	0,15		0,16		0,16		0,18		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,26		0,28		0,30							
13	986,06	1,13	984,93	1,09	983,84	1,08	982,76	1,05	981,71	1,02	980,69	1,01	979,68	0,99	978,69	0,98	977,71	0,97	976,74	0,97	975,77	0,96	974,81	0,96						
	0,16		0,16		0,18		0,18		0,20		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,28		0,30							
14	985,90	1,13	984,77	1,11	983,66	1,08	982,58	1,07	981,51	1,04	980,47	1,02	979,45	1,00	978,45	1,00	977,45	0,98	976,47	0,98	975,49	0,98	975,51	0,98						
	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22		0,24		0,25		0,26		0,28		0,30		0,32							
15	985,73	1,14	984,59	1,12	983,47	1,09	982,38	1,08	981,30	1,05	960,25	1,04	979,21	1,01	978,20	1,01	977,19	1,00	976,19	1,00	975,19	1,00	974,19	1,00						
	0,18		0,19		0,20		0,22		0,22		0,24		0,24		0,27		0,28		0,30		0,31		0,32							
16	985,55	1,15	984,40	1,13	983,27	1,11	982,16	1,08	981,08	1,07	980,01	1,04	978,97	1,04	977,93	1,02	976,91	1,02	975,89	1,01	974,88	1,01	973,87	1,02						
	0,19		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,29		0,30		0,32		0,33							
17	985,36	1,16	984,20	1,14	983,06	1,12	981,94	1,09	980,85	1,08	979,77	1,06	978,71	1,05	977,66	1,04	976,62	1,03	975,59	1,03	974,56	1,02	973,54	1,04						
	0,21		0,22		0,22		0,23		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,35							
18	985,15	1,17	983,98	1,14	982,84	1,13	981,71	1,11	980,60	1,09	979,51	1,07	978,44	1,06	977,38	1,05	976,33	1,05	975,28	1,04	974,24	1,05	973,19	1,05						
	0,21		0,22		0,24		0,24		0,25		0,26		0,28		0,29		0,31		0,32		0,34		0,35							
19	984,94	1,18	983,76	1,16	982,60	1,13	981,47	1,12	980,35	1,10	979,25	1,09	978,16	1,07	977,09	1,07	976,02	1,06	974,96	1,06	973,90	1,06	972,84	1,06						
	0,23		0,24		0,24		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,36							
20	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08						

	Grado alcohólico volumétrico en %																													
t	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21							
20°	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08						
	0,24		0,24		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,33		0,34		0,36		0,37							
21°	984,47	1,19	983,28	1,18	982,10	1,15	980,95	1,14	978,81	1,12	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,10	975,38	1,09	974,29	1,09	973,20	1,09	972,11	1,09						
	0,24		0,26		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,35		0,36		0,37							
22°	984,23	1,21	983,02	1,18	981,84	1,17	980,67	1,15	979,52	1,13	978,39	1,12	977,27	1,12	976,15	1,10	975,05	1,11	973,94	1,10	972,84	1,10	971,74	1,12						
	0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,35		0,37		0,39							
23°	983,97	1,20	982,77	1,20	981,57	1,18	980,39	1,16	979,23	1,15	978,08	1,13	976,95	1,13	975,82	1,12	974,70	1,11	973,59	1,12	972,47	1,12	972,47	1,12						
	0,27		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,37		0,38		0,40							
24°	983,70	1,22	982,48	1,20	981,28	1,18	980,10	1,17	978,93	1,16	977,77	1,15	976,62	1,13	975,49	1,14	974,35	1,13	973,22	1,13	972,09	1,14	970,95	1,14						
	0,28		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40							
25°	983,42	1,22	982,20	1,21	980,99	1,20	979,79	1,18	978,61	1,17	977,44	1,15	976,29	1,15	975,14	1,15	973,99	1,14	972,85	1,15	971,70	1,15	970,55	1,16						
	0,28		0,30		0,31		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,41							
26°	983,14	1,24	981,90	1,22	980,68	1,20	979,48	1,19	978,29	1,18	977,11	1,17	975,94	1,16	974,78	1,16	973,62	1,16	972,46	1,16	971,30	1,16	970,14	1,17						
	0,30		0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,38		0,39		0,40		0,42							
27°	982,84	1,24	981,60	1,23	980,37	1,21	979,16	1,20	977,96	1,19	976,77	1,18	975,59	1,17	974,42	1,18	973,24	1,17	972,07	1,17	970,90	1,18	969,72	1,18						
	0,31		0,32		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,38		0,38		0,40		0,41		0,43							
28°	982,53	1,25	981,28	1,23	980,05	1,22	978,83	1,21	977,62	1,20	976,42	1,19	975,23	1,19	974,04	1,18	972,86	1,19	971,67	1,18	970,49	1,20	969,29	1,20						
	0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,40		0,40		0,42		0,43							
29°	982,22	1,26	980,96	1,24	979,72	1,23	978,49	1,22	977,27	1,21	976,06	1,20	974,86	1,20	973,66	1,20	972,46	1,19	971,27	1,20	970,07	1,21	968,86	1,22						
	0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,40		0,41		0,43		0,44		0,45							
30°	981,90	1,27	980,63	1,25	979,38	1,24	978,14	1,23	976,91	1,22	975,69	1,21	974,48	1,22	973,26	1,21	972,05	1,21	970,84	1,21	969,63	1,22	968,41	1,23						
	0,34		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,40		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45							
31°	981,56	1,27	980,29	1,26	979,03	1,25	977,78	1,24	976,54	1,23	975,31	1,23	974,08	1,22	972,86	1,22	971,64	1,22	970,42	1,23	969,19	1,23	967,96	1,24						
	0,35		0,36		0,36		0,37		0,38		0,39		0,39		0,40		0,42		0,43		0,44		0,46							
32°	981,21	1,28	979,93	1,26	978,67	1,26	977,41	1,25	976,16	1,24	974,92	1,23	973,69	1,23	972,46	1,24	971,22	1,23	969,99	1,24	968,75	1,25	967,50	1,25						
	0,35		0,35		0,37		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42		0,42		0,44		0,45		0,46							
33°	980,86	1,28	979,58	1,28	978,30	1,26	977,04	1,26	975,78	1,25	974,53	1,24	973,29	1,25	972,04	1,24	970,80	1,25	969,55	1,25	968,30	1,26	967,04	1,27						
	0,36		0,37		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,46		0,47							
34°	980,50	1,29	979,21	1,28	977,93	1,27	976,66	1,27	975,39	1,26	974,13	1,25	972,88	1,26	971,62	1,25	970,37	1,26	969,11	1,27	967,84	1,27	966,57	1,29						
	0,36		0,37		0,38		0,39		0,39		0,40		0,42		0,42		0,44		0,46		0,46		0,48							
35°	980,14	1,30	978,84	1,29	977,55	1,28	976,27	1,27	975,00	1,27	973,73	1,27	972,46	1,26	971,20	1,27	969,93	1,28	968,65	1,27	967,38	1,29	966,09	1,30						
	0,37		0,38		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,45		0,47		0,48							
36°	979,77	1,31	978,46	1,29	977,17	1,29	975,88	1,28	974,60	1,28	973,32	1,28	972,04	1,28	970,76	1,28	969,48	1,28	968,20	1,29	966,91	1,30	965,61	1,32						
	0,39		0,39		0,40		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,47		0,48		0,49							
37°	978,38	1,31	978,07	1,30	976,77	1,29	975,48	1,29	974,19	1,29	972,90	1,29	971,61	1,29	970,32	1,29	969,03	1,30	967,73	1,30	966,43	1,31	965,12	1,33						
	0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,47		0,49		0,50							
38°	979,00	1,32	977,68	1,31	976,37	1,30	975,07	1,30	973,77	1,30	972,47	1,30	971,17	1,30	969,87	1,30	968,57	1,31	967,26	1,32	965,94	1,32	964,62	1,34						
	0,40		0,40		0,41		0,42		0,42		0,43		0,44		0,45		0,47		0,48		0,49		0,50							
39°	978,60	1,32	977,28	1,32	975,96	1,31	974,65	1,30	973,35	1,31	972,04	1,31	970,73	1,31	969,42	1,32	968,10	1,32	966,78	1,33	965,45	1,33	964,12	1,36						
	0,40		0,41		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,47		0,48		0,49		0,51							
40°	978,20	1,33	976,87	1,32	975,55	1,32	974,23	1,31	972,92	1,32	971,60	1,32	970,28	1,32	968,96	1,33	967,63	1,33	966,30	1,34	964,96	1,35	963,61	1,37						

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

	Grado alcohólico volumétrico en %																																					
t°	20			21			22			23			24			25			26			27			28			29			30			31		
20	973,56	1,08		972,48	1,08		971,40	1,09		970,31	1,10		969,21	1,11		968,10	1,14		966,96	1,15		965,81	1,17		964,64	1,20		963,44	1,23		962,21	1,26		960,95	1,29	
		0,36			0,37			0,38			0,40			0,42			0,44			0,45			0,46			0,49			0,50			0,52			0,53		
21	973,20	1,09	0,36	972,11	1,09	0,37	971,02	1,11	0,40	969,91	1,12	0,41	968,79	1,13	0,42	967,66	1,15	0,44	966,51	1,16	0,45	965,35	1,20	0,48	964,15	1,21	0,49	962,94	1,25	0,51	961,69	1,27	0,52	960,42	1,31	0,54		
22	972,84	1,10	0,37	971,74	1,12	0,39	970,62	1,12	0,40	969,50	1,13	0,42	968,37	1,15	0,43	967,22	1,16	0,45	966,06	1,19	0,47	964,87	1,21	0,48	963,66	1,23	0,49	962,43	1,26	0,51	961,17	1,29	0,53	959,88	1,32	0,55		
23	972,47	1,12	0,38	971,35	1,13	0,40	970,22	1,14	0,41	969,08	1,14	0,42	967,94	1,17	0,44	966,77	1,18	0,45	965,59	1,20	0,47	964,39	1,22	0,49	963,17	1,25	0,51	961,92	1,28	0,52	960,64	1,31	0,54	959,33	1,33	0,55		
24	972,09	1,14	0,39	970,95	1,14	0,40	969,81	1,15	0,42	968,66	1,16	0,43	967,50	1,18	0,45	966,32	1,20	0,47	965,12	1,22	0,48	963,90	1,24	0,49	962,66	1,26	0,51	961,40	1,30	0,53	960,10	1,32	0,54	958,78	1,35	0,55		
25	971,70	1,15		970,55	1,16		969,39	1,16		968,23	1,18		967,05	1,20		965,85	1,21		964,64	1,23		963,41	1,26		962,15	1,28		960,87	1,31		959,56	1,33		958,23	1,37	
		0,40			0,41			0,42			0,44			0,46			0,47			0,49			0,50			0,51			0,53			0,54			0,57		
26	971,30	1,16	0,40	970,14	1,17	0,42	968,97	1,18	0,43	967,79	1,20	0,45	966,59	1,21	0,46	965,38	1,23	0,48	964,15	1,24	0,49	962,91	1,27	0,51	961,64	1,30	0,53	960,34	1,32	0,54	959,02	1,36	0,56	957,66	1,38	0,56		
27	970,90	1,18	0,41	969,72	1,18	0,43	968,54	1,20	0,45	967,34	1,21	0,46	966,13	1,23	0,47	964,90	1,24	0,48	963,66	1,26	0,50	962,40	1,29	0,52	961,11	1,31	0,54	959,80	1,34	0,56	958,46	1,36	0,57	957,10	1,40	0,59		
28	970,49	1,20	0,42	969,29	1,20	0,43	968,09	1,21	0,45	966,88	1,22	0,47	965,66	1,24	0,49	964,42	1,26	0,50	963,16	1,28	0,52	961,88	1,31	0,53	960,57	1,33	0,55	959,24	1,35	0,56	957,89	1,38	0,58	956,51	1,41	0,58		
29	970,07	1,21	0,44	968,86	1,22	0,45	967,64	1,23	0,46	966,41	1,24	0,47	965,17	1,25	0,49	963,92	1,28	0,50	962,64	1,29	0,51	961,35	1,31	0,53	960,04	1,35	0,55	958,69	1,36	0,58	957,33	1,40	0,58	955,93	1,42	0,58		
30	969,63	1,22		968,41	1,23		967,18	1,24		965,94	1,26		964,68	1,26		963,42	1,29		962,13	1,31		960,82	1,33		959,49	1,35		958,14	1,39		956,75	1,40		955,35	1,44	
		0,44			0,45			0,46			0,48			0,49			0,51			0,52			0,53			0,55			0,57			0,58			0,60		
31	969,19	1,23	0,44	967,96	1,24	0,46	966,72	1,26	0,47	965,46	1,27	0,48	964,19	1,28	0,50	962,91	1,30	0,51	961,61	1,32	0,53	960,29	1,35	0,54	958,94	1,37	0,55	957,57	1,40	0,57	956,17	1,42	0,58	954,75	1,44	0,59		
32	968,75	1,25	0,45	967,50	1,25	0,46	966,25	1,27	0,48	964,98	1,29	0,49	963,69	1,29	0,50	962,40	1,32	0,52	961,08	1,33	0,53	959,75	1,36	0,55	958,39	1,39	0,57	957,00	1,41	0,57	955,59	1,43	0,59	954,16	1,46	0,61		
33	968,30	1,26	0,46	967,04	1,27	0,47	965,77	1,28	0,49	964,49	1,30	0,50	963,19	1,31	0,51	961,88	1,33	0,53	960,55	1,35	0,54	959,20	1,38	0,56	957,82	1,39	0,56	956,43	1,43	0,59	955,00	1,45	0,59	953,55	1,47	0,60		
34	967,84	1,27	0,46	966,57	1,29	0,48	965,28	1,29	0,49	963,99	1,31	0,51	962,68	1,33	0,52	961,35	1,34	0,53	960,01	1,37	0,55	958,64	1,38	0,56	957,26	1,42	0,58	955,84	1,43	0,58	954,41	1,46	0,60	952,95	1,49	0,62		
35	967,38	1,29		966,09	1,30		964,79	1,31		963,48	1,32		962,16	1,34		960,82	1,36		959,46	1,38		958,08	1,40		956,68	1,42		955,26	1,45		953,81	1,48		952,33	1,50	
		0,47			0,48			0,50			0,51			0,53			0,54			0,55			0,57			0,58			0,60			0,61			0,62		
36	966,91	1,30	0,48	965,61	1,32	0,49	964,29	1,32	0,50	962,97	1,34	0,52	961,63	1,35	0,53	960,28	1,37	0,55	958,91	1,40	0,56	957,51	1,41	0,57	956,10	1,44	0,59	954,66	1,46	0,60	953,20	1,49	0,61	951,71	1,51	0,62		
37	966,43	1,31	0,49	965,12	1,33	0,50	963,79	1,34	0,51	962,45	1,35	0,52	961,10	1,37	0,54	959,73	1,38	0,55	958,35	1,41	0,57	956,94	1,43	0,58	955,51	1,45	0,59	954,06	1,47	0,60	952,59	1,50	0,62	951,09	1,53	0,63		
38	965,94	1,32	0,49	964,62	1,34	0,50	963,28	1,35	0,52	961,93	1,37	0,53	960,56	1,38	0,54	959,18	1,40	0,56	957,78	1,42	0,57	956,36	1,44	0,58	954,92	1,46	0,60	953,46	1,49	0,61	951,97	1,51	0,62	950,46	1,54	0,64		
39	965,45	1,33	0,49	964,12	1,36	0,51	962,76	1,36	0,52	961,40	1,38	0,54	960,02	1,40	0,55	958,62	1,41	0,56	957,21	1,43	0,58	955,78	1,46	0,59	954,32	1,47	0,60	952,85	1,50	0,62	951,35	1,53	0,63	949,82	1,55	0,64		
40	964,96	1,35		963,61	1,37		962,24	1,38		960,86	1,39		959,47	1,41		958,06	1,43		956,63	1,44		955,19	1,47		953,72	1,49		952,23	1,51		950,72	1,54		949,18	1,57	

TABLA II

GRADO ALCOHÓLICO INTERNACIONAL A 20 °C

Tabla de correcciones a efectuar sobre el grado alcohólico aparente para corregir la acción de la temperatura

Sumar o restar al grado alcohólico aparente a t ° (alcohómetro en vidrio ordinario) la corrección indicada en esta tabla

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

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

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

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

TABLA III

GRADO ALCOHÓLICO INTERNACIONAL A 20 °C

Tabla de masas volúmicas aparentes de mezclas hidroalcohólicas. Aparatos en vidrio ordinario

Masas volúmicas a t ° corregidas del empuje del aire

	Grado alcohólico volumétrico en %																							
t°	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
0	999,34	1,52	997,82	1,45	996,37	1,39	994,98	1,35	993,63	1,29	992,34	1,24	991,10	1,18	989,92	1,15	988,77	1,09	987,68	1,05	986,63	1,00	985,63	0,96
	−0,09		−0,09		−0,09		−0,08		−0,08		−0,08		−0,07		−0,05		−0,05		−0,04		−0,03		−0,02	
1	999,43	1,52	997,91	1,45	996,46	1,40	995,06	1,35	993,71	1,29	992,42	1,25	991,17	1,20	989,97	1,15	988,82	1,10	987,72	1,06	986,66	1,01	985,65	0,97
	−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,05		−0,05		−0,04		−0,03		−0,02		−0,02		−0,01	
2	999,49	1,52	997,97	1,40	996,52	1,40	995,12	1,35	993,77	1,30	992,47	1,25	991,22	1,21	990,01	1,16	988,85	1,11	987,74	1,06	986,68	1,02	985,66	0,98
	−0,05		−0,05		−0,04		−0,04		−0,04		−0,04		−0,03		−0,03		−0,03		−0,02		0,00		0,01	
3	999,54	1,52	998,02	1,46	996,56	1,40	995,16	1,35	993,81	1,30	992,51	1,26	991,25	1,21	990,04	1,16	988,88	1,12	987,76	1,08	986,68	1,03	985,65	0,99
	−0,03		−0,03		−0,03		−0,03		−0,02		−0,02		−0,02		−0,01		0,00		0,01		0,01		0,02	
4	999,57	1,52	998,05	1,46	996,59	1,40	995,19	1,36	993,83	1,30	992,53	1,26	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,13	987,75	1,08	986,67	1,04	985,63	1,00
	−0,02		−0,02		−0,02		−0,02		−0,02		−0,01		0,00		0,00		0,00		0,01		0,02		0,03	
5	999,59	1,52	998,07	1,46	996,61	1,40	995,21	1,36	993,85	1,31	992,54	1,27	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,14	987,74	1,09	986,65	1,05	985,60	1,02
	0,00		0,00		0,00		0,01		0,01		0,01		0,01		0,02		0,03		0,03		0,04		0,06	
6	999,59	1,52	998,07	1,46	996,61	1,41	995,20	1,36	993,84	1,31	992,53	1,27	991,26	1,23	990,03	1,18	988,85	1,14	987,71	1,10	986,61	1,07	985,54	1,02
	0,01		0,01		0,01		0,01		0,01		0,02		0,02		0,02		0,03		0,04		0,05		0,06	
7	999,58	1,52	998,06	1,46	996,60	1,41	995,19	1,36	993,83	1,32	992,51	1,27	991,24	1,23	990,01	1,19	988,82	1,15	987,67	1,11	986,56	1,08	985,48	1,04
	0,03		0,03		0,03		0,03		0,04		0,04		0,05		0,05		0,06		0,07		0,07		0,08	
8	999,55	1,52	998,03	1,46	996,57	1,41	995,16	1,37	993,79	1,32	992,47	1,28	991,19	1,23	989,96	1,20	988,76	1,16	987,60	1,11	986,49	1,09	985,40	1,05
	0,04		0,04		0,04		0,04		0,04		0,04		0,05		0,06		0,06		0,06		0,08		0,08	
9	999,51	1,52	997,99	1,46	996,53	1,41	995,12	1,37	993,75	1,32	992,43	1,29	991,14	1,24	989,90	1,20	988,70	1,16	987,54	1,13	986,41	1,09	985,32	1,06
	0,06		0,06		0,06		0,06		0,06		0,07		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,11	
10	999,45	1,52	997,93	1,46	996,47	1,41	995,06	1,37	993,69	1,33	992,36	1,29	991,07	1,24	989,83	1,21	988,62	1,17	987,45	1,14	986,31	1,10	985,21	1,07
	0,07		0,06		0,06		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,10		0,11	
11	999,38	1,51	997,87	1,46	996,41	1,42	994,99	1,37	993,62	1,33	992,29	1,29	991,00	1,25	989,75	1,22	988,53	1,18	987,35	1,14	986,21	1,11	985,10	1,08
	0,09		0,09		0,09		0,09		0,09		0,09		0,10		0,11		0,11		0,11		0,12		0,13	
12	999,29	1,51	997,78	1,46	996,32	1,42	994,90	1,37	993,53	1,33	992,20	1,30	990,90	1,26	989,64	1,22	988,42	1,18	987,24	1,15	986,09	1,12	984,97	1,09
	0,09		0,09		0,09		0,09		0,10		0,10		0,10		0,10		0,11		0,12		0,13		0,14	
13	999,20	1,51	997,69	1,46	996,23	1,42	994,81	1,38	993,43	1,33	992,10	1,30	990,80	1,26	989,54	1,23	988,31	1,19	987,12	1,16	985,96	1,13	984,83	1,10
	0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,12		0,12		0,13		0,13		0,14		0,15		0,16	
14	999,09	1,51	997,58	1,46	996,12	1,42	994,70	1,38	993,32	1,34	991,98	1,30	990,68	1,27	989,41	1,23	988,18	1,20	986,98	1,17	985,81	1,14	984,67	1,11
	0,12		0,12		0,12		0,12		0,12		0,12		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16	
15	998,97	1,51	997,46	1,46	996,00	1,42	994,58	1,38	993,20	1,34	991,86	1,31	990,55	1,27	989,28	1,24	988,04	1,20	986,84	1,18	985,66	1,15	984,51	1,12
	0,13		0,13		0,13		0,13		0,14		0,14		0,14		0,15		0,15		0,17		0,17		0,18	
16	998,84	1,51	997,33	1,46	995,87	1,42	994,45	1,39	993,06	1,34	991,72	1,31	990,41	1,28	989,13	1,24	987,89	1,22	986,67	1,18	985,49	1,16	984,33	1,13
	0,14		0,14		0,14		0,14		0,14		0,15		0,15		0,15		0,16		0,17		0,17		0,18	
17	998,70	1,51	997,19	1,46	995,73	1,42	994,31	1,39	992,92	1,35	991,57	1,31	990,26	1,28	988,98	1,25	987,73	1,22	986,50	1,18	985,32	1,17	984,15	1,14
	0,15		0,15		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,19	
18	998,55	1,51	997,04	1,47	995,57	1,42	994,15	1,39	992,76	1,35	991,41	1,32	990,09	1,28	988,81	1,26	987,55	1,23	986,32	1,19	985,13	1,17	983,96	1,15
	0,17		0,16		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21	
19	998,38	1,50	996,88	1,47	995,41	1,42	993,99	1,39	992,60	1,35	991,25	1,33	989,92	1,29	988,63	1,26	987,37	1,24	986,13	1,20	984,93	1,18	983,75	1,16
	0,18		0,18		0,18		0,18		0,19		0,19		0,19		0,20		0,21		0,22		0,22		0,23	
20	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17

	Grado alcohólico volumétrico en %																							
t°	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
20	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17
	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,21		0,22		0,23		0,23	
21	998,01	1,50	996,51	1,47	995,04	1,42	993,62	1,40	992,22	1,36	990,86	1,33	989,53	1,31	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,22	984,48	1,19	983,29	1,17
	0,20		0,20		0,19		0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24	
22	987,81	1,50	996,31	1,46	994,85	1,43	993,42	1,40	992,02	1,36	990,66	1,34	989,32	1,31	988,01	1,28	986,73	1,25	985,48	1,23	984,25	1,20	983,05	1,18
	0,21		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,25	
23	997,60	1,50	996,10	1,46	994,64	1,43	993,21	1,40	991,81	1,37	990,44	1,34	989,10	1,31	987,79	1,29	986,50	1,26	985,24	1,23	984,01	1,21	982,80	1,19
	0,21		0,21		0,22		0,22		0,22		0,22		0,23		0,23		0,23		0,24		0,25		0,26	
24	997,39	1,50	995,89	1,47	994,42	1,43	992,99	1,40	991,59	1,37	990,22	1,35	988,87	1,31	987,56	1,29	986,27	1,27	985,00	1,24	983,76	1,22	982,54	1,20
	0,23		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,25		0,25		0,26		0,27	
25	997,16	1,50	995,66	1,47	994,19	1,43	992,76	1,41	991,35	1,37	989,98	1,35	988,63	1,32	987,31	1,29	986,02	1,27	984,75	1,25	983,50	1,23	982,27	1,21
	0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,27		0,27		0,28	
26	996,93	1,50	995,43	1,47	993,96	1,44	992,52	1,41	991,11	1,37	989,74	1,35	988,39	1,33	987,06	1,30	985,76	1,28	984,48	1,25	983,23	1,24	981,99	1,22
	0,25		0,25		0,25		0,25		0,25		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,29	
27	996,68	1,50	995,18	1,47	993,71	1,44	992,27	1,41	990,86	1,38	989,48	1,35	988,13	1,33	986,80	1,31	985,49	1,29	984,20	1,26	982,94	1,24	981,70	1,23
	0,25		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,28		0,28		0,29		0,30	
28	996,43	1,50	994,93	1,48	993,45	1,44	992,01	1,41	990,60	1,38	989,22	1,36	987,86	1,34	986,52	1,31	985,21	1,29	983,92	1,27	982,65	1,25	981,40	1,23
	0,26		0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31	
29	996,17	1,51	994,66	1,48	993,18	1,44	991,74	1,41	990,33	1,39	988,94	1,36	987,58	1,34	986,24	1,32	984,92	1,29	983,63	1,28	982,35	1,26	981,09	1,24
	0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,28		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,32	
30	995,90	1,51	994,39	1,48	992,91	1,45	991,46	1,41	990,05	1,39	988,66	1,37	987,29	1,34	985,95	1,32	984,63	1,30	983,33	1,29	982,04	1,27	980,77	1,25
	0,29		0,29		0,29		0,29		0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,32		0,32		0,32	
31	995,61	1,51	994,10	1,48	992,62	1,45	991,17	1,42	989,75	1,39	988,36	1,37	986,99	1,35	985,64	1,33	984,31	1,30	983,01	1,29	981,72	1,27	980,45	1,26
	0,29		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,34	
32	995,32	1,51	993,81	1,48	992,33	1,45	990,88	1,42	989,45	1,40	988,05	1,37	986,68	1,35	985,33	1,33	984,00	1,31	982,69	1,30	981,39	1,28	980,11	1,26
	0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,33		0,34		0,34	
33	995,02	1,52	993,50	1,48	992,02	1,45	990,57	1,43	989,14	1,40	987,74	1,37	986,37	1,36	985,01	1,34	983,67	1,31	982,36	1,31	981,05	1,28	979,77	1,27
	0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35	
34	994,72	1,53	993,19	1,48	991,71	1,45	990,26	1,43	988,83	1,41	987,42	1,38	986,04	1,36	984,68	1,34	983,34	1,32	982,02	1,31	980,71	1,29	979,42	1,28
	0,32		0,32		0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35	
35	994,40	1,53	992,87	1,48	991,39	1,46	989,93	1,43	988,50	1,41	987,09	1,38	985,71	1,36	984,35	1,34	983,01	1,33	981,68	1,31	980,37	1,30	979,07	1,29
	0,32		0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37	
36	994,08	1,53	992,55	1,49	991,06	1,46	989,60	1,43	988,17	1,41	986,76	1,39	985,37	1,36	984,01	1,35	982,66	1,33	981,33	1,32	980,01	1,31	978,70	1,29
	0,33		0,34		0,34		0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37	
37	993,75	1,54	992,21	1,49	990,72	1,46	989,26	1,44	987,82	1,41	986,41	1,39	985,02	1,37	983,65	1,35	982,30	1,33	980,97	1,32	979,65	1,32	978,33	1,30
	0,34		0,34		0,35		0,36		0,36		0,36		0,36		0,36		0,37		0,38		0,38		0,38	
38	993,41	1,54	991,87	1,50	990,37	1,47	988,90	1,44	987,46	1,41	986,05	1,39	984,66	1,37	983,29	1,36	981,93	1,34	980,59	1,32	979,27	1,32	977,95	1,31
	0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,39	
39	993,06	1,54	991,52	1,51	990,01	1,47	988,54	1,44	987,10	1,41	985,68	1,39	984,29	1,37	982,92	1,36	981,56	1,34	980,22	1,33	978,89	1,33	977,56	1,31
	0,35		0,36		0,36		0,37		0,38		0,38		0,38		0,38		0,38		0,39		0,39		0,39	
40	992,71	1,55	991,16	1,51	989,65	1,48	988,17	1,45	986,72	1,42	985,30	1,39	983,91	1,37	982,54	1,36	981,18	1,35	979,83	1,33	978,50	1,33	977,17	1,32

	Grado alcohólico volumétrico en %																							
t	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
0	986,63	1,00	985,63	0,96	984,67	0,92	983,75	0,87	982,88	0,84	982,04	0,81	981,23	0,77	980,46	0,75	979,71	0,73	978,98	0,72	978,26	0,70	977,56	0,70
	−0,03		−0,02		−0,01		0,00		0,02		0,04		0,05		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15	
1	986,66	1,01	985,65	0,97	984,68	0,93	983,75	0,89	982,86	0,86	982,00	0,82	981,18	0,79	980,39	0,77	979,62	0,75	978,87	0,74	978,13	0,72	977,41	0,72
	−0,02		−0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,06		0,08		0,10		0,12		0,14		0,17	
2	986,68	1,02	985,66	0,98	984,68	0,94	983,74	0,91	982,83	0,87	981,96	0,84	981,12	0,81	980,31	0,79	979,52	0,77	978,75	0,76	977,99	0,75	977,24	0,74
	0,00		0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
3	986,68	1,03	985,65	0,99	984,66	0,96	983,70	0,92	982,78	0,88	981,90	0,86	981,04	0,83	980,21	0,81	979,40	0,79	978,61	0,78	977,83	0,77	977,06	0,76
	0,01		0,02		0,03		0,04		0,05		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
4	986,67	1,04	985,63	1,00	984,63	0,97	983,66	0,93	982,73	0,90	981,83	0,87	980,96	0,85	980,11	0,83	979,28	0,81	978,47	0,80	977,67	0,79	976,88	0,79
	0,02		0,03		0,05		0,06		0,08		0,09		0,11		0,13		0,14		0,16		0,18		0,20	
5	986,65	1,05	985,60	1,02	984,58	0,98	983,60	0,95	982,65	0,91	981,74	0,89	980,85	0,87	979,98	0,84	979,14	0,83	978,31	0,82	977,49	0,81	976,68	0,81
	0,04		0,06		0,06		0,07		0,08		0,10		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19		0,21	
6	986,61	1,07	985,54	1,02	984,52	0,99	983,53	0,96	982,57	0,93	981,64	0,90	980,74	0,89	979,85	0,86	978,99	0,85	978,14	0,84	977,30	0,83	976,47	0,83
	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,20		0,22	
7	986,56	1,08	985,48	1,04	984,44	1,00	983,44	0,97	982,47	0,95	981,52	0,92	980,60	0,90	979,70	0,88	978,82	0,87	977,95	0,85	977,10	0,85	976,25	0,85
	0,07		0,08		0,09		0,10		0,11		0,12		0,14		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23	
8	986,49	1,09	985,40	1,05	984,35	1,01	983,34	0,98	982,36	0,96	981,40	0,94	980,46	0,92	979,54	0,90	978,64	0,88	977,76	0,87	976,89	0,87	976,02	0,87
	0,08		0,08		0,09		0,11		0,13		0,14		0,15		0,16		0,18		0,20		0,22		0,24	
9	986,41	1,09	985,32	1,06	984,26	1,03	983,23	1,00	982,23	0,97	981,26	0,95	980,31	0,93	979,38	0,92	978,48	0,90	977,56	0,89	976,67	0,89	975,78	0,89
	0,10		0,11		0,12		0,13		0,14		0,16		0,17		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25	
10	986,31	1,10	985,21	1,07	984,14	1,04	983,10	1,01	982,09	0,99	981,10	0,96	980,14	0,94	979,20	0,93	978,27	0,92	977,35	0,91	976,44	0,91	975,53	0,91
	0,10		0,11		0,12		0,13		0,15		0,16		0,17		0,19		0,21		0,23		0,25		0,27	
11	986,21	1,11	985,10	1,08	984,02	1,05	982,97	1,03	981,94	1,00	980,94	0,97	979,97	0,96	979,01	0,95	978,06	0,94	977,12	0,93	976,19	0,93	975,26	0,92
	0,12		0,13		0,14		0,15		0,16		0,17		0,19		0,21		0,22		0,24		0,26		0,27	
12	986,09	1,12	984,97	1,09	983,88	1,06	982,82	1,04	981,78	1,01	980,77	0,99	979,78	0,98	978,80	0,96	977,84	0,96	976,88	0,95	975,93	0,94	974,99	0,94
	0,13		0,14		0,15		0,16		0,17		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,26		0,28	
13	985,96	1,13	984,83	1,10	983,73	1,07	982,66	1,05	981,61	1,03	980,58	1,00	979,58	0,99	978,59	0,98	977,61	0,97	976,64	0,97	975,67	0,96	974,71	0,96
	0,15		0,16		0,17		0,18		0,19		0,20		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,29	
14	985,81	1,14	984,67	1,11	983,56	1,08	982,48	1,06	981,42	1,04	980,38	1,02	979,36	1,00	978,36	0,99	977,37	0,99	976,38	0,98	975,40	0,98	974,42	0,98
	0,15		0,16		0,17		0,18		0,19		0,20		0,22		0,24		0,26		0,27		0,28		0,30	
15	985,66	1,15	984,51	1,12	983,39	1,09	982,30	1,07	981,23	1,05	980,18	1,04	979,14	1,02	978,12	1,01	977,11	1,00	976,11	0,99	975,12	1,00	974,12	1,00
	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22		0,23		0,25		0,26		0,28		0,30		0,31	
16	985,49	1,16	984,33	1,13	983,20	1,10	982,10	1,08	981,02	1,06	979,96	1,05	978,91	1,04	977,87	1,02	976,85	1,02	975,83	1,01	974,82	1,01	973,81	1,02
	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,25		0,27		0,29		0,30		0,31	
17	985,32	1,17	984,15	1,14	983,01	1,11	981,90	1,09	980,81	1,08	979,73	1,06	978,67	1,05	977,62	1,04	976,58	1,04	975,54	1,02	974,52	1,02	973,50	1,04
	0,19		0,19		0,20		0,22		0,24		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,33	
18	985,13	1,17	983,96	1,15	982,81	1,13	981,68	1,11	980,57	1,09	979,48	1,07	978,41	1,06	977,35	1,05	976,30	1,05	975,25	1,04	974,21	1,04	973,17	1,05
	0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,25		0,26		0,27		0,29		0,30		0,32		0,34	
19	984,93	1,18	983,75	1,16	982,59	1,14	981,45	1,12	980,33	1,10	979,23	1,08	978,15	1,07	977,08	1,07	976,01	1,06	974,94	1,05	973,89	1,06	972,83	1,06
	0,22		0,23		0,24		0,24		0,25		0,26		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,35	
20	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08

	Grado alcohólico volumétrico en %																							
t	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
20°	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
	0,23		0,23		0,23		0,25		0,26		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36	
21°	984,48	1,19	983,29	1,17	982,12	1,16	980,96	1,14	979,82	1,13	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,09	975,39	1,09	974,30	1,09	973,21	1,09	972,12	1,09
	0,23		0,24		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36	
22	984,25	1,20	983,05	1,18	981,97	1,17	980,70	1,15	979,55	1,14	978,41	1,12	977,29	1,12	976,17	1,10	975,07	1,10	973,97	1,10	972,86	1,10	971,76	1,11
	0,24		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,35		0,37	
23	984,01	1,21	982,80	1,19	981,61	1,18	980,43	1,16	979,27	1,15	978,12	1,13	976,99	1,13	975,86	1,12	974,74	1,11	973,63	1,12	972,51	1,12	971,39	1,13
	0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,38	
24	983,76	1,22	982,54	1,20	981,34	1,19	980,15	1,17	978,98	1,16	977,82	1,14	976,68	1,14	975,54	1,13	974,41	1,13	973,28	1,13	972,15	1,14	971,01	1,14
	0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,38		0,39	
25	983,50	1,23	982,27	1,21	981,06	1,20	979,86	1,18	978,68	1,17	977,51	1,16	976,36	1,15	975,21	1,15	974,06	1,14	972,92	1,15	971,77	1,15	970,62	1,15
	0,27		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,35		0,37		0,38		0,39	
26	983,23	1,24	981,99	1,22	980,77	1,20	979,57	1,19	978,38	1,18	977,20	1,17	976,03	1,16	974,87	1,16	973,71	1,16	972,55	1,16	971,39	1,16	970,23	1,17
	0,29		0,29		0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,36		0,37		0,38		0,39		0,41	
27	982,94	1,24	981,70	1,23	980,47	1,21	979,26	1,20	978,06	1,19	976,87	1,18	975,69	1,18	974,51	1,17	973,34	1,17	972,17	1,17	921,00	1,18	969,82	1,18
	0,29		0,30		0,30		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,38		0,39		0,40		0,41	
28	982,65	1,25	981,40	1,23	980,17	1,22	978,95	1,21	977,74	1,20	976,54	1,20	975,34	1,19	974,15	1,19	972,96	1,18	971,78	1,18	970,60	1,19	969,41	1,20
	0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42	
29	982,35	1,26	981,09	1,24	979,85	1,23	978,62	1,22	977,40	1,21	976,19	1,21	974,98	1,20	973,78	1,20	972,58	1,19	971,39	1,19	970,20	1,21	968,99	1,21
	0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,38		0,40		0,42		0,43	
30	982,04	1,27	980,77	1,25	979,52	1,24	978,28	1,23	977,05	1,22	975,83	1,21	974,62	1,21	973,41	1,21	972,20	1,21	970,99	1,21	969,78	1,22	968,56	1,23
	0,32		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42		0,43	
31	981,72	1,27	980,45	1,26	979,19	1,25	977,94	1,24	976,70	1,23	975,47	1,22	974,25	1,22	973,03	1,22	971,81	1,22	970,59	1,23	969,36	1,23	968,13	1,24
	0,33		0,34		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45	
32	981,39	1,28	980,11	1,26	978,85	1,26	977,59	1,25	976,34	1,24	975,10	1,23	973,87	1,23	972,64	1,23	971,41	1,24	970,17	1,24	968,93	1,25	967,68	1,26
	0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,45	
33	981,05	1,28	979,77	1,27	978,50	1,26	977,24	1,26	975,78	1,25	974,73	1,25	973,48	1,24	972,24	1,24	971,00	1,25	969,75	1,25	968,50	1,27	967,23	1,27
	0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,45		0,45	
34	980,71	1,29	979,42	1,28	978,14	1,27	976,87	1,27	975,60	1,26	974,34	1,26	973,08	1,25	971,83	1,25	970,58	1,26	969,32	1,27	968,05	1,27	966,78	1,29
	0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,43		0,44		0,45		0,47	
35	980,37	1,30	979,07	1,29	977,78	1,28	976,50	1,28	975,22	1,27	973,95	1,27	972,68	1,26	971,42	1,27	970,15	1,27	968,88	1,28	967,60	1,29	966,31	1,30
	0,36		0,37		0,37		0,38		0,38		0,39		0,40		0,42		0,43		0,44		0,45		0,47	
36	980,01	1,31	978,70	1,29	977,41	1,29	976,12	1,28	974,84	1,28	973,56	1,28	972,28	1,28	971,00	1,28	969,72	1,28	968,44	1,29	967,15	1,31	965,84	1,31
	0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,47	
37	979,65	1,32	978,33	1,30	977,03	1,30	975,73	1,29	974,44	1,29	973,15	1,29	971,86	1,29	970,57	1,29	969,28	1,29	967,99	1,30	966,69	1,32	965,37	1,32
	0,38		0,38		0,39		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,46		0,47		0,48	
38	979,27	1,32	977,95	1,31	976,64	1,30	975,34	1,30	974,04	1,30	972,74	1,30	971,44	1,30	970,14	1,30	968,84	1,31	967,53	1,31	966,22	1,33	964,89	1,34
	0,38		0,39		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,48		0,49	
39	978,89	1,33	977,56	1,31	976,25	1,31	974,94	1,31	973,63	1,31	972,32	1,31	971,01	1,31	969,70	1,31	968,39	1,32	967,07	1,33	965,74	1,34	964,40	1,36
	0,39		0,39		0,40		0,41		0,42		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,50	
40	978,50	1,33	977,17	1,32	975,85	1,32	974,53	1,32	973,21	1,31	971,90	1,32	970,58	1,33	969,25	1,33	967,92	1,33	966,59	1,34	965,25	1,35	963,90	1,37

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

	Grado alcohólico volumétrico en %																															
t°	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31									
20°	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,13	966,97	1,16	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29								
	0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49		0,50		0,52									
21°	973,21	1,09	972,12	1,09	971,03	1,11	969,92	1,11	968,81	1,13	967,68	1,15	966,53	1,17	965,36	1,19	964,17	1,22	962,95	1,24	961,71	1,28	960,43	1,31								
	0,35		0,36		0,38		0,39		0,41		0,43		0,44		0,46		0,48		0,49		0,51		0,52									
22	972,86	1,10	971,76	1,11	970,65	1,12	969,53	1,13	968,40	1,15	967,25	1,16	966,09	1,19	964,90	1,21	963,69	1,23	962,46	1,26	961,20	1,29	959,91	1,32								
	0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,50		0,52		0,53									
23	972,51	1,12	971,39	1,13	970,26	1,13	969,13	1,15	967,98	1,16	966,82	1,18	965,64	1,20	964,44	1,23	963,21	1,25	961,96	1,28	960,68	1,30	959,38	1,33								
	0,36		0,38		0,39		0,41		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54									
24	972,15	1,14	971,01	1,14	969,87	1,15	968,72	1,16	967,56	1,18	966,38	1,20	965,18	1,22	963,96	1,24	962,72	1,27	961,45	1,29	960,16	1,32	958,84	1,34								
	0,38		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,46		0,48		0,50		0,51		0,53		0,54									
25	971,77	1,15	970,62	1,15	969,47	1,17	968,30	1,18	967,12	1,19	965,93	1,21	964,72	1,24	963,48	1,26	962,22	1,28	960,94	1,31	959,63	1,33	958,30	1,36								
	0,38		0,39		0,41		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55									
26	971,39	1,16	970,23	1,17	969,06	1,18	967,88	1,20	966,68	1,21	965,47	1,23	964,24	1,25	962,99	1,27	961,72	1,30	960,42	1,32	959,10	1,35	957,75	1,38								
	0,39		0,41		0,42		0,44		0,45		0,46		0,48		0,50		0,51		0,52		0,53		0,55									
27	971,00	1,18	969,82	1,18	968,64	1,20	967,44	1,21	966,23	1,22	965,01	1,25	963,76	1,27	962,49	1,28	961,21	1,31	959,90	1,33	958,57	1,37	957,20	1,40								
	0,40		0,41		0,43		0,44		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56									
28	970,60	1,19	969,41	1,20	968,21	1,21	967,00	1,23	965,77	1,24	964,53	1,26	963,27	1,28	961,99	1,30	960,69	1,32	959,37	1,35	958,02	1,38	956,64	1,41								
	0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,54		0,55		0,56									
29	970,20	1,21	968,99	1,21	967,78	1,23	966,55	1,24	965,31	1,26	964,05	1,27	962,78	1,29	961,49	1,32	960,17	1,34	958,83	1,36	957,47	1,39	956,08	1,43								
	0,42		0,43		0,45		0,46		0,47		0,48		0,50		0,52		0,53		0,54		0,56		0,58									
30	969,78	1,22	968,56	1,23	967,33	1,24	966,09	1,25	964,84	1,27	963,57	1,29	962,28	1,31	960,97	1,33	959,64	1,35	958,29	1,38	956,91	1,41	955,50	1,44								
	0,42		0,43		0,44		0,45		0,47		0,49		0,51		0,52		0,53		0,55		0,56		0,58									
31	969,36	1,23	968,13	1,24	966,89	1,25	965,64	1,27	964,37	1,29	963,08	1,31	961,77	1,32	960,45	1,34	959,11	1,37	957,74	1,39	956,35	1,43	954,92	1,45								
	0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,50		0,51		0,52		0,54		0,56		0,57		0,58									
32	968,93	1,25	967,68	1,25	966,43	1,27	965,16	1,28	963,88	1,30	962,58	1,32	961,26	1,33	959,93	1,36	958,57	1,39	957,18	1,40	955,78	1,44	954,34	1,47								
	0,43		0,45		0,47		0,48		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,56		0,58		0,59									
33	968,50	1,27	967,23	1,27	965,96	1,28	964,68	1,30	963,38	1,31	962,07	1,33	960,74	1,35	959,39	1,37	958,02	1,40	956,62	1,42	955,20	1,45	953,75	1,48								
	0,45		0,45		0,47		0,49		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,56		0,58		0,60									
34	968,05	1,27	966,78	1,29	965,49	1,30	964,19	1,31	962,88	1,32	961,56	1,34	960,22	1,37	958,85	1,38	957,47	1,41	956,06	1,44	954,62	1,47	953,15	1,49								
	0,45		0,47		0,48		0,49		0,50		0,52		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59		0,60									
35	967,60	1,29	996,31	1,30	965,01	1,31	963,70	1,32	962,38	1,34	961,04	1,36	959,68	1,38	958,30	1,40	956,90	1,42	955,48	1,45	954,03	1,48	952,55	1,50								
	0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,55		0,57		0,59		0,60		0,61									
36	967,15	1,31	965,84	1,31	964,53	1,32	963,21	1,34	961,87	1,36	960,51	1,37	959,14	1,39	957,75	1,42	956,33	1,44	954,89	1,46	953,43	1,49	951,94	1,51								
	0,46		0,47		0,48		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56		0,57		0,58		0,60		0,61									
37	966,69	1,32	965,37	1,32	964,05	1,34	962,71	1,36	961,35	1,37	959,98	1,39	958,59	1,40	957,19	1,43	955,76	1,45	954,31	1,48	952,83	1,50	951,33	1,52								
	0,47		0,48		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59		0,60		0,61									
38	966,22	1,33	964,89	1,34	963,55	1,35	962,20	1,37	960,83	1,39	959,44	1,40	958,04	1,42	956,62	1,44	955,18	1,46	953,72	1,49	952,23	1,51	950,72	1,54								
	0,48		0,49		0,51		0,52		0,53		0,54		0,56		0,57		0,58		0,60		0,61		0,62									
39	965,74	1,34	964,40	1,36	963,04	1,36	961,68	1,38	960,30	1,40	958,90	1,42	957,48	1,43	956,05	1,45	954,60	1,48	953,12	1,50	951,62	1,52	950,10	1,55								
	0,49		0,50		0,51		0,53		0,54		0,55		0,56		0,58		0,60		0,61		0,62		0,64									
40	965,25	1,35	963,90	1,37	962,53	1,38	961,15	1,39	959,76	1,41	958,35	1,43	956,92	1,45	955,47	1,47	954,00	1,49	952,51	1,51	951,00	1,54	949,49	1,56								

TABLA IV

Tabla de correspondencia entre los índices de refracción a 20 °C y los grados alcohólicos a 20 °C de las mezclas hidroalcohólicas puras y de destilados

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

4. EXTRACTO SECO TOTAL

Materias secas totales

1. DEFINICIÓN

El extracto seco total o materias secas totales es el conjunto de todas las substancias que no se volatilizan en determinadas condiciones físicas. Estas condiciones físicas deben establecerse de tal forma que las substancias que componen el extracto sufran el mínimo de alteraciones.

El extracto no reductor es el extracto seco total menos los azúcares totales.

El extracto reducido es el extracto seco total menos los azúcares totales que exceden de 1 g/l, el sulfato potásico que exceda de 1 g/l, el manitol, si lo hubiere, y todas las substancias químicas que se hayan añadido al vino.

El resto del extracto el el extracto no reductor menos la acidez fija expresada en ácido tartárico.

El extracto se expresa en gramos por litro y debe determinarse con una aproximación de 0,5 g.

2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Método único: método densimétrico.

El extracto seco total se calcula indirectamente a partir del valor de la densidad *del mosto y, tratándose de vino, a partir de la densidad del vino desalcoholizado.*

Este extracto se expresa como la cantidad de sacarosa que, disuelta en una cantidad de agua suficiente para obtener un litro, da una solución con la misma densidad que el mosto o que el residuo del vino sin alcohol. En la tabla I figura esa cantidad.

3. PROCEDIMIENTO

La densidad relativa d_{20}^{20} del vino desalcoholizado (d_r) se calcula mediante la fórmula:

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

donde d_v = densidad relativa del vino a 20 °C (corregida la acidez volátil) (1);

d_a = densidad relativa a 20 °C de la mezcla hidroalcohólica del mismo grado alcohólico que el vino.

Puede asimismo calcularse d_r a partir de las masas volúmicas a 20 °C, ρ_v del vino y ρ_a de la mezcla hidroalcohólica del mismo grado, mediante la fórmula:

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

donde el coeficiente 1,0018 puede prácticamente asimilarse a 1 cuando ρ_v sea inferior a 1,05, siendo este caso el más frecuente.

4. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Llevar la densidad d_{r20}^{20} del vino desalcoholizado o la densidad d_{20}^{20} del mosto de uva a la tabla I para obtener el peso de extracto seco total en gramos por litro.

Este peso se expresará con 1 decimal.

El peso del extracto seco total se expresa en g/l con 1 decimal.

(1) Antes de hacer este cálculo, la densidad relativa (o la masa volúmica) del vino, medida como se indica anteriormente, debe ser corregida de la acción de la acidez volátil según la fórmula:
$d_v = d_{20}^{20} - 0{,}0000086\,a$ ó $\rho_v = \rho_{20} - 0{,}0000086\,a$ siendo a la cantidad de acidez volátil en miliequivalentes por litro.

TABLA I

para el cálculo del contenido en extracto seco total (g/l)

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

Tabla intercalar

4ª decimal de la densidad relativa	Gramos de extracto por litro	4ª decimal de la densidad relativa	Gramos de extracto por litro	4ª decimal de la densidad relativa	Gramos de extracto por litro
1	0,3	4	1,0	7	1,8
2	0,5	5	1,3	8	2,1
3	0,8	6	1,6	9	2,3

5. **Azúcares reductores**

1. DEFINICIÓN

Los azúcares reductores están constituidos por el conjunto de los azúcares con función cetónica o aldehídica determinados por su acción reductora sobre la solución cupro-alcalina.

2. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

2.1. **Defecación**

2.1.1. Método de referencia: paso del vino neutralizado y sin alcohol por una columna intercambiadora donde sus aniones son cambiados por iones acúticos, seguido de la defecación por acetato neutro de plomo.

2.1.2. Métodos usuales: se trata el vino con uno de los reactivos siguientes:

2.1.2.1. Acetato neutro de plomo

2.1.2.2. Ferrocianuro de cinc

2.2. **Determinación**

2.2.1. Método único: después de hacer reaccionar el vino o el mosto defecado con una cantidad determinada de solución cupro-alcalina, se determina el exceso de iones cúpricos por yodometría.

3. DEFECACIÓN

El líquido en el que se van a determinar los azúcares debe presentar un contenido en azúcares comprendido entre 0,5 y 5 g/l.

Si el vino es seco, hay que evitar diluirlo durante la defecación; si es dulce, hay que diluirlo mientras se le defeca, para conseguir un contenido en azúcares comprendido entre dichos límites, según el cuadro adjunto:

Denominación	Contenido en azúcares comprendidos entre (g/l)	Masa volúmica comprendida entre	Dilución que se prevé (%)
Mostos y mistelas	> 125	> 1,038	1
Vinos dulces alcoholizados o no	25 y 125	1,005 y 1,038	4
Vinos semisecos	5 y 25	0,997 y 1,005	20
Vinos secos	menos de 5	< 0,997	sin dilución

3.1. **Método de referencia**

3.1.1. *Reactivos*

3.1.1.1. Solución de ácido clorhídrico (Cl H), 1 M

3.1.1.2. Solución de hidróxido de sodio (Na OH), 1 M

3.1.1.3. Solución de ácido acético (CH_3 COOH), 4 M

3.1.1.4. Solución de hidróxido de sodio (Na OH), 2 M

3.1.1.5. Resina intercambiadora de aniones [tipo Dowex 3 (20 – 50 mallas) o una resina equivalente].

Preparación de la columna de resina intercambiadora de aniones. En el fondo de la bureta, se coloca un pequeño tapón de lana de vidrio y 15 ml de resina intercambiadora de aniones (3.1.1.5).

Para poder utilizar la resina, se la somete a dos ciclos completos de regeneración, pasando alternativamente soluciones M de ácido clorhídrico (3.1.1.1) y de hidróxido de sodio (3.1.1.2). Después de lavar con 50 ml de agua destilada, se pasa la resina a un vaso cilíndrico, se añaden 50 ml de solución 4 M de ácido acético (3.1.1.3) y se agita durante 5 minutos. Se vuelve a llenar la bureta y se hacen pasar a través de la columna 100 ml de solución 4 M de ácido acético (3.1.1.3). (Es preferible tener una reserva de resina conservada en un frasco lleno de solución 4 M de ácido acético.) Se lava la columna con agua destilada hasta que el eluido sea neutro.

Regeneración de la resina. Se hacen pasar 150 ml de solución 2 M de hidróxido sódico para eliminar los ácidos y gran parte de la materia colorante fijada en la resina. Se lava con 100 ml de solución 4 M de ácido acético. Se lava la columna hasta que el eluido sea neutro.

3.1.1.6. Solución de acetato neutro de plomo (aproximadamente saturada):

Acetato neutro de plomo $Pb(CH_3COO)_2, 3H_2O$	250 g
Agua muy caliente csp.	500 ml

Agitar hasta dilución.

3.1.1.7. Carbonato de calcio, $CaCO_3$

3.1.2. *Procedimiento*

3.1.2.1. Vinos secos

Se ponen 50 ml de vino en un vaso de precipitado de 10 a 12 cm de diámetro, aproximadamente, y se añaden ½ (n − 0,5) ml de solución M de hidróxido de sodio (3.1.1.2) (siendo n el volumen de una solución 0,1 M de hidróxido de sodio utilizado para la determinación de la acidez total de 10 ml de vino). Se evapora sobre un baño de agua hirviendo, proyectando una corriente de aire caliente hasta que el líquido se reduzca, aproximadamente, a 20 ml.

Hacer pasar este líquido a través de una columna de resina intercambiadora de aniones en forma de acetato (3.1.1.5), a razón de 3 ml cada 2 minutos. El eluido se recoge en un matraz aforado de 100 ml. Lavar 6 veces el vaso y la columna con 10 ml de agua destilada, añadir, agitando, 2,5 ml de solución saturada de acetato de plomo (3.1.1.6) y 0,5 g de carbonato de calcio (3.1.1.7); agitar varias veces y dejar reposar durante al menos 15 minutos; enrasar con agua. Filtrar.

1 ml de este filtrado corresponde a 0,5 ml de vino.

3.1.2.2. Mostos, mistelas, vinos dulces y vinos semisecos

1. *Mostos y mistelas*

   Diluir al 10 % el líquido que debe analizarse; tomar 10 ml de dicha solución.

2. *Vinos dulces, alcoholizados o no,* cuya masa volúmica esté comprendida entre 1,005 y 1,038. Tomar 20 ml del líquido que deba analizarse, previamente diluido al 20 %.

3. *Vinos semisecos,* cuya masa volúmica esté comprendida entre 0,997 y 1,005. Tomar 20 ml de vino sin diluir.

   Hacer pasar el volumen de vino o de mosto indicado anteriormente a través de una columna intercambiadora de aniones en forma de acetato, a razón de 3 ml cada 2 minutos. Recoger el eluido en un matraz aforado de 100 ml, lavar la columna con agua hasta obtener, aproximadamente, 90 ml de eluido. Añadir 0,5 g de carbonato cálcico, 1 ml de acetato de plomo en solución saturada; agitar y dejar reposar durante al menos 15 minutos, agitando de vez en cuando; enrasar con agua. Filtrar.

   Primer caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,01 ml de mosto o de mistela.

   Segundo caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,04 ml de vino dulce.

   Tercer caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,20 ml de vino semiseco.

3.2. **Métodos usuales**

3.2.1. *Defecación con acetato neutro de plomo*

3.2.1.1. Reactivos

Solución de acetato neutro de plomo (aproximadamente saturada) (véase 3.1.1).

Carbonato de calcio.

3.2.1.2. Procedimiento

3.2.1.2.1. *Vinos secos*

Se ponen 50 ml de vino en un matraz aforado de 100 ml y se añade 1/2 (n – 0,5) ml de solución M de hidróxido de sodio, sea n el volumen de solución 0,1 M utilizada para determinar la acidez total de 10 ml de vino. Añadir, agitando, 2,5 ml de solución saturada de acetato de plomo (3.1.1.6) y 0,5 g de carbonato cálcico (3.1.1.7); agitar varias veces y dejar reposar al menos 15 minutos; enrasar con agua y filtrar.

1 ml de este filtrado corresponde a 0,5 ml de vino.

3.2.1.2.2. *Mostos, mistelas, vinos dulces y vinos semisecos*

En un matraz aforado de 100 ml, colocar un volumen de vino (o de mosto o de mistela) así definido; las diluciones que figuran a continuación se dan a título indicativo:

1. *Mostos y mistelas:*

   diluir al 10 % el líquido que deba analizarse. Tomar 10 ml de esta solución.

2. *Vinos dulces, alcoholizados o no,* cuya masa volúmica esté comprendida entre 1,005 y 1,038. Tomar 20 ml de líquido que deba analizarse previamente diluido al 20 %.

3. *Vinos semisecos,* cuya masa volúmica esté comprendida entre 0,997 y 1,005. Tomar 20 ml de vino sin diluir.

   Añadir 0,5 g de carbonato de calcio, 60 ml de agua aproximadamente, y 0,5 – 1 o 2 ml de acetato de plomo en solución saturada; agitar y dejar reposar durante al menos 15 minutos, agitando de vez en cuando. Enrasar con agua y filtrar.

   Primer caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,01 ml de mosto o mistela.

   Segundo caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,04 ml de vino dulce.

   Tercer caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,20 ml de vino semiseco.

3.2.2. *Defecación con hexacianoferrato (II) de cinc*

Dicho procedimiento de defecación sólo deberá utilizarse para los vinos blancos, vinos dulces poco coloreados y mostos.

3.2.2.1. Reactivos

3.2.2.1.1. *Solución I de hexacianoferrato (II) de potasio*

Hexacianoferrato (II) de potasio [K_4 Fe $(CN)_6$,$3H_2O$]	150 g
Agua csp	1000 ml

3.2.2.1.2. *Solución II de sulfato de cinc:*

Sulfato de cinc (Zn $SO_4 \cdot 7\ H_2O$)	300 g
Agua csp	1000 ml

3.2.2.2. Procedimiento

En un matraz aforado de 100 ml, poner un volumen de vino (o de mosto o de mistela) así definido; las diluciones que figuran a continuación se dan a título indicativo:

1. *Mostos y mistelas:*

   diluir al 10 % el líquido que deba analizarse, tomar 10 ml de dicha solución.

2. *Vinos dulces, alcoholizados o no,* cuya masa volúmica esté comprendida entre 1,005 y 1,038. Tomar 20 ml de líquido que deba analizarse previamente diluido al 20 %.

3. *Vinos semisecos,* cuya masa volúmica esté comprendida entre 0,997 y 1,005. Tomar 20 ml de vino sin diluir.

4. *Vinos secos.* Tomar 50 ml de vino sin diluir.

   Añadir 5 ml de solución I de hexacianoferrato (II) de potasio (3.2.2.1.1) y 5 ml de solución II de sulfato de cinc (3.2.2.1.2). Mezclar. Enrasar con agua, esperar 10 minutos y filtrar.

   Primer caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,01 ml de mosto o de mistela.

   Segundo caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,04 ml de vino dulce.

   Tercer caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,20 ml de vino semiseco.

   Cuarto caso: 1 ml de filtrado corresponde a 0,50 ml de vino seco.

4. DETERMINACIÓN

4.1. **Reactivos**

4.1.1. *Solución cupro-alcalina:*

Sulfato de cobre puro ($CuSO_4 . 5 H_2O$)	25 g
Ácido cítrico ($C_6 H_8 O_7 . H_2O$)	50 g
Carbonato de sodio cristalizado ($Na_2 CO_3 . 10 H_2O$)	388 g
Agua csp	1000 ml

Disolver el sulfato de cobre en 100 ml de agua, el ácido citrico en 300 ml de agua y el carbonato de sodio en 300 a 400 ml de agua caliente. Mezclar la solución de ácido cítrico y la de carbonato de sodio. Añadir después la solución de sulfato de cobre y llevar hasta un litro.

4.1.2. *Solución de yoduro de potasio al 30 %:*

Yoduro de potasio (KI)	30 g
Agua csp	100 ml

Conservar en un frasco de vidrio topacio.

4.1.3. *Ácido sulfúrico al 25 %:*

Ácido sulfúrico puro (H_2SO_4) ρ 20 = 1,84 g/ml	25 g
Agua csp	100 ml

Verter el ácido en el agua, dejar enfriar y llevar hasta 100 ml.

4.1.4. *Engrudo de almidón de 5 g/l:*

Disolver 5 g de almidón en 500 ml de agua aproximadamente. Llevar a ebullición agitando y mantenerla durante 10 min.; añadir 200 g de cloruro sódico (Cl Na). Llevar hasta un litro una vez que haya enfriado.

— Tiosulfato de sodio, solución 0,1 M

— Solución de azúcar invertido de 5 g/l:
esta solución debe utilizarse para verificar la técnica de la determinación.

En un matraz aforado de 200 ml. se echa:

Sacarosa pura ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	4,75 g
Agua, aproximadamente	100 ml
Ácido clorhídrico puro (ClH) ρ 20 = 1,16 – 1,19 g/ml)	5 ml

Poner el matraz al baño de agua a 60 ° C durante tiempo suficiente para que la temperatura de la solución alcance 50 ° C, temperatura que se matendrá durante 15 min. Dejar después que el matraz se enfríe durante 30 min.; seguidamente, enfriarlo por inmersión en un baño de agua fría. Se pasa a un matraz aforado de 1 litro y se enrasa. Esta solución se conserva (esta solución tiene una acidez de 0,06 M, aproximadamente), con una solución de hidróxido sódico.

4.2. **Procedimiento**

En un erlenmeyer de 300 ml, poner 25 ml de solución cupro-alcalina, 15 ml de agua y 10 ml de solución de defecación. Este volumen de solución azucarada no debe contener más de 60 mg de azúcar invertido.

Añadir algunos granos de piedra pómez. Acoplar al erlenmeyer un refrigerante de reflujo y llevar a ebullición, que deberá alcanzarse en 2 min. Mantener la ebullición durante 10 min. exactamente.

Enfriar inmediatamente bajo un chorro de agua fría. Una vez que se haya enfriado completamente, añadir 10 ml de la solución de yoduro de potasio al 30 % (4.1.2), 25 ml de ácido sulfúrico al 25 % (4.1.3) y 2 ml de engrudo de almidón (4.1.4).

Valorar con la solución 0,1 M de tiosulfato de sodio (4.1.5). Sea n el número de mililitros utilizados.

Por otro lado, realizar una determinación testigo en la que los 10 ml de solución azucarada se sustituyen por 10 ml de agua destilada. Sea n' el volumen de tiosulfato empleado.

4.3. **Expresión de los resultados**

4.3.1. *Cálculos*

La cantidad de azúcar, expresada en azúcar invertido, contenida en la muestra se da en la tabla adjunta en función del número n' — n de mililitros de tiosulfato utilizados.

Expresar el contenido del vino en gramos de azúcar invertido por litro con 1 decimal, teniendo en cuenta las diluciones efectuadas durante la defecación y el volumen de la muestra.

4.3.2. *Repetibilidad*

$r = 0{,}015\ x_i$

x_i = concentración del azúcar invertido en g/l de la muestra

4.3.3. *Reproductibilidad*

$R = 0{,}058\ x_i$

x_i = concentración del azúcar invertido en g/l de la muestra

Tabla de correspondencia entre el volumen de solución 0,1 M de tiosulfato de sodio: (n' – n) ml, y la cantidad de azúcares reductores en mg

$Na_2S_2O_3$ (ml 0,1 M)	Azúcares reductores (mg)	Diferencia	$Na_2S_2O_3$ (ml 0,1 M)	Azúcares reductores (mg)	Diferencia
1	2,4	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,6	18	47,2	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	
12	30,3	2,7			

6. SACAROSA

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

I. Método de detección cualitativa por cromatografía en capa fina. La sacarosa se separa de los otros azúcares por cromatografía en capa fina, con placas de celulosa y se revela con el reactivo urea — ácido clorhídrico en estufa a 105 ° C.

II. Método de detección y determinación por cromatografía líquida de alta resolución. La sacarosa se separa mediante una columna de sílice con alquilamina y se detecta por refractometría. para calcular la cantidad, se establece una comparación con un patrón externo analizado en las mismas condiciones.

Notas:

La autenticidad de un mosto o de un vino puede controlarse mediante el método de RMN del deuterio, descrito para la detección del enriquecimiento de mostos, de mostos concentrados rectificados y de vinos.

Para la investigación y la dosificación de la sacarosa la cromatografía en fase gaseosa descrita en el capítulo 42 letra f) puede igualmente ser utilizada.

2. MÉTODO DE DETECCIÓN CUALITATIVA POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

2.1. **Material**

2.1.1. Placas para cromatografía de capa fina de celulosa (véase 2.2.3).

2.1.2. *Cubeta de cromatografía*

2.1.3. *Jeringa micrométrica o micropipeta*

2.1.4. *Estufa regulable a 105 ° C ± 2 ° C*

2.2. **Reactivos**

2.2.1. *Carbón activo*

2.2.2. *Fase móvil:* cloruro de metileno — ácido acético (ρ_{20} = 1,05 g/ml) — etanol — metanol — agua (50 : 25 : 9 : 6 : 10).

2.2.3. *Revelador:*

Urea	5 g
Ácido clorhídrico 2 M	20 ml
Etanol	100 ml

2.2.4. *Solución de referencia*

Glucosa	35 g
Fructosa	35 g
Sacarosa	0,5 g
Agua csp	1000 ml

2.3. *Procedimiento*

2.3.1. *Preparación de la muestra*

Cuando el mosto o el vino tenga mucho color, la decoloración se hará mediante tratamiento con carbón activo.

Tratándose de mosto concentrado rectificado, se utilizará la solución cuyo contenido en azúcares sea del 25 % (m/m) (25 ° Brix), preparada tal como se indica en el punto 4.1.2 del

método «Determinación del pH», y se diluirá añadiendo agua a 25 ml de esta solución en un matraz aforado hasta alcanzar 100 ml.

2.3.2. *Obtención del cromatograma*

Depositar a 2,5 cm del borde inferior de la placa:

— 10 µl de la muestra

— 10 µl de la solución de referencia.

Colocar la placa en la cubeta previamente saturada por los vapores de la fase móvil, y dejar ascender el líquido hasta 1 cm del borde superior. Retirar la placa de la cubeta, secarla con corriente de aire caliente. Repetir dos veces la migración secando la placa cada vez. Pulverizar uniformemente la placa con 15 ml de revelador y mantenerla en la estufa a 105 ° C durante 5 minutos.

2.4. **Resultados**

La sacarosa y la fructosa aparecen bajo forma de manchas de color azul oscuro sobre fondo blanco; la glucosa da una mancha verdosa menos intensa.

3. MÉTODO DE DETECCIÓN Y DETERMINACIÓN POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Las condiciones cromatográficas se dan solo a título indicativo.

3.1. **Material**

3.1.1. *Cromatógrafo de fase líquida de alta resolución dotado de:*

1. Inyector con loop de 10 µl;
2. Detector refractómetro diferencial o refractómetro interferómetro;
3. Columna grupo AMINO (25 cm de longitud por 4 mm de diámetro interno);
4. Precolumna de la misma fase;
5. Un dispositivo para mantener aislado o a la misma temperatura (30 ° C) el conjunto formado por la precolumna y la columna.
6. Un registrador o, en su caso, un integrador.
7. Flujo de la fase móvil: 1 ml/min.

3.1.2. *Dispositivo de filtración por membrana (0,45 µm)*

3.2. **Reactivos**

3.2.1. *Agua bidestilada*

3.2.2. *Acetonitrilo (CH_3CN) de calidad HPLC*

3.2.3. *Fase móvil: acetonitrilo-agua, previamente filtrados por membrana (0,45 µm), (80 — 20 v/v).*

Antes de su utilización se deberá desgasificar.

3.2.4. *Solución de referencia:* solución acuosa de sacarosa de 1,2 g/l. Filtrada por membrana (0,45 µm).

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Preparación de la muestra*

— Vinos y mostos.
Filtrar por membrana (0,45 µm).

— Mostos concentrados rectificados. Utilizar la solución obtenida diluyendo el mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v), tal como se indica en el punto 5.1.2 del método «Acidez total», y filtrarla por membrana (0,45 µm).

3.3.2. *Determinación cromatográfica*

Inyectar sucesivamente en el cromatógrafo 10 µl de la solución de referencia y 10 µl de la muestra preparada como se indica en el punto 3.3.1. Repetir las inyecciones en el mismo orden.

Registrar el cromatograma.

El tiempo de retención de la sacarosa es de unos 10 minutos.

3.4. **Cálculos**

Utilizar para el cálculo el promedio de 2 resultados de la solución de referencia y de la muestra.

3.4.1. *Vinos y mostos*

Calcular el contenido en gramos por litro.

3.4.2. *Mostos concentrados rectificados*

Sea C g/l el contenido en sacarosa de la solución de mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v).

Contenido en sacarosa en gramos por kilogramo de mosto concentrado rectificado: 2,5 . C

3.5. **Expresión de los resultados**

El contenido en sacarosa de los vinos, mostos y mostos concentrados rectificados se expresa en gramos por litro (vinos y mostos) y en gramos por kilogramo (mostos concentrados rectificados) con 1 decimal.

7. GLUCOSA Y FRUCTOSA

1. DEFINICIÓN

La glucosa y la fructosa pueden determinarse por separado mediante un método enzimático, con vistas únicamente a calcular la relación glucosa/fructosa.

2. FUNDAMENTO

Se fosforila la glucosa y la fructosa con adenosín-trifostato (ATP) mediante una reacción enzimática catalizada por la hexokinasa (HK), dando como resultado glucosa-6-fosfato (G6P) y fructosa-6-fosfato (F6P):

$$\text{glucosa} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{HK}} \text{G6P} + \text{ADP}$$

$$\text{fructosa} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{HK}} \text{F6P} + \text{ADP}$$

En un primer momento, la glucosa-6-fosfato se oxida a gluconato-6-fosfato mediante la nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato (NADP) en presencia de la enzima glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PDH). La cantidad de nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato reducida (NADPH) que se origina corresponde a la cantidad de glucosa-6-fosfato y, por lo tanto, a la de glucosa.

$$\text{G6P} + \text{NADP}^+ \xrightleftharpoons{\text{G6PDH}} \text{gluconato-6-fosfato} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

La nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato reducida se determina por su absorción a 340 nm.

Una vez finalizada esta reacción, la fructosa-6-fosfato se transforma en glucosa-6-fosfato por la acción de la fosfoglucosa-isomerasa (PGI)

$$\text{F6P} \xrightleftharpoons{\text{PGI}} \text{G6P}$$

La glucosa-6-fosfato reacciona nuevamente con la nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato para dar gluconato-6-fosfato y nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato reducida, determinándose esta última.

3. APARATOS

— Espectrofotómetro que permita efectuar medidas a 340 nm, máximo de absorción del NADPH. Por tratarse de medidas absolutas (no existe curva de calibrado, sino referencia al coeficiente de extinición del NADPH), deben controlarse las escalas de las longitudes de onda y de las absorbancias del aparato.

  En su defecto, utilizar un espectrofotómetro de espectro discontinuo que permita efectuar medidas a 334 nm o 365 nm.

— Cubetas de vidrio de 1 cm de recorrido óptico o cubetas de uso único.

— Pipetas para ensayos enzimáticos de 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 ml.

4. REACTIVOS

4.1. **Solución 1:** tampón (trietanolamina 0,3 M; pH = 7,6; 4 10^{-3} M Mg^{2+}): se disuelven 11,2 g de clorhidrato de trietanolamina $(C_2H_5)_3N \cdot HCL$) y 0,2 g de $Mg\,SO_4 \cdot 7\,H_2O$ en 150 ml de agua bidestilada; añadir alrededor de 4 ml de solución 5 M de hidróxido sódico (NaOH) para obtener un pH igual a 7,6 y llevar a 200 ml.

Esta solución tampón puede conservarse 4 semanas a + 4 °C.

4.2. **Solución 2:** solución de nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato (11,5 10^{-3}M aproximadamente): se disuelven 50 mg de nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato disódico en 5 ml de agua bidestilada.

Esta solución se conserva durante 4 semanas a + 4 °C.

4.3. **Solución 3:** solución de adenosin-5'-trifosfato (81 10^{-3}M, aproximadamente): se disuelven 250 mg de adenosin-5'-trifosfato disódico y 250 mg de bicarbonato de sodio (Na HCO_3) en 5 ml de agua bidestilada.

Esta solución se conserva durante 4 semanas a + 4 °C.

4.4. **Solución 4:** Hexoquinasa/glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa: mezclar 0,5 ml de hexoquinasa (2 mg de proteína/ml, es decir 280 U/ml) y 0,5 ml de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (1 mg de proteína por ml).

Esta mezcla se conserva durante un año a + 4 °C.

4.5. **Solución 5:** Fosfoglucosa-isomerasa (2 mg de proteína por ml, es decir 700 U/ml). La suspensión se utiliza sin dilución.

Conservación: un año a + 4 °C.

Nota:

El conjunto de los reactivos necesarios para esta determinación es comercializado.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. **Preparación de la muestra**

En función de la cantidad estimada de glucosa + fructosa por litro, efectuar las diluciones siguientes:

Medida a 340 nm y 334 nm	365 nm	Dilución con agua	Factor F de dilución
hasta 0,4 g/l	0,8 g/l	—	—
hasta 4,0 g/l	8,0 g/l	1 + 9	10
hasta 10,0 g/l	20,0 g/l	1 + 24	25
hasta 20,0 g/l	40,0 g/l	1 + 49	50
hasta 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 99	100
por encima de 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1 000

5.2. **Determinación**

Regulando el espectrofotómetro a la longitud de onda de 340 nm, efectuar las medidas con respecto al aire (sin cubeta en el trayecto óptico) o con respecto al agua.

Temperatura, 20 a 25 °C.

En dos cubetas de 1 cm de trayecto óptico, introducir:

	Testigo	Determinación
Solución 1 (4.1) (a 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Solución 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Solución 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Muestra que va a determinarse		0,20 ml
Agua bidestilada	0,20 ml	

Mezclar y, transcurridos 3 min. aproximadamente, leer la absorbancia de las soluciones (A_1). Desencadenar la reacción, añadiendo:

Solución 4 (4.4)	0,02 ml	0,02 ml

Mezclar; esperar 15 min.; medir la absorbancia y verificar el cese de la reacción cuando hayan pasado 2 min. (A_2).

Inmediatamente, añadir:

Solución 5 (4.5)	0,02 ml	0,02 ml

Mezclar; leer al cabo de 10 min.; comprobar el cese de la reacción después de 2 min. (A_3).

Determinar las diferencias de absorbancia:

$A_2 - A_1$ correspondiente a la glucosa

$A_3 - A_2$ correspondiente a la fructosa

tanto para el testigo como para la determinación.

Deducir la diferencia de absorbancia del testigo (ΔA_T) y la de la determinación (ΔA_D) y establecer:

para la glucosa: $\Delta A_G = \Delta A_D - \Delta A_T$

para la fructosa: $\Delta A_F = \Delta A_D - \Delta A_T$

Nota:

El tiempo necesario para la acción de las enzimas puede variar de un lote a otro. Por lo que, arriba, sólo se da a título indicativo. Se recomienda determinarlo para cada lote.

5.3. **Expresión de los resultados**

5.3.1. *Cálculo*

La fórmula general para el cálculo de las concentraciones es la siguiente:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\varepsilon \cdot d \cdot v \cdot 1\,000} \Delta A \text{ (g/l)}$$

V = volumen del ensayo (ml)
v = volumen de la muestra (ml)
PM = masa molecular de la sustancia que va a determinarse
d = trayecto óptico de la cubeta (cm)
E = coeficiente de absorción del NADPH a 340 nm = 6,3 ($mmole^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)
V = 2,92 ml para la determinación de la glucosa
V = 2,94 ml para la determinación de la fructosa
v = 0,20 ml
PM = 180
d = 1.

Se obtiene:

para la glucosa: $Cg/l = 0{,}417 \cdot \Delta A_G$
para la fructosa: $Cg/l = 0{,}420 \cdot \Delta A_F$

Si al preparar la muestra se ha efectuado una dilución, multiplicar el resultado por el factor F.

Nota:

Si las medidas se han tomado a longitudes de onda de 334 o 365 nm, se obtiene:

— medida a 334 nm: E = 6,2 ($mmole^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

para la glucosa: $Cg/l = 0{,}425 \cdot \Delta A_G$
para la fructosa: $Cg/l = 0{,}428 \cdot \Delta A_F$

— medida a 365 nm: E = 3,4 ($mmole^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

para la glucosa: $Cg/l = 0{,}773 \cdot \Delta A_G$
para la fructosa: $Cg/l = 0{,}778 \cdot \Delta A_F$

5.3.2. *Repetibilidad (r)*

$r = 0{,}056\ x_i$

5.3.3. *Reproductibilidad (R)*

$R = 0{,}12 + 0{,}076\ x_i$
x_i = contenido en glucosa o fructosa en gramos por litro.

8. DETECCIÓN DEL AUMENTO DEL GRADO ALCOHÓLICO NATURAL DE MOSTOS, DE MOSTOS DE UVA CONCENTRADOS, DE MOSTOS DE UVA CONCENTRADOS RECTIFICADOS Y DE VINOS POR APLICACIÓN DE LA RESONANCIA MAGNÉTICO-NUCLEAR DEL DEUTERIO (RMN-FINS/SNIF-NMR)

1. DEFINICIÓN

Los átomos de deuterio contenidos en los azúcares y el agua de un mosto de uva se redistribuirán tras fermentación en las moléculas I, II, III y IV del vino:

$CH_2D\,CH_2\,OH$ (I) $\quad CH_3\,CHD\,OH$ (II)

$CH_3\,CH_2\,OD$ (III) $\quad HOD$ (IV)

La adición de azúcares exógenos (chaptalización) antes de la fermentación del mosto repercutirá en la redistribución del deuterio.

En comparación con los valores de los parámetros relativos de un vino testigo natural de la misma región, el aumento artificial del grado alcohólico natural con azúcar exógeno, se traducirá en las variaciones siguientes:

Vino \ Parámetros	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	$(D/H)^Q_W$	R
— natural	→	→	→	→
— adición				
— azúcar de remolacha	↘	→	→	→
— azúcar de caña	↗	→	→	↘
— azúcar de maíz	↗	→	→	↘

$(D/H)_I$: relación isotópica de la molécula I

$(D/H)_{II}$: relación isotópica en la molécula II

$(D/H)^Q_W$: relación isotópica del agua del vino.

$R = 2(D/H)_{II}/(D/H)_I$, expresa la distribución relativa del deuterio en las moléculas I y II, R se mide directamente a partir de las intensidades h de las señales, y por tanto $R = 3h_{II}/h_I$.

La medida de $(D/H)_I$ caracteriza principalmente la especie vegetal sintetizadora del azúcar y, en menor medida, la geografía del lugar de recolección (naturaleza del agua utilizada durante la fotosíntesis).

$(D/H)_{II}$ representa la climatología del lugar de producción de las uvas (naturaleza del agua de lluvia y condiciones meteorológicas) y, en menor medida, la concentración de azúcar del mosto inicial.

$(D/H)^Q_W$ representa la climatología del lugar de producción y la riqueza en azúcar del mosto inicial.

2. FUNDAMENTO

Se efectúa la determinación de los parámetros definidos anteriormente R; $(D/H)_I$; $(D/H)_{II}$ mediante RMN del deuterio en el etanol extraído del vino o de los productos de fermentación del mosto, del mosto concentrado y del mosto concentrado rectificado que se obtienen en las condiciones dadas. Se completa eventualmente la determinación estableciendo la relación isotópica del agua extraída del vino, $(D/H)^Q_W$, y la relación isotópica $13_C/12_C$ del etanol.

Para la constitución de un banco de datos comunitario:

— En el caso de los vinos, la recogida de muestra de control efectuada en las zonas de producción, deberá ir acompañada de tomas de muestra testigo naturales (al menos tres) del mismo origen (lugar geográfico y milésima); para estas diversas tomas se recogerán siempre tres muestras.

— En el caso de mostos, de mostos concentrados y de mostos concentrados rectificados, las muestras testigo (al menos 3) estarán constituidas por mostos naturales del mismo origen (lugar geográfico y milésima).

Para los controles de los productos elaborados en su propio territorio y a la espera de la constitución de un banco de datos comunitarios, los Estados miembros pueden utilizar transitoriamente un banco de datos nacionales.

3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA EL ANÁLISIS

3.1. Extracción del etanol y del agua del vino

Nota:
Se puede utilizar cualquier dispositivo de extracción, con la condición que permita recuperar entre el 98 y 98,5 % del alcohol del vino y que el título másico del destilado se encuentre entre el 92 y el 93 % masa (95 % vol).

3.1.1. *Material y reactivos*

— Aparato para la extracción del etanol (figura 1), que incluye:

  — calentador eléctrico con regulador de voltaje,

  — matraz esmerilado de 1 litro;

  — columna Cadiot de cinta helicoidal (parte móvil de teflón), por ejemplo [Prolabo, ref. 06 (730-194)],

  — matraces cónicos esmerilados de 125 ml,

  — matraces con tapón de plástico de 125 y 60 ml;

— Reactivos para la determinación del agua según la técnica de Karl Fischer (por ejemplo Merck 9241 y 9243).

3.1.2. *Procedimiento*

3.1.2.1. Determinar el grado alcohólico del vino, con una precisión superior al 0,05 % en volumen; se denominará este grado g^v.

3.1.2.2. Extracción del etanol

Introducir una muestra homogénea de 500 ml de vino de grado alcohólico g^v, en matraz del aparato de destilación con una relación de reflujo constante próxima a 0,9; para recoger el destilado; colocar un matraz cónico esmerilado de 125 ml pesado previamente. Recoger el destilado con punto de ebullición entre 78,0 y 78,2 °C, aproximadamente de 40 a 60 ml. Cuando la temperatura sobrepase los 78,5 °C, suspender la toma durante 5 minutos.

Cuando la temperatura descienda a 78 °C, volver a recoger el destilado hasta que ascienda a 78,5 °C, repitiendo esta operación hasta que la temperatura, una vez interrumpida la recogida y funcionando en circuito cerrado, no vuelva a bajar. La destilación completa dura aproximadamente 5 horas. Operando de esta manera puede recuperarse entre el 98 % y el 98,5 % del alcohol total del vino de un destilado con un grado comprendido entre 92 y 93 % masa (95 % vol) grado para el que se han establecido la condiciones de la RMN descrita, en el apartado 4.

Se pesa el etanol recuperado.

Se conserva en un matraz de 60 ml una toma de muestra homogénea de 60 ml de las partes finales de la destilación; esta toma representará el agua del vino. Eventualmente se determinará su relación isotópica.

Nota:

Si se dispone de un espectrómetro dotado de una sonda de 10 mm (véase apartado 4) bastará una toma de muestra homogénea de 300 ml de vino.

3.1.2.3. Determinación del grado alcohólico del alcohol extraído

Se determina mediante el método de Karl Fischer el contenido en agua p' de una muestra de alcohol de aproximadamente 0,5 ml cuyo peso p se conoce exactamente.

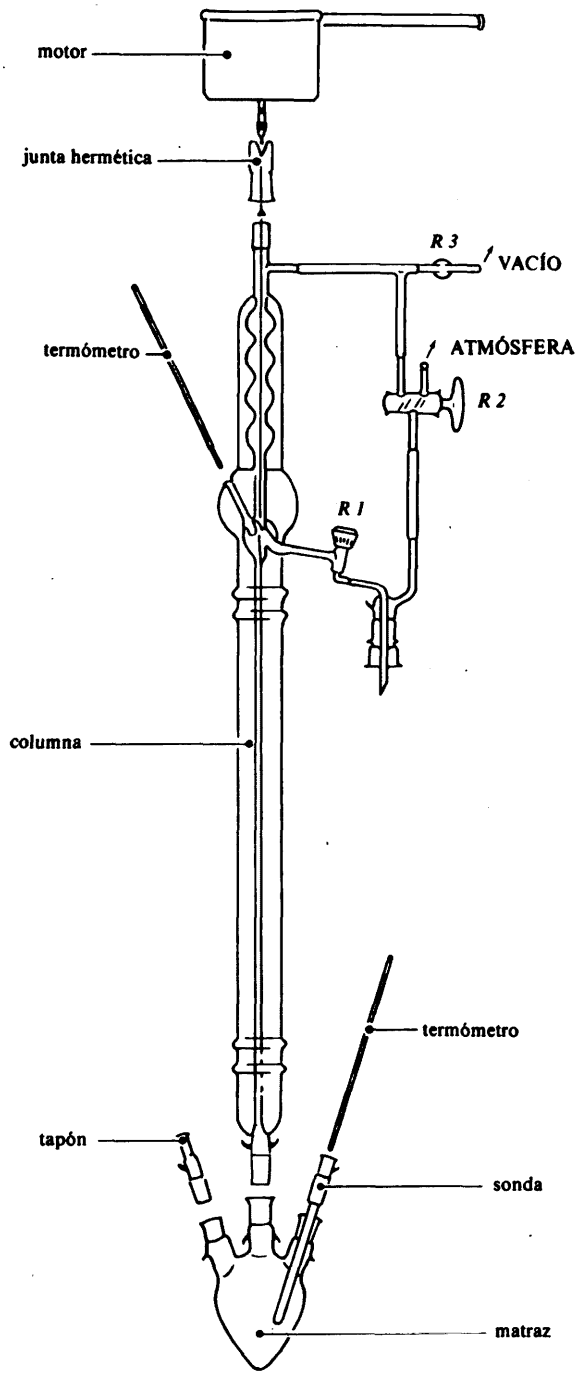


Figura 1: Instalación por la extracción del etanol

El grado del etanol en peso vendrá dado por la fórmula

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

3.2. **Fermentación de mostos, de mostos concentrados y de mostos concentrados rectificados**

3.2.1. *Material y reactivos*

— Ácido tartárico.

— Base de nitrógeno para levadura sin aminoácido DIFCO.

— Levaduras secas activas «*Saccharomyces cerevisiae*».

Si se conoce la relación isotópica del agua del mosto, se pueden reactivar las levaduras previamente a realizar la siembra, durante 15 minutos en el mínimo de agua tibia sin destilar (1 g en 50 ml), de relación isotópica cercana, a la del agua del mosto.

Si no se conoce la relación isotópica del agua del mosto, es preferible realizar la siembra directamente.

La cantidad de levaduras secas que se deben utilizar es del orden de 1 g esto es, alrededor de 10^{10} células para 1 litro de mosto.

Recipiente para la fermentación, de una capacidad de 1,5 litro, dotado de un dispositivo que permita manipular al resguardo del aire y condensar los vapores de alcohol, ya que no deberá tolerarse ninguna pérdida de etanol durante la fermentación. El índice de conversión de los azúcares fermentables en etanol deberá ser superior al 98 %.

3.2.2. *Procedimiento*

3.2.2.1. Mostos

— Mostos frescos

Colocar 1 litro de mosto, cuya concentración en azúcares fermentables se ha determinado previamente, en el recipiente previsto para la fermentación. Añadir 1 g de levaduras secas previamente reactivadas. Colocar el dispositivo que permite manipular al abrigo del aire. Llévese la fermentación a una temperatura próxima a los 20 °C hasta que se agoten los azúcares. Tras determinar el grado alcohólico del producto de la fermentación y una vez calculado el índice de conversión de los azúcares en alcohol, se centrifuga el líquido fermentado y se destila para extraer el etanol.

— Mostos conservados con dióxido de azufre

Desulfitar un volumen de mosto algo superior a 1 litro (1,2 litro) haciendo burbujear una corriente de nitrógeno a través del mosto, calentado al baño maría a reflujo hasta 70-80 °C, hasta que el contenido total de dióxido de azufre sea inferior a 200 mg/l. Procúrese no provocar ninguna concentración de mosto por evaporación de agua, empleando un refrigerante eficaz al respecto.

Colocar 1 litro de mosto desulfitado en el recipiente de fermentación y continuar como se ha indicado para los mostos frescos.

Nota: Si se ha utilizado metabisulfito de potasio para sulfitar el mosto, será necesario añadir a este ácido sulfúrico antes de proceder al desulfitado, a razón de 0,25 ml de ácido sulfúrico concentrado (ρ_{20} = 1,84 g/ml) por gramo de metabisulfito utilizado por litro de mosto.

3.2.2.2. Mostos concentrados

Colocar en el recipiente de fermentación un volumen V ml de mosto concentrado que contenga una cantidad de azúcares próxima a los 170 g. Completar hasta 1 litro con (1 000 — V) ml de agua con la misma relación isotópica que el agua del mosto natural testigo. Sembrar de la misma forma que se indica en 3.2.1. Añadir 3 g de base de nitrógeno para levaduras sin aminoácidos DIFCO. Homogeneizar y continuar como se ha descrito antes.

3.2.2.3. Mostos de uva concentrados rectificados

Proceder como se ha descrito en 3..2.2.2 completando hasta 1 litro con (1 000 — V) ml de agua con la misma relación isotópica que el agua del mosto natural testigo, en los que se habrán disuelto 3 g de ácido tartárico.

Nota:

Apartar un volumen de 50 ml de muestra de mosto o de mosto disulfitado, de mosto concentrado o de mosto concentrado rectificado para efectuar la extracción eventual de agua y la determinación de su relación isotópica $(D/H)^{Q}_{W}$. La extracción del agua de los mostos podrá efectuarse simplemente por destilación azeotrópica con tolueno.

3.3. **Preparación de la muestra de alcohol para su medida por RMN**

3.3.1. *Reactivos*

N, N-tetrametilurea (TMU); utilizar una muestra de TMU de referencia, de relación isotópica D/H conocida y controlada. Podrá obtenerse esta muestra de la Dirección General de Ciencia, Invetigación y Desarrollo, Oficina Comunitaria de Referencia, Rue de la Loi, 200, B-1049 Bruselas.

3.3.2. *Procedimiento*

— Sonda RMN de 15 mm de diámetro:

Verter en un frasco pesado previamente 7 ml de alcohol obtenido según 3.1.2 pesándolo con precisión de 0,1 mg; se denominará a este peso m_A; se tomarán a continuación 3 ml del estándar interno (TMU), pesándose con precisión de 0,1 mg; se denominará a este peso m_{es}. Homogeneizar por agitación.

— Sonda RMN de 10 mm de diámetro:

Bastan 3,2 ml de alcohol y 1,3 ml de TMU.
Según el tipo de espectrómetro y de sonda utilizados (véase apartado 4), se añadirá una cantidad suficiente de hexafluorobenceno como sustancia de estabilización campo-frecuencia (lock).

Espectrómetro	Sonda	
	10 mm	15 mm
7,05 T	150 µl	200 µl
9,4 T	35 µl	50 µl

3.4. **Preeparación de la muestra de agua para la medición de RMN con vistas a la determinación eventual de su relación isotópica**

3.4.1. *Reactivos*

N, N,-tetrametilurea (TMU): véase 3.3.1.

3.4.2. *Procedimiento*

Colocar en un frasco ya pesado 3 ml de agua obtenida según 3.1.2 o 3.2 (nota), pesándolo con precisión de 0,1 mg. Se denominará a este peso m'_E; se tomará a continuación 4 ml del estándar interno (TMU) pesándose con precisión de 0,1 mg; se denominará a este peso m'_{es}. Homogeneizar agitando.

Nota: Si el laboratorio dispone de un espectrómetro de masas de proporciones isotópicas, la medición podrá realizarse con este instrumento, a fin de disminuir la utilización del espectrómetro de RMN, ya que, para cada serie de vinos estudiada, es necesario contrastar la proporción T_{IV} (5.2).

4. OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS RMN ^2H DEL ALCOHOL Y DEL AGUA.

Determinación de los parámetros isotópicos.

4.1. **Material**

— Espectrómetro de RMN dotado de una sonda específica de deuterio ajustada a la frecuencia característica $_o$ del campo B_o (por ejemplo para B_o = 7,05 T, $_o$ = 46,5 MHz y para B_o = 9,4 T, $_o$ = 61,4 MHz) y que posea un canal de desacoplamiento de protón B_2 y un canal de estabilización campo-frecuencia *(lock)* a la frecuencia del flúor.

La resolución medida en el espectro, transformada sin multiplicación exponencial (es decir LB = cero O) (figura 2 b) y expresada por la amplitud a media altura de las señales de metilo y metileno del etanol y de la señal de metilo del TMU, deberá ser inferior a 0,5 Hz. La sensibilidad, medida con un factor de multiplicación exponencial LB = 2 (figura 2 a), deberá ser igual o superior a 150 para la señal de metilo del etanol de un grado de 95 % vol (93,5 % m/m). En estas condiciones, el intervalo de confianza en la medición de la altura de la señal, calculada para una probabilidad de 97,5 % (test de una cola) y 10 repeticiones del espectro, será de 0,35 %.

— Cambiador automático de muestras (eventualmente).

— Programa de tratamiento de datos.

— Tubos para muestra de 15 mm o de 10 mm, según las características del espectrómetro.

4.2. **Regulación del espectrómetro y verificaciones**

4.2.1. *Regulación*

Proceder a las regulaciones habituales de homogeneidades y de sensibilidad según las indicaciones del constructor.

4.2.2. *Verificación de la validez de las regulaciones*

Utilizar etanoles de referencia, designados mediante las letras «C, V y R», de un contenido isotópico diferente pero comprobado con precisión. El significado de estas iniciales es el siguiente: C, alcohol de caña de azúcar o de maíz; V, alcohol de vino, y R, alcohol de remolacha. Las muestras pueden obtenerse en la Oficina Comunitaria de Referencia.

Según el procedimiento descrito en 4.3, determinar los valores isotópicos de estos alcoholes que se designarán anotando C_{med}, V_{med}, R_{med} (véase 5.3).

Comparar estos valores con los valores de referencia correspondientes dados, que se designarán anotando C_{es}, R_{es}, V_{es} (véase 5.3).

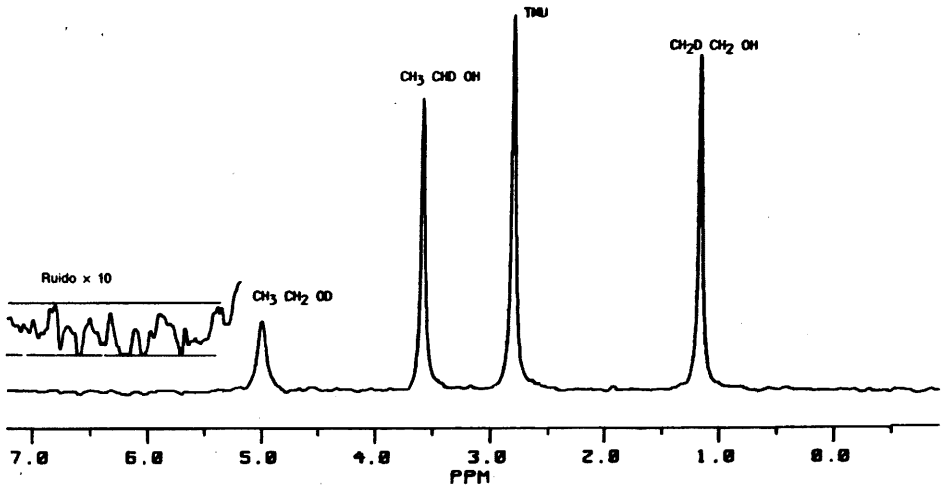


Figura 2 a

Espectro RMN ^2H del etanol del vino con referencia interna
(TMU: N,N-tetrametilurea)

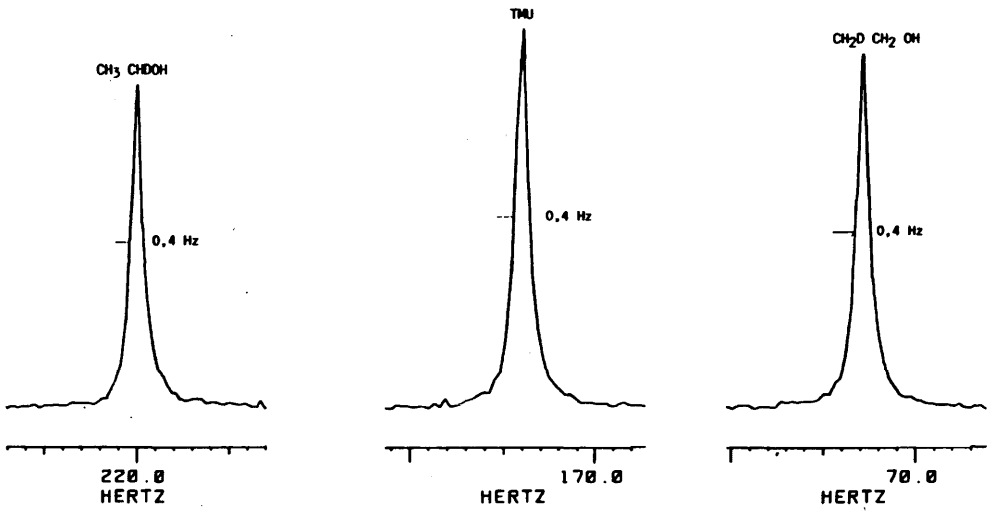


Figura 2 b

Espectro ^2H del etanol realizado en las mismas condiciones que las de la figura 2 a pero sin multiplicación exponencial (LB = o)

La desviación tipo de repetibilidad obtenida sobre la media de 10 repeticiones de cada espectro deberá ser inferior a 0,01 para la relación R o inferior a 0,3 ppm para $(D/H)_I$ y para $(D/H)_{II}$.

Los valores medios obtenidos para los diferentes parámetros isotópicos [R, $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$)] deberán situarse dentro de la correspondiente desviación estándar de repetibilidad, ofrecida por la Oficina Comunitaria de Referencia para los parámetros de los tres alcoholes de referencia. En caso contrario, deberán repetirse las regulaciones.

4.3. **Condiciones para obtener los espectros RMN**

Colocar la muestra de alcohol preparada según 3.3 o la muestra de agua, preparada según 3.4 en un tubo de 10 o 15 mm e introducirla en la sonda.

Las condiciones para obtener espectros RMN son las siguientes:

— La temperatura de la sonda (por ejemplo 302 K) deberá ser constante.

— Tiempo de adquisición, 6,8 segundos, como máximo, para 1 200 Hz de amplitud espectral (memoria 16 K), es decir, alrededor de 20 ppm a 61,4 MHz o 27 ppm a 46,1 MHz.

— Impulso: 90 °.

— Regular el tiempo de adquisición; su valor deberá ser del mismo orden de magnitud que el tiempo de toma de muestras *(dwell time)*.

— Detección en cuadratura: fijar el *offset* 01 entre las señales de referencia OD y CHD para el etanol y entre HOD y TMU para el agua.

— Determinar el valor del *offset* de desacoplamiento 02 a partir del espectro protónico medido por la bobina de desacoplamiento sobre el mismo tubo. Se obtiene un buen desacoplamiento cuando 02 se halla situado en el centro del intervalo de frecuencia existente entre los grupos CH_3- y CH_2-. Utilizar el modo de desacoplamiento mediante banda ancha.

Efectuar para cada espectro un número NS de acumulaciones que baste para obtener la relación señal/ruido que figura en 4.1 y repetir NE = 10 veces esta serie de NS acumulaciones. Los valores de NS dependerán del tipo de espectrómetro y de sonda utilizados (véase punto 4); se escogerá, por ejemplo:

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

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. **Etanol**

Para cada uno de los 10 espectros (véase el espectro RMN del etanol, figura 2 a), determinar:

— $R = 3\,\frac{h_{II}}{h_I} = 3 \cdot \frac{\text{altura de la señal II } (CH_3\,CHD\,OH)}{\text{altura de la señal I } (CH_2D\,CH_2OH)}$

— $(D/H)_I = 1{,}5866 \cdot T_I \cdot \frac{m_{es}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{es}}{g_m^D}$

— $(D/H)_{II} = 2{,}3799 \cdot T_{II} \cdot \frac{m_{es}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{es}}{g_m^D}$

donde:

— $T_I = \frac{\text{altura de la señal I } (CH_2D\,CH_2\,OH)}{\text{altura de la señal del estándar interno (TMU)}}$

— $T_{II} = \frac{\text{altura de la señal II } (CH_3T\,CHD\,OH)}{\text{altura de la señal del estándar interno (TMU)}}$

— CH_3CHDOH m_{es} y m_A: véase 3.3.2,

— g_m^D, véase 3.1.2.3,

— $(D/H)_{es}$ = proporción isotópica del estándar interno (TMU) indicado sobre el frasco. El TMU puede obtenerse en la Oficina Comunitaria de Referencia.

La utilización de las alturas de las señales en lugar de las superficies medidas con menos precisión supone larguras de picos a media altura iguales, lo que es una aproximación razonable (figura 26).

5.2. **Agua**

Cuando se determina la proporción isotópica del agua por RMN a partir de la mezcla agua-TMU, se utiliza la relación siguiente:

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

donde

— $T_{IV} = \frac{\text{superficie de la señal (HOD) del agua extraída del vino}}{\text{superficie de la señal del estándar interno (TMU)}}$

— m'_{es} y m'_E, véase 3.4.2.

— $(D/H)^{es}$ = proporción isotópica del estándar interno (TMU) indicada sobre el frasco suministrado por la Oficina Comunitaria de Referencia (BCR).

5.3. Para cada uno de los parámetros isotópicos, calcular la media de las 10 determinaciones y el intervalo de confianza.

Un programa opcional (por ejemplo, SNIF-NMR) adaptable al calculador del espectrómetro permite efectuar estos cálculos en línea.

Nota: Si, tras la regulación del espectrómetro, subsiste una desviación sistemática entre los valores medios obtenidos para las características isotópicas de los alcoholes de referencia (4.2.2) y los valores indicados por la Oficina Comunitaria de Referencia, del orden de la desviación-típica, podrá aplicarse la corrección siguiente para obtener el verdadero valor de una muestra X cualquiera.

La interpolación se efectuará tomando los valores de las muestras de referencia que se ajusten al de la muestra X.

Llamemos $(D/H)_i^{X_{med}}$ al valor medido, y $(D/H)_i^{X_{corr.}}$ al valor corregido

tendremos:

$$(D/H)_i^{X_{corr.}} = (D/H)_i^{R_{es}} + \alpha \left[(D/H)_i^{X_{med}} - (D/H)_i^{R_{med}} \right]$$

en donde: $\alpha = \dfrac{(D/H)_i^{V_{es}} - (D/H)_i^{R_{es}}}{(D/H)_i^{V_{med}} - (D/H)_i^{R_{med}}}$

Ejemplo:

Muestras de referencia suministradas y calibradas por la Oficina Comunitaria de Referencia:

$(D/H)_i^{V_{es}} = 102{,}0$ ppm $(D/H)_i^{R_{es}} = 91{,}95$ ppm

Muestras de referencia medidas por el Laboratorio:

$(D/H)_i^{V_{med}} = 102{,}8$ ppm $(D/H)_i^{R_{med}} = 93{,}0$ ppm

Muestra sospechosa no corregida:

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

Se calcul = 1,0255 y $(D/H)_i^{X_{corr}} = 99{,}3$ ppm

6. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Comparar el valor R^X obtenido para la relación R de la muestra sospechosa con las relaciones obtenidas para los vinos testigo. Si R^X presenta una desviación superior a 2 desviaciones-típicas del valor medio R^T obtenido para los vinos testigo, puede presumirse una adulteración.

6.1. **Aumento artificial del grado alcohólico natural mediante azúcar de remolacha, azúcar de caña o glucosa de maíz**

6.1.1. *Vinos*

R^X es superior a R^T: presunción de adición de azúcar de remolacha.
R^X inferior a R^T: presunción de adición de azúcar de caña o de azúcar de maíz.

Obsérvese que $(D/H)_{II}^X$ y $(D/H)_W^X$ han aumentado.

Examinar $(D/H)_I^X$ habrá presunción de:

— azucarado mediante azúcar de remolacha:

si el valor $(D/H)_I^X$ de la muestra sospechosa es inferior a $(D/H)_I^T$, valor medio obtenido de la muestras testigo, en más 1 desviación-típica.

— azucarado mediante azúcar de caña o azúcar de maíz;
si el valor $(D/H)_I^X$ es superior a $(D/H)_I^T$ en más una desviación-típica.

— Cálculo del aumento artificial del grado alcohólico natural A, expresado en % vol de etanol.

Aumento mediante azúcar de remolacha:

$$A\ \%\ vol = g^V \frac{(D/H)_I^T - (D/H)_I^X}{(D/H)_I^T - (D/H)_I^R}$$

$(D/H)_I^R = 92{,}5$ (1) relación isotópica de la posición I del alcohol de remolacha.

g^V = grado alcohólico del vino analizado (X)

— Aumento mediante azúcar de caña o de maíz:

$$A\ \%\ vol = g^V \frac{(D/H)_I^X - (D/H)_I^T}{(D/H)_I^C - (D/H)_I^T}$$

(1) Estos valores se dan a la espera de la constitución de un banco de datos comunitario.

$(D/H)_I^C$ = 110,5 (1) relación isotópica de la posición I del alcohol de caña de azúcar o de maíz.

g^V = grado alcohólico del vino analizado (X).

6.1.2. *Mostos, mostos concentrados y mostos concentrados rectificados*

Los valores de los parámetros isotópicos del alcohol extraído según 3.1 del producto fermentado obtenido (3.2) a partir del mosto, del mosto concentrado o del mosto concentrado rectificado, se examinan de acuerdo con las indicaciones dadas en el punto 6 «interpretación de los resultados», 6.1.1, comparándolos con el alcohol extraído del producto de fermentación de mostos naturales testigo.

El aumento artificial del grado alcohólico natural, A % vol, expresa el volumen de alcohol añadido al producto fermentado. Conocida la dilución eventual efectuada antes de la fermentación (mostos concentrados y mostos concentrados rectificados), y admitiendo que 16,83 g de azúcar dan 1 % vol del alcohol, calcular la cantidad en masa de azúcar añadida por litro de mosto, de mosto concentrado o de mosto concentrado rectificado.

6.2. **Aumento artificial del grado alcohólico natural mediante mezcla de azúcar de remolacha y azúcar de caña o de glucosa de maíz**

Las relaciones isotópicas $(D/H)_I$ y R están menos modificadas que en el caso del aumento con 1 solo tipo de azúcar.

$(D/H)_{II}$ y $(D/H)_{II}^{\Omega}$ aumentan.

Pueden confirmarse estas adiciones determinando la relación 13C/12C del etanol por espectrometría de masa; en este caso, la relación aumenta.

(1) Estos valores se dan a la espera de la constitución de un banco de datos comunitario.

9. CENIZAS

1. DEFINICIÓN

Se denominan cenizas al conjunto de los productos resultantes de la incineración del residuo de evaporación del vino, llevada a cabo de manera que se obtenga la totalidad de los cationes (excluido el amonio) en forma de carbonato y otras sales minerales anhidras.

2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Incineración del extracto del vino llevada a cabo entre 500 y 550 °C hasta la combustión total del carbono.

3. APARATOS

3.1. Baño de agua a 100 °C.

3.2. Balanza con una sensibilidad de una décima de miligramo.

3.3. Placa calefactora o evaporador de infrarrojos.

3.4. Horno eléctrico con regulación de temperatura.

3.5. Desecador.

3.6. Cápsula de platino de 70 mm de diámetro y de 25 mm de altura, de fondo plano.

4. PROCEDIMIENTO

Colocar 20 ml de vino en una cápsula de platino previamente tarada (P_o g). Evaporar al baño de agua a 100 °C y calentar el residuo sobre una placa calefactora a 200 °C o bajo el evaporador de infrarrojos hasta la carbonización. Cuando el residuo no emita vapores, colocar la cápsula en el horno eléctrico a 525 °C ± 25 °C. Después de 15 minutos de carbonización, retirar la cápsula del horno, añadir 5 ml de agua destilada que se evaporan luego al baño de agua o bajo el evaporador de infrarrojos, y calentar de nuevo a 525 °C durante 10 minutos.

Si la combustión de las partículas de carbono no es total, volver a realizar las operaciones de lavado, evaporación del agua e incineración.

Para los vinos ricos en azúcares, se recomienda añadir al extracto algunas gotas de aceite vegetal puro antes de proceder a la primera incineración, para impedir que se desborde el contenido.

Después de enfriar la cápsula en un desecador, se pesa. Se denominará a este peso P_1 g.

El peso p en g de las cenizas contenidas será: $p = (P_1 - P_o)$ g.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Modo de cálculo

El peso P de las cenizas expresado en gramos por litro con dos decimales será: $P = 50 \cdot p$.

10. ALCALINIDAD DE LAS CENIZAS

1. DEFINICIÓN

Se denomina alcalinidad de las cenizas a la suma de los cationes, distintos del amonio, combinados con los ácidos orgánicos del vino.

2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Valoración por retroceso en presencia de naranja de metilo, de las cenizas solubilizadas en caliente por un exceso conocido de ácido valorado.

3. REACTIVOS Y MATERIAL

3.1. Solución 0,05 M de ácido sulfúrico (H_2SO_4)

3.2. Solución 0,1 M de hidróxido sódico (NaOH)

3.3. Solución de naranja de metilo al 0,1 % en agua destilada.

3.4. Baño de agua a 100 °C.

4. PROCEDIMIENTO

Añadir a la cápsula de platino que contiene las cenizas de 20 ml de vino, 10 ml de solución 0,05 M de ácido sulfúrico (3.1); colocarla al baño de agua a 100 °C durante 15 min aproximadamente, rascando el residuo con una varilla de vidrio para activar la disolución. Añadir, a continuación, 2 gotas de solución de naranja de metilo y valorar el exceso de ácido sulfúrico con la solución 0,1 M de hidróxido de sodio (3.2), hasta que el indicador vire al color amarillo.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Modo de cálculo

La alcalinidad de las cenizas expresada en miliequivalentes por litro con 1 decimal, será:

$A = 5 (10-n)$

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

11. CLORUROS

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los cloruros se determinan directamente en el vino por potenciometría utilizando el electrodo Ag/AgCl.

2. MATERIAL

2.1. pH metro con escala de milivoltios graduada al menos de 2 en 2 mV.

2.2. Agitador magnético.

2.3. Electrodo Ag/AgCl con una solución saturada de nitrato potásico como electrolito.

2.4. Microbureta graduada en centésimas de mililitro.

2.5. Cronómetro.

3. REACTIVOS

3.1. Solución patrón de cloruros: 2,1027 g de cloruro potásico, KCl (máx. 0,005 % de Br), desecado antes de su empleo por coservación durante algunos días en un desecador se disuelven en agua destilada y se completa a 1 litro 1 ml de esta solución contiene 1 mg de Cl.

3.2. Solución valorada de nitrato de plata: 4,7912 g de nitrato de plata, $AgNo_3$, para análisis, se disuelven y se enrasan a 1 litro con una solución alcohólica al 10 % (v/v): 1 ml de esta solución corresponde a 1 mg de Cl^-.

3.3. Ácido nítrico puro al menos del 65 % (densidad (ρ_{20} = 1,40 g/ml).

4. PROCEDIMIENTO

4.1. 5,0 ml de solución patrón de cloruros se introducen en un vaso de precipitados de 150 ml colocado sobre un agitador magnético, diluidos a 100 ml con agua destilada y acidificados con 1,0 ml de ácido nítrico del 65 % como mínimo. Se sumerje el electrodo en el vaso de precipitados y se determina añadiendo por medio de la microbureta la solución valorada de nitrato de plata, la agitación debe ser moderada.

Las adiciones efectuadas son inicialmente de 1,00 ml para los cuatro primeros ml, leer los valores correspondientes en milivoltios. Después se adicionan los 2 ml siguientes en fracciones de 0,20 ml. Finalmente se siguen las adiciones por fracciones de 1 ml hasta llegar a un total de 10 ml. Después de cada adición se esperan alrededor de 30 segundos antes de efectuar la correspondiente lectura en milivoltios. Llevar los valores obtenidos sobre papel milimetrado en función de los mililitros de la solución patrón correspondiente y se determina el potencial del punto de inflexión de la curva obtenida.

4.2. 5 ml de la solución patrón de cloruros se introducen en un vaso de precipitados de 150 ml. Se añaden 95 ml de agua destilada y 1 ml de ácido nítrico del 65 % como mínimo. Se sumerge el electrodo y se valora, agitando, hasta la obtención del potencial del punto de equivalencia.

Esta determinación se repite hasta que se haya obtenido una buena concordancia de resultados. Se debe efectuar este control antes de cada serie de determinaciones de cloruros en las muestras.

4.3. Se introducen 50 ml del vino a analizar en un vaso de precipitados de 150 ml. Se añaden 50 ml de agua destilada y 1 ml de ácido nítrico del 65 % como mínimo y se valora siguiendo el procedimiento del punto 4.2.

5. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

5.1. **Cálculos**

Si n representa el número de mililitros de solución patrón de nitrato de plata, el contenido en cloruros de la muestra analizada es:

$20 \times n$ expresado en miligramos de Cl por litro

$0{,}5633 \times n$ expresado en miliequivalentes por litro

$32{,}9 \times n$ expresado en miligramos de cloruro sódico por litro.

5.2. **REPETIBILIDAD (r)**

r = 1,2 mg Cl por litro,

r = 0,03 meq por litro,

r = 2,0 mg NaCl por litro.

5.3. **Reproductibilidad (R)**

R = 4,1 mg de Cl por litro,

R = 0,12 meq por litro,

R = 6,8 mg NaCl por litro.

6. *Observación:* para determinaciones muy precisas

Hay que referirse a la curva de calibrado completa obtenida durante la valoración del patrón de cloruros con la solución patrón de nitrato de plata.

a) Poner 50 ml del vino a analizar en un vaso de precipitados de 150 ml. Añadir 50 ml de agua destilada y 1 ml de ácido nítrico al menos del 65 %. Valorar por medio de la solución de nitrato de plata, procediendo a adiciones de 0,5 ml y anotando los correspondientes potenciales en milivoltios. De esta primera valoración se deduce el volumen aproximado de solución de nitrato de plata necesario.

b) Comenzar la valoración en las mismas condiciones. Proceder primero con adiciones de 0,5 ml valorando hasta que el volumen empleado sea inferior en 1,5 a 2 ml del volumen empleado en a). Proceder a adiciones de 0,2 ml, continuar las adiciones lentamente hasta el punto de equivalencia aproximadamente obtenido de una manera simétrica, por adición de 0,2 ml después de 0,5 ml.

El punto final de la valoración y el volumen de nitrato de plata consumido exactamente se obtiene:

— Trazando la curva y determinando el punto de equivalencia.

— Por cálculo:

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

V = volumen de solución valorada en el punto de equivalencia.

V' = volumen de solución valorada antes del mayor salto de potencial.

ΔV_i = volumen constante de las fracciones de solución valorada añadidas, o sea 0,2 ml.

$\Delta\Delta E_1$ = segunda diferencia de potencial antes de la mayor variación de potencial.

$\Delta\Delta E_2$ = segunda diferencia de potencial después de la mayor variación de potencial.

Ejemplo:

Volumen solución patrón de $AgNO_3$	Potencial E	Diferencia	Segunda Diferencia
0	204		
		4	
0,2	208		0
		4	
0,4	212		2
		6	
0,6	218		0
		6	
0,8	224		0
		6	
1,0	230		2
		8	
1,2	238		4
		12	
1,4	250		10
		22	
1,6	272		22
		44	
1,8	316		10
		34	
2,0	350		8
		26	
2,2	376		6
		20	
2,4	396		

En el ejemplo el punto final de la valoración se sitúa entre 1,6 y 1,8 ml; en este intervalo aparece el mayor salto de potencial (Δ = 44 mV). El volumen de solución valorada en nitrato de plata consumido para determinar los cloruros en la muestra a analizar es:

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

12. SULFATOS

1. PRINCIPIO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de referencia**

Precipitación del sulfato de bario y pesada. El fosfato de bario precipitado en las mismas condiciones es eliminado por lavado del precipitado con ácido clorhídrico.

En caso de mostos o vinos ricos en dióxido de azufre, está indicado un desulfitado previo por ebullición al abrigo del aire.

1.2. **Método rápido de ensayo**

Clasificación de los vinos en varias categorías por el método llamado de los límites, basado en la precipitación del sulfato de bario mediante una solución valorada de ion bario.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. **Soluciones (Reactivos)**

2.1.1. Ácido clorhídrico, solución 2 M.

2.1.2. Cloruro bárico en solución 200 g/l de $BaCl_2$, $2H_2O$.

2.2. **Procedimiento**

2.2.1. *Caso general*

Introducir en un tubo de centrifuga de 50 ml, 40 ml de la muestra a analizar, añadir 2 ml de ácido clorhídrico 2 M y 2 ml de solución de cloruro de bario de 200 g/l. Agitar con una varilla de vidrio, lavar la varilla con un poco de agua destilada y dejar en reposo durante 5 minutos Centrifugar durante 5 minutos y decantar con precaución el líquido sobrenadante.

Lavar el precipitado de sulfato bárico de la forma siguiente: añadir 10 ml de ácido clorhídrico 2 M poner el precipitado en suspensión y centrifugar durante 5 minutos. Separar con precaución el líquido sobrenadante. Repetir 2 veces el lavado del precipitado en las mismas condiciones con 15 ml de agua destilada cada vez.

Trasvasar cuantitativamente el precipitado, lavando con agua destilada, a una cápsula de platino tarada y colocada en un baño maría a 100 °C hasta evaporación a sequedad. El precipitado desecado se calcina varias veces brevemente sobre una llama hasta la obtención de un residuo blanco. Dejar enfriar en un desecador y pesar.

Sea m la masa en miligramos de sulfato de bario obtenida.

2.2.2. *Caso particular:* mostos sulfitados y vino con un contenido elevado de anhídrido sulfuroso.

Proceder a la eliminación del anhídrido sulfuroso.

En un matraz cónico de 500 ml provisto de un embudo de decantación y de un tubo de salida de vapor, introducir 25 ml de agua y 1 ml de ácido clorhídrico puro (densidad 20 ° = 1,15 – 1,18 g/ml). Hacer hervir para expulsar el aire, e introducir por el embudo de decantación 100 ml de vino manteniendo la ebullición.

Continuar la ebullición hasta que el volumen del líquido contenido en el matraz se reduzca a unos 75 ml y se trasvasa cuantitativamente, después de enfriar a un matraz aforado de 100 ml. Completar el volumen con agua. Proceder a la valoración de los sulfatos sobre una muestra de ensayo de 40 ml como se indica en 2.2.1.

2.3. **Expresión de los resultados**

El contenido en sulfatos expresado en miligramos por litro de sulfato de potasio SO_4K_2 es:

18,67 × m

El contenido en sulfatos de mostos o vino se expresa en miligramos por litro de sulfato de potasio, sin decimales.

2.3.2. *Repetitividad*

Hasta 1 000 mg/l: r = 27 mg/l

Alrededor de 1 500 mg/l: r = 41 mg/l

2.3.3. *Reproductividad*

Hasta 1 000 mg/l: R = 51 mg/l

Alrededor 1 500 mg/l: R = 81 mg/l

3. MÉTODO RÁPIDO DE ENSAYO

3.1. **Reactivos**

3.1.1. Solución patrón de cloruro bárico

2 804 g de cloruro bárico, $BaCl_2$, $2H_2O$ y 10 ml de ácido clorhídrico (densidad 20 ° = 1,15 = 1,18 g/ml) se disuelven en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 litro de disolución, 1 ml de esta solución precipita una cantidad de iones sulfato equivalente a 2 mg de sulfato potásico.

3.1.2. Ácido sulfúrico (densidad 20 ° = 1,84 g/ml) en solución diluida 1/10 (m/v).

3.2. **Procedimiento**

En tres tubos de ensayo, colocar 10 ml de mosto o vino, añadir al primero 3,5 ml, al segundo 5 ml y al tercero 10 ml de la solución de cloruro de bario. Agitar y llevar a ebullición, dejar reposar de 1 a 2 horas. El líquido de cada tubo, decantado, se filtra y se divide en dos mitades. En la primera mitad se añaden unas gotas de ácido sulfúrico, en la segunda mitad se añaden unas gotas de la solución de cloruro de bario. Examinar la limpidez o la turbidez de cada tubo. La conclusión se da en la siguiente tabla.

	Vino	Cloruro Bárico	Vino filtrado +	
			Ácido Sulfúrico diluido	Solución de Cloruro de Bario
	(ml)	(ml)	Turbidez	Limpidez
1er ensayo	10	3,5	menos 0,7 g/l K_2SO_4 Limpidez | Turbidez más de 0,7 g/l K_2SO_4	
2o ensayo	10	5	Turbidez	Limpidez
			menos de 1 g/l K_2SO_4 Limpidez | Turbidez más de 1 g/l K_2SO_4	
3er ensayo	10	10	Turbidez	Limpidez
			menos de 2 g/l K_2SO_4 Limpidez | Turbidez más de 2 g/l K_2SO_4	

13. ACIDEZ TOTAL

1. DEFINICIÓN

La acidez total es la suma de los ácidos valorables cuando se lleva el pH a 7 añadiendo una solución alcalina valorada.

El dióxido de carbono no se incluye en la acidez total.

2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Valoración potenciométrica o valoración en presencia de azul de bromotimol como indicador del final de reacción, mediante comparación con un patrón de coloración.

3. REACTIVOS

3.1. Solución tampón de pH 7,0:

Fosfato monopotásico (KH_2PO_4) : 107,3 g
Solución M de hidróxido sódico (NaOH) : 500 ml
Agua csp : 1 000 ml.

También pueden utilizarse las soluciones comerciales como solución tampón de referencia.

3.2. Solución 0,1 M de hidróxido sódico (NaOH).

3.3. Solución de azul de bromotimol de 4 g/l.

Azul de bromotimol ($C_{27}H_{28}Br_2O_5S$) ..... 4 g

Alcohol neutro 96 % vol ..... 200 ml

Una vez solubilizado, añadir:

Agua sin CO^2 ..... 200 ml

Solución M de hidróxido sódico

csp coloración verdeazulada (pH 7) ..... 7,5 ml

Agua csp ..... 1 000 ml

4. APARATOS

4.1. Trompa de vacío.

4.2. Matraz kitasato de 500 ml.

4.3. Potenciómetro con escala graduada en unidades de pH y electrodos. El electrodo de vidrio debe conservarse en agua destilada. El electrodo de calomelanos de cloruro potásico saturado debe conservarse en una solución saturada de cloruro potásico. Generalmente se emplea un electrodo combinado, que se conserva en agua destilada.

4.4. Vasos de precipitados de 50 ml de capacidad (en caso de vinos) y de 100 ml de capacidad (en caso de mostos concentrados rectificados).

5. PROCEDIMIENTO

5.1. **Preparación de la muestra**

5.1.1. *Vino*

Eliminación del dióxido de carbono. Colocar aproximadamente 50 ml de vino, en un matraz kitasato; agitar y, al mismo tiempo, hacer el vacío con una trompa de agua. La agitación debe durar de 1 a 2 minutos.

5.1.2. *Mosto concentrado rectificado*

Verter 200 g de mosto concentrado rectificado, exactamente pesado en un matraz aforado de 500 ml. Enrasar con agua. Homogeneizar.

5.2. **Valoración potenciométrica**

5.2.1. *Calibrado del pH-metro*

La calibración del pH-metro se efectúa a 20 °C, siguiendo las indicaciones del aparato que se utilice, mediante la solución tampón de pH 7,00 a 20 °C.

5.2.2. *Técnica de una medida*

En un vaso de precipitados (4.4) verter 10 ml, si se trata de vino, o 50 ml, en el caso del mosto concentrado rectificado de muestra preparada, como se indica en (5.1). Añadir 10 ml de agua destilada, aproximadamente, y verter con una bureta la solución 0,1 M de hidróxido sódico (3.2) hasta que el pH sea igual a 7 a 20 °C. La adición de la solución alcalina debe realizarse lentamente, agitando constantemente la solución. Se denominará n al número de mililitros de NaOH 0,1 M vertidos.

5.3. **Valoración con indicador** (azul de bromotimol)

5.3.1. *Ensayo previo: obtención del patrón de coloración*

En un vaso de precipitados (4.4), echar 25 ml de agua destilada y hervida, 1 ml de solución de azul de bromotimol (3.3) y 10 ml si se trata de vino o 50 ml en el caso del mosto concentrado rectificado de muestra preparada como se indica en (5.1). Añadir la solución 0,1 M de hidróxido de sodio (3.2) hasta obtener una coloración verdeazulada. Añadir 5 ml de la solución tampón pH 7 (3.1).

5.3.2. *Determinación*

En un vaso de precipitados (4.4), echar 30 ml de agua destilada y hervida, 1 ml de solución de azul de bromotimol (3.3) y 10 ml si se trata de vino o 50 ml en el caso del mosto concentrado rectificado de muestra preparada como se indica en (5.1). Añadir la solución 0,1 M de hidróxido sódico (3.2) hasta obtener una coloración idéntica a la obtenida en el ensayo previo (5.3.1). Se denominará n al número de mililitros de solución de hidróxido sódico 0,1 M utilizados.

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. **Método de cálculo**

6.1.1. *Vino*

La acidez total, expresada en miliequivalentes por litro, será:

$A = 10\,n$

Se dará con 1 decimal.

La acidez total, expresada en gramos de ácido tartárico por litro, será:

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

Se dará con 1 decimal.

6.1.2. *Mostos concentrados rectificados*

— Acidez total expresada en miliequivalentes por kilogramo de mosto concentrado rectificado: $a = 5 \cdot n$

— Acidez total expresada en miliequivalentes por kilogramo de azúcares totales:

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

P = contenido en % (m/m) de azúcares totales.
Se dará con 1 decimal.

6.2. **Repetibilidad (r): para la valoración con indicador (5.3):**

r = 0,9 meq por litro

r = 0,07 g de ácido tartárico por litro

para los vinos blancos, rosados y tintos.

6.3. **Reproductibilidad (R): para la valoración con indicador (5.3)**

Para los vinos blancos y rosados:

R = 3,6 meq por litro

R = 0,3 g de ácido tartárico por litro.

Para los vinos tintos:

R = 5,1 meq por litro

R = 0,4 g de ácido tartárico por litro.

14. ACIDEZ VOLÁTIL

1. DEFINICIÓN

La acidez volátil está constituida por los ácidos grasos pertenecientes a la serie acética que se encuentran en los vinos, bien en estado libre, bien en estado salificado.

2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Valoración de los ácidos volátiles separados del vino por arrastre de vapor de agua y rectificación de los vapores.

Previamente, debe eliminarse el dióxido de carbono del vino.

La acidez del dióxido de azufre libre y combinado destilado en dichas condiciones debe restarse de la acidez del destilado.

Debe restarse, asimismo, la acidez del ácido sórbico eventualmente añadido al vino.

Nota: El ácido salicílico que en algunos países se utiliza para estabilizar los vinos antes del análisis, se encuentra en parte en el destilado. Es necesario valorarlo y restarlo de la acidez. El método de esta determinación está en el apartado 7 de este capítulo.

3. REACTIVOS

3.1. Ácido tartárico cristalizado ($C_4H_6O_6$)

3.2. Solución 0,1 M de hidróxido sódico (NaOH)

3.3. Solución de fenolftaleína al 1 % en alcohol neutro de 96 % vol

3.4. Ácido clorhídrico (ρ_{20} = 1,18 a 1,19 g/ml) diluido 1/4 (v/v)

3.5. Solución 0,005 M de yodo (I_2)

3.6. Yoduro potásico cristalizado (KI)

3.7. Engrudo de almidón de 5 g/l:

Diluir 5 g de almidón en 500 ml de agua, aproximadamente. Llevar a ebullición agitando y mantenerla durante 10 minutos; añadir 200 g de cloruro sódico. Una vez frío enrasar hasta 1 litro.

3.8. Solución saturada de borato sódico ($Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$) es decir, aproximadamente 55 g/l a 20° C.

4. APARATOS

4.1. Aparato de arrastre de vapor de agua, compuesto de:

1) Un generador de vapor de agua; el vapor de agua producido debe estar exento de dióxido de carbono.

2) Un borboteador.

3) Una columna rectificadora.

4) Un refrigerante.

Este aparato debe responder a los tres ensayos siguientes:

a) Poner en el borboteador 20 ml de agua hervida; recoger 250 ml de destilado y añadirles 0,1 ml de solución 0,1 M de hidróxido sódico (3.2) y 2 gotas de la solución de fenolftaleína (3.3); la coloración rosa debe permanecer estable durante 10 segundos, por lo menos (vapor de agua exento de dióxido de carbono).

b) Poner en el borboteador 20 ml de solución 0,1 M de ácido acético. Recoger 250 ml de destilado. Valorar con la solución 0,1 M de hidróxido sódico (3.2). El volu-

men empleado deberá ser igual a 19,9 ml, como mínimo. (Ácido acético arrastrado ≥ 99,5 %.)

c) Poner en el borboteador 20 ml de solución M de ácido láctico. Recoger 250 ml de destilado y valorar su acidez con una solución 0,1 M de hidróxido sódico (3.2).

El volumen empleado debe ser inferior o igual a 1,0 ml. (Ácido láctico destilado ≤ 0,5 %.)

Todo aparato o técnica que satisfaga estos tres ensayos constituye un aparato o una técnica oficial internacional.

4.2. Trompa de vacío.

4.3. Matraz kitasato.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. **Preparación de la muestra:** eliminación del dióxido de carbono.

Poner alrededor de 50 ml de vino en un matraz kitasato; agitar y, al mismo tiempo, hacer el vacío por medio de la trompa de agua. La agitación debe durar de 1 a 2 minutos

5.2. **Arrastre por vapor de agua**

Echar en el borboteador 20 ml de vino desprovisto de carbónico como se indica en (5.1). Añadir 0,5 g de ácido tartárico (3.1) aproximadamente. Recoger, por lo menos, 250 ml de destilado.

5.3. **Valoración**

Valorar con la solución 0,1 M de hidróxido sódico (3.2) en presencia de 2 gotas de solución de fenolftaleína (3.3). Se denominará n ml al volumen utilizado.

Añadir 4 gotas de ácido clorhídrico diluido 1/4 (3.4), 2 ml de engrudo de almidón (3.7) y algunos cristales de yoduro de potasio (3.6). Valorar el dióxido de azufre libre con la solución 0,005 M de yodo (3.5). Se denominará n' ml al volumen utilizado.

Añadir la solución saturada de borato sódico (3.8) hasta que reaparezca la coloración rosa. Valorar el dióxido de azufre combinado con la solución 0,005 M de yodo (3.5). Se denominará n" ml al volumen utilizado.

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. **Método de cálculo**

La acidez volátil, expresada en miliequivalentes por litro, con 1 decimal, será:

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

La acidez volátil, expresado en granos de ácido acético por litro, con 2 decimales, será:

$0{,}300 (n - 0{,}1\ n' - 0{,}05\ n'')$

6.2. **Repetibilidad (r)**

r = 0,7 meq por litro

r = 0,04 g de ácido acético por litro.

6.3. **Reproductibilidad (R)**

R = 1,3 meq por litro

R = 0,08 g de ácido acético por litro.

6.4. **Caso de un vino con adición de ácido sórbico**

Dado que el ácido sórbico se arrastra por vapor de agua en un 96 % para un volumen de destilado de 250 ml, su acidez debe restarse de la acidez volátil, sabiendo que 100 mg de ácido sórbico corresponden a una acidez de 0,89 miliequivalentes o de 0,053 g de ácido acético y conociendo el contenido en ácido sórbico (mg/l) determinado previamente.

7. DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO SALICÍLICO QUE SE HALLA EN EL DESTILADO UTILIZADO PARA VALORAR LA ACIDEZ VOLÁTIL

7.1. **Fundamento**

Una vez efectuada la determinación de la acidez volátil y la corrección del dióxido de azufre, la presencia de ácido salicílico se caracteriza por la aparición, previa acidificación, de una coloración violeta tras haber añadido una sal de hierro III.

La determinación del ácido salicílico que se halla en el destilado se efectuará con un segundo destilado cuyo volumen sea igual al del utilizado para determinar la acidez volátil. En este destilado, el ácido salicílico se determinará mediante un método colorimétrico de comparación y se restará de la acidez volátil.

7.2. **Reactivos**

7.2.1. Ácido clorhídrico (HCl) (ρ_{20} = 1,18 a 1,19 g/ml).

7.2.2. Tiosulfato sódico ($Na_2S_2O_3 \cdot 5\ H_2O$) 0,1 M.

7.2.3. Solución de sulfato de hierro III y de amonio ($Fe_2(SO_4)_3 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 24\ H_2O$) al 10 % (m/v).

7.2.4. Solución de salicilato de sodio ($Na\ C_7H_5O_3$) 0,01 M que contenga 1,60 g/l.

7.3. **Procedimiento**

7.3.1. *Caracterización del ácido salicílico en el destilado de la acidez volátil*

Inmediatamente después de haber efectuado la determinación de la acidez volátil y la corrección del dióxido de azufre libre y combinado, verter en el matraz erlenmeyer 0,5 ml de ácido clorhídrico (7.2.1), 3 ml de solución 0,1 M de tiosulfato sódico (7.2.2) y 1 ml de solución de sulfato de hierro III y de amonio (7.2.3).

En presencia de ácido salicílico, aparece una coloración violeta.

7.3.2. *Determinación del ácido salicílico*

En el matraz erlenmeyer anterior, indicar mediante una señal de referencia el volumen del destilado. Vaciar y enjuagar el matraz.

Someter una nueva toma de ensayo de 20 ml de vino al arrastre por vapor de agua y recoger el destilado en el matraz erlenmeyer hasta la señal de referencia. Añadir 0,3 ml de ácido clorhídrico puro (7.2.1) y 1 ml de solución de sulfato de hierro III y de amonio (7.2.3). El contenido del matraz erlenmeyer adquiere una coloración violeta.

En un matraz erlenmeyer idéntico al de la señal de referencia, verter agua destilada hasta el mismo nivel que el del destilado. Añadir 0,3 ml de ácido clorhídrico puro (7.2.1), 1 ml de solución de sulfato de hierro III y de amonio (7.2.3). Verter con una bureta la solución de salicilato sódico 0,01 M (7.2.4) hasta que se obtenga una coloración violeta de la misma intensidad que la del matraz erlenmeyer que contiene el destilado de vino.

Se denominará n" al número de mililitros utilizados.

7.4. **Corrección de la acidez volátil**

Restar el volumen 0,1 · n''' en ml, del volumen n, en ml de solución de hidróxido sódico 0,1 M utilizado para valorar la acidez del destilado en una determinación distinta de la de la acidez volátil.

15. ACIDEZ FIJA

1. FUNDAMENTO

La acidez fija se determina por la diferencia entre la acidez total y la acidez volátil.

2. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La acidez fija se expresa en:

— miliequivalentes por litro,

— gramos de ácido tartárico por litro.

16. ÁCIDO TARTÁRICO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de referencia**

El ácido tartárico precipitado en forma de racemato de calcio, se determina gravimétricamente. Esta determinación puede completarse con una determinación volumétrica de comparación. Las condiciones de precipitación: pH, volumen total empleado, concentración de los iones que precipitan, son tales que el racemato cálcico precipita totalmente mientras que el D(−) tartrato de calcio queda en solución.

Cuando se haya añadido al vino ácido metatartárico (lo que hace que la precipitación del racemato de calcio sea incompleta), deberá hidrolizarse previamente.

1.2. **Método usual**

El ácido tartárico, aislado mediante una columna cambiadora de aniones, se determina por espectrofotometría en el eluido por la coloración roja que da con el ácido vanádico. Este eluido contiene asimismo ácidos láctico y málico, que no interfieren.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. **Método gravimétrico**

2.1.1. *Reactivos*

2.1.1.1. Solución de acetato cálcico que contenga 10 g/l de calcio:

Carbonato de calcio puro: ($CaCO_3$) ..... 25 g

Ácido acético (CH_3COOH) (ρ_{20} = 1,05 g/ml) ..... 40 ml

Agua csp ..... 1 l

2.1.1.2. Racemato de calcio cristalizado: ($CaC_4O_6H_4 \cdot 4H_2O$):

En un vaso de precipitados de 400 ml introducir 20 ml de una solución de ácido L(+) tartárico de 5 g/l, 20 ml de una solución de D(−) tartrato amónico de 6,126 g/l y 6 ml de la solución de acetato cálcico de 10 g de calcio por litro (2.1.1.1).

Dejar que precipite durante dos horas. Recoger el precipitado en un crisol filtrante de porosidad nº 4, lavarlo tres veces con 30 ml de agua destilada. Secar en estufa a 70 °C hasta lograr un peso constante. Con las cantidades de reactivos empleados, se obtienen aproximadamente 340 mg de racemato de calcio cristalizado, con 4 moléculas de agua.

Conservar en un frasco tapado.

2.1.1.3. Licor de precipitación (pH: 4,75):

— Ácido D(−) tartárico	122 mg
— Solución de hidróxido de amonio 25 % (ρ_{20} = 0,97 g/ml) diluido al 25 % (v/v)	0,3 ml
— Solución de acetato de calcio de 10 g de calcio por litro	8,8 ml
— Agua csp	1 000 ml

Disolver el ácido D(−) tartárico y añadir el hidróxido amónico, llevar el volumen aproximadamente a 900 ml con agua; añadir 8,8 ml de solución de acetato cálcico (2.1.1.1), llevar hasta el litro y ajustar el pH a 4,75 con ácido acético. Al ser el racemato cálcico ligeramente soluble en este licor, es conveniente añadir 5 mg de racemato de calcio por litro, agitar durante 12 horas (una noche) y filtrar.

2.1.2. *Procedimiento*

2.1.2.1. Vinos a los que no se ha añadido ácido metatartárico

En un vaso de precipitados de 600 ml, echar 500 ml de licor de precipitación y 10 ml de vino. Mezclar y ayudar la precipitación frotando las paredes del vaso con la extremidad de una varilla de vidrio. Dejar precipitar durante 12 horas (una noche).

Filtrar en el crisol filtrante de porosidad nº 4 tarado y colocado sobre un kitasato, arrastrando el precipitado. Lavar el vaso donde se ha realizado la precipitación con el filtrado y arrastrar las últimas partículas de precipitado.

Secar en estufa a 70 °C hasta lograr un peso constante. Pesar: se denominará p al peso del racemato de calcio, $CaC_4O_6H_4$ cristalizado con 4 moléculas de agua.

2.1.2.2. Vinos a los que se ha añadido ácido metatartárico

Cuando se trate de un vino al que se haya añadido ácido metatartárico o se suponga que ha habido tal adición, se procederá a la hidrólisis de este ácido en las condiciones siguientes:

En un erlenmeyer de 50 ml, echar 10 ml de vino y 0,4 ml de ácido acético puro (CH_3COOH, ρ_{20} = 1,05 g/ml). Cerrar el erlenmeyer con un tapón provisto de un escape y llevar a ebullición durante 30 minutos. Una vez frío, pasar el líquido del erlenmeyer a un vaso de precipitados; enjuagar el erlenmeyer 2 veces con 5 ml de agua y continuar como se indica en el procedimiento anterior.

El ácido metatartárico se expresa como ácido tartárico en el resultado de la determinación.

2.1.3. *Expresión de los resultados*

Una molécula de racemato cálcico corresponde a 1/2 molécula de ácido (L+) tartárico del vino.

La cantidad de ácido tartárico por litro de vino será:

— 384,5 p, expresada en miliequivalentes,

— 28,84 p, expresada en gramos de ácido tartárico,

— 36,15 p, expresada en gramos de tartrato ácido de potasio.

Se dará con un decimal.

2.2. **Determinación volumétrica de comparación**

2.2.1. *Reactivos*

2.2.1.1. Ácido clorhídrico (ClH) (ρ_{20} = 1,18 a 1,19 g/ml) diluido a 1/5 (v/v).

2.2.1.2. Solución de EDTA, 0,05 M:

— EDTA (sal disódica bihidratada del ácido etilendiaminotetracético ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$) ... 18,61 g

— Agua destilada csp: ..... 1 000 ml

2.2.1.3. Solución de hidróxido sódico al 40 % (m/v):

Hidróxido sódico (NaOH) ..... 40 g

Agua destilada csp ..... 100 ml

2.2.1.4. Indicador complexométrico del EDTA. 1 % (m/m):

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

Sulfato sódico anhidro (Na_2SO_4) ..... 100 g

2.2.2. *Procedimiento*

Después de pesado se vuelve a colocar el crisol con el precipitado de racemato de calcio en el matraz de vacío y se disuelve el precipitado en 10 ml de ácido clorhídrico diluido (2.2.1.1). Lavar el crisol filtrante con 50 ml de agua destilada.

Añadir 5 ml de hidróxido sódico al 40 % (2.2.1.3) y unos 30 mg del indicador (2.2.1.4). Valorar con EDTA 0,05 M (2.2.1.2). Se denominará n al número de mililitros empleados.

2.2.3. *Expresión de resultados*

La cantidad de ácido tartárico por litro de vino expresado en miliequivalentes es igual a: 5 n.

El resultado se dará con 1 decimal.

La cantidad de ácido tartárico por litro de vino, expresado en gramos de ácido tártrico es igual a: 0,375 n.

El resultado se dará con 1 decimal.

La cantidad de ácido tartárico por litro de vino, expresado en gramos de tartrato ácido de potasio es igual a: 0,470 n.

El resultado se dará con 1 decimal.

3. MÉTODO USUAL

3.1. **Reactivos**

3.1.1. *Para el tratamiento preliminar del vino*

3.1.1.1. Ácido acético (CH_3COOH, ρ_{20} = 1,05 g/ml) diluido al 30 % (v/v).

3.1.1.2. Intercambiador de aniones de fuerte basicidad (por ejemplo, intercambiador de aniones III de Merck de 20 a 50 mallas) en forma de acetato. Preparar una suspensión con el intercambiador (100 g aproximadamente) en 200 ml de ácido acético diluido al 30 % (3.1.1.1).

Mantener en contacto durante 24 horas, como mínimo, antes de su utilización. Conservar el intercambiador en ácido acético diluido al 30 % para posteriores determinaciones.

3.1.1.3. Ácido acético (CH_3COOH, ρ_{20} = 1,05 g/ml) diluido al 0,5 % (v/v).

3.1.1.4. Solución de sulfato sódico (Na_2SO_4) al 7,1 g/100 ml (0,5 M).

Disolver 71 g de sulfato sódico anhidro (Na_2SO_4) en agua destilada hasta alcanzar un volumen de 1 000 ml.

3.1.2. *Para la determinación del ácido tartárico*

3.1.2.1. Solución de acetato de sodio ($NaCH_3COO$) al 27 % (m/v).

Disolver 270 g de acetato de sodio anhidro ($NaCH_3COO$) en agua destilada hasta alcanzar un volumen de 1 000 ml.

3.1.2.2. Reactivo vanádico

Disolver 10 g de metavanadato amónico (NH_4VO_3) en 150 ml de solución de hidróxido sódico M (3.1.2.10). Pasar esta solución a un matraz aforado de 500 ml y añadir 200 ml de solución de acetato de sodio al 27 % (3.1.2.1). Enrasar a 500 ml con agua destilada.

3.1.2.3. Solución de H_2SO_4 1 M.

3.1.2.4. Solución 0,5 M de H_2SO_4.

3.1.2.5. Solución 0,05 M de H_2SO_4.

3.1.2.6. Solución de ácido peryódico 0,05 M.

En un matraz aforado de 1 000 ml, introducir 10,696 g de peryodato sódico ($NaIO_4$), 50 ml de ácido sulfúrico 0,5 M (3.1.2.4) y añadir agua destilada hasta obtener 1 000 ml.

3.1.2.7. Solución de glicerol al 10 % (m/v).

En un matraz aforado de 100 ml poner 10 g de glicerol ($C_3H_8O_3$) y añadir agua destilada hasta obtener 100 ml.

3.1.2.8. Solución de sulfato sódico al 7,1 g p. 100 ml (véase 3.1.1.4).

3.1.2.9. Solución de ácido tartárico ($C_4H_6O_5$) de 1 g/l.

En un matraz aforado de 500 ml, poner 0,5 g de ácido tartárico, 6,66 ml de solución de hidróxido sódico M (3.1.2.10) y enrasar a 500 ml con la solución de sulfato de sodio al 7,1 % (3.1.1.4).

3.1.2.10. Solución de hidróxido sódico (NaOH) 1 M.

3.2. **Aparatos**

3.2.1. Columna de vidrio de 300 mm de longitud, aproximadamente, y de 10 a 11 mm de diámetro interior, provista de una llave.

3.2.2. Espectrofotómetro que permita medir la absorbancia a una longitud de onda de 490 nm, con cubetas de 10 mm de recorrido óptico.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Preparación de la columna intercambiadora de iones*

Poner en la columna de vidrio un tapón de lana de vidrio por encima de la llave (3.2.1). Impregnar el tapón con agua destilada. Verter en la columna 10 ml de suspensión de inter-

cambiador de iones en fase de acetato (3.1.1.2). Dejar decantar. Colocar un tapón de lana de vidrio en la superficie del intercambiador depositado (para evitar que, en posteriores lavados, el intercambiador vuelva a formar una suspensión).

El intercambiador sólo deberá utilizarse una vez.

3.3.2. *Aislamiento de los ácidos orgánicos*

Con la llave abierta, dejar que salga la solución de ácido acético hasta que rebase aproximadamente 2 a 3 mm del tapón de lana de vidrio, colocado por encima del intercambiador.

Añadir 10 ml de solución de ácido acético al 0,5 % (3.1.1.3) y dejar que salga el líquido hasta que llegue al mismo nivel de la vez anterior. Repetir 4 veces más la operación de lavado.

Tras el último lavado, con la llave cerrada, verter sobre el intercambiador 10 ml de vino o de mosto. Dejar salir el vino gota a gota (a razón de 1 gota por segundo) e interrumpir la salida cuando el líquido se halle justo por encima del intercambiador. Volver a añadir en la columna 10 ml de solución de ácido acético al 0,5 % (3.1.1.3), dejar salir a la misma velocidad que la vez anterior y repetir el lavado otras 7 veces con 10 ml de agua cada vez. En el último lavado, cerrar la llave en cuanto el nivel del líquido se halle un poco por encima del tapón superior de lana de vidrio.

Eluir los ácidos fijados sobre el intercambiador con la solución de sulfato sódico al 7,1 % (3.1.1.4); recoger el eluido en un matraz aforado de 100 ml hasta el enrase.

3.3.3. *Determinación del ácido tartárico*

3.3.3.1. Vinos a los que no se ha añadido ácido metatartárico.

Introducir 20 ml de eluido en 2 matraces erlenmeyer «*a*» y «*b*».

El matraz erlenmeyer «*a*» sirve para efectuar la determinación, el matraz erlenmeyer «*b*», en el que el ácido tartárico es destruido por el ácido peryódico, sirve de testigo.

Echar en el matraz erlenmeyer «*a*»:

— 2 ml de H_2SO_4M (3.1.2.3),

— 5 ml de $H_2SO_4$0,05 M (3.1.2.5),

— 1 ml de glicerol al 10 % (3.1.2.7).

Echar en el matraz erlenmeyer «*b*»:

— 2 ml de H_2SO_4M (3.1.2.3),

— 5 ml de solución de ácido peryódico 0,05 M (3.1.2.6).

Esperar 15 minutos. Añadir:

— 1 ml de solución de glicerol al 10 % (3.1.2.7) para destruir el exceso de ácido peryódico.

Esperar 2 minutos.

Verter entonces, agitando, primero en el matraz erlenmeyer «*b*», y acto seguido en el matraz «*a*», 5 ml de reactivo vanádico (3.1.2.2). Poner en marcha inmediatamente un cronómetro y colocar el contenido de los matraces «*a*» y «*b*» en las cubetas del espectrofotómetro. Al cabo de 90 segundos medir la absorbancia, a 490 nm, del líquido procedente del matraz erlenmeyer «*a*» (determinación), con relación al testigo (matraz «*b*»). Si el eluido contiene mucho ácido tartárico y por consiguiente la absorbancia es muy elevada, diluir el eluido con la solución de sulfato sódico al 7,1 % y proceder a la medida de la solución diluida.

3.3.3.2. Vinos a los que se ha añadido ácido metatartárico.

Cuando se trate de un vino al que se ha añadido ácido metatartárico o se suponga que ha habido tal adición, se procederá a la hidrólisis de ese ácido tal como se indica para el método de referencia.

Una vez frío, se vierte el contenido del matraz erlenmeyer, así como el agua de lavados (2 veces con 5 ml cada vez), en la parte superior de la columna de intercambiador. Continuar como se ha indicado antes.

El ácido metatartárico está incluido como ácido tartárico en el resultado de la determinación.

3.3.4. *Obtención de la curva patrón*

Verter 10, 20, 30, 40 y 50 ml de solución de ácido tartárico de 1 g/l (3.1.2.9) en matraces aforados de 100 ml y enrasar con la solución de sulfato de sodio al 7,1 % (3.1.1.4). Las concentraciones de estas soluciones corresponden en las condiciones de trabajo a contenidos en el vino de 1, 2, 3, 4 y 5 g de ácido tartárico por litro.

En 2 matraces erlenmeyer «*a*» y «*b*», verter 20 ml de estas soluciones y continuar como se ha indicado anteriormente para el eluido de vino.

La representación gráfica de las absorbancias de estas soluciones en función del contenido en ácido tartárico es una recta que se curva ligeramente hacia el punto cero. Si fuera necesario precisar esta parte de la curva, medir soluciones cuyo contenido sea inferior a 1,0 g/l.

3.3.5. *Expresión de los resultados*

Llevar a la curva patrón la absorbancia resultante de medir el eluido, para obtener el contenido del vino en ácido tartárico expresado en gramos por litro.

El contenido se indicará con 1 decimal.

17. ACIDO CÍTRICO

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El ácido cítrico se transforma en oxaloacetato y acetato en una reacción catalizada por la citrato-liasa (CL):

$$\text{citrato} \xrightleftharpoons{CL} \text{oxaloacetato} + \text{acetato}$$

En presencia de malato-deshidrogenasa (MDH) y de lactato-deshidrogenasa (LDH), el oxaloacetato y su derivado de decarboxilación, el piruvato, se reducen en L-malato y L-lactato por la nicotinamida-adenina-dinucleótida reducida (NADH):

$$\text{Oxaloacetato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{MDH} \text{L-malato} + \text{NAD}^+$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{LDH} \text{L-lactato} + \text{NAD}^+$$

La cantidad de NADH oxidada a NAD^+ en estas reacciones es proporcional al citrato presente. La oxidación de la NADH se mide mediante la disminución de su absorbancia a una longitud de onda de 340 nm.

2. REACTIVOS

2.1. Tampón pH 7,8
(glicilglicina 0,51 M; pH = 7,8; Zn^{2+}: $0,6 \cdot 10^{-3}$M):

disolver 7,13 g de glicilglicina en 70 ml, aproximadamente, de agua bidestilada; ajustar el pH a 7,8 con 13 ml, aproximadamente, de solución de hidróxido de sodio 5 M; añadir 10 ml de solución de cloruro de cinc $Z_n\,Cl_2$ de 80 mg en 100 ml y enrasar hasta 100 ml con agua bidestilada.

La solución permanecerá estable durante 4 semanas, por lo menos, a + 4 °C.

2.2. Solución de nicotinamida-adenin-dinucleótido reducida (NADH) (aproximadamente $6 \cdot 10^{-3}$M); disolver 30 mg de NADH y 60 mg de $NaHCO_3$ con 6 ml de agua bidestilada.

2.3. Solución de malato-deshidrogenasa/lactato-deshidrogenasa (MDH/LDH), (0,5 mg MDH/ml; 2,5 mg LDH/ml): se hace una mezcla de 0,1 ml MDH (5 mg MDH/ml) / 0,4 ml de solución de sulfato de amonio (3,2 M) y 0,5 ml LDH (5 mg/ml). Esta solución se mantendrá estable durante 1 año, por lo menos, a + 4 °C.

2.4. Citrato-liasa CL (5 mg de proteína/ml). Disolver 168 mg de liofilizado en 1 ml de agua muy fría. La solución es estable por lo menos durante 1 semana a + 4 °C y durante 4 semanas congelada.

Antes de la determinación, se recomienda proceder a la comprobación de la actividad de la enzima.

2.5. Polivinil polipirrolidona (PVPP)

Nota: El conjunto de estos reactivos se comercializan preparados.

3. MATERIAL

3.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas a 340 nm, máximo de absorción de la NADH.

En su defecto, fotómetro de espectro discontinuo que permita efectuar medidas a 334 nm o a 365 nm. Dado que se trata de medidas absolutas de absorbancia (no existe gama de contraste, sino referencia al coeficiente de extinción de la NADH), deben controlarse las escalas de las longitudes de onda y de las absorbancias del aparato.

3.2. Cubetas de vidrio de 1 cm de trayecto óptico o cubetas de uso único.

3.3. Micropipetas que permitan tomar volúmenes comprendidos entre 0,02 ml y 2 ml.

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La determinación del citrato se efectúa directamente sobre el vino sin decoloración previa y sin dilución, siempre que el contenido en ácido cítrico sea inferior a 400 mg/l. Si no, proceder a la dilución del vino de forma que la concentración de citrato se sitúe entre 20 y 400 mg/l (cantidad de citrato en la muestra comprendida entre 5 µg y 80 µg).

En el caso del vino tinto rico en compuestos fenólicos, se recomienda tratarlo previamente con PVPP:

poner en suspensión en el agua alrededor de 0,2 g de PVPP y dejar reposar 15 minutos. Filtrar sobre filtro de pliegues.

Añadir a 10 ml de vino colocado dentro de un erlenmeyer de 50 ml, el PVPP húmedo extraído con la espátula del filtro. Agitar durante 2 a 3 minutos y filtrar.

5. PROCEDIMIENTO

Se ajusta la longitud de onda del espectrofotómetro a 340 nm y se realizan las medidas de absorbancia en cubetas de 1 cm, habiendo ajustado el cero de absorbancia con respecto al aire (sin cubetas en el trayecto óptico). Introducir en cubetas de 1 cm:

	Testigo	Muestra
Solución 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Solución 2.2	0,10 ml	0,10 ml
Muestra	—	0,20 ml
Agua bidestilada	2,00 ml	1,80 ml
Solución 2.3	0,02 ml	0,02 ml

Mezclar; transcurridos unos 5 minutos, leer las absorbancias de las soluciones testigo y muestra (A_1).

Añadir:

Solución 2.4	0,02 ml	0,02 ml

Mezclar; esperar a que finalice la reacción (unos 5 minutos) y leer las absorbancias de las soluciones testigo y muestra (A_2).

Determinar las diferencias de absorbancias ($A_1 - A_2$) del testigo y de la muestra.

Restar la diferencia de absorbancias del testigo de la diferencia de absorbancias de la muestra:

$$\Delta A = \Delta A_M - \Delta A_T$$

Nota: El tiempo necesario para la acción de las enzimas puede variar de un lote a otro. Únicamente se ha dado a título indicativo. Se recomienda determinarlo para cada lote.

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

El contenido en ácido cítrico se expresa en miligramos por litro (mg/l) sin decimales.

6.1. **Método de cálculo**

La concentración en miligramos por litro viene dada por la fórmula general:

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

Según las condiciones operatorias expresadas en el punto 5 serían:

V = volumen total en ml (3,14 ml)

V = volumen de la muestra en ml (0,2 ml)

P M = masa molecular de la sustancia que va a determinarse (ácido cítrico anhidro = 192,1)

d = trayecto óptico de la cubeta en cm (1 cm)

ε = coeficiente de extinción del NADH:

a 340 nm, $\varepsilon = 6{,}3\ mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$.

Se obtiene:

$C = 479 \cdot \Delta A$

Si al preparar la muestra se ha efectuado una dilución, multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Nota:

a 334 nm: $C = 488 \cdot \Delta A$ ($\varepsilon = 6{,}2\ mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

a 365 nm: $C = 887 \cdot \Delta A$ ($\varepsilon = 3{,}4\ mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

6.2. **Repetibilidad (r):**

Contenido en ácido cítrico inferior a 400 mg/l: r = 14 mg/l

Contenido en ácido cítrico superior a 400 mg/l: r = 28 mg/l

6.3. **Reproductibilidad (R):**

Contenido en ácido cítrico inferior a 400 mg/l: R = 39 mg/l.

Contenido en ácido cítrico superior a 400 mg/l: R = 65 mg/l.

18. ÁCIDO LÁCTICO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de referencia:**

En presencia de nicotinamida-adenin-dinucleótido (NAD), el ácido láctico total (L-lactato y D-lactato) se oxida a piruvato en una reacción catalizada por L-lactato deshidrogenasa (L-LDH) y D-lactato deshidrogenasa (D-LDH).

El equilibrio de la reacción está desplazado en el sentido del lactato. La eliminación del piruvato del medio de reacción desplaza el equilibrio hacia la formación de piruvato.

En presencia de L-glutamato, el piruvato se transforma en L-alanina en una reacción catalizada por la glutamato-piruvato-transaminasa (GPT)

(1) L-lactato + $NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{L-LDH}}$ piruvato + NADH + H^+

(2) D-lactato + $NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{L-LDH}}$ piruvato + NADH + H^+

(3) Piruvato + L-glutamato $\xrightleftharpoons{\text{GPT}}$ L-alanina + a cetoglutarato

La formación de NADH, medida por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 340 nm, es proporcional a la cantidad de lactato presente.

Nota:

El ácido L-láctico puede determinarse individualmente mediante las reacciones (1) y (3).

El ácido D-láctico puede determinarse individualmente mediante las reacciones (2) y (3).

1.2. **Método usual:**

El ácido láctico, separado en una columna de resina cambiadora de aniones, es oxidado a etanal y se determina por colorimetría después de reaccionar con nitroprusiato y piperidina.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. **Reactivos**

2.1.1. Solución tampón pH 10 (glicilglicina 0,6 moles/l; L-glutamato 0,1 moles/l).

Disolver 4,75 g de glicilglicina, 0,88 g de ácido L-glutámico en unos 50 ml de agua bidestilada; ajustar el pH a 10 con solución de hidróxido de sodio 10 M y llevar a 60 ml con agua bidestilada.

La solución permanece estable por lo menos 12 semanas a + 4 °C.

2.1.2. Solución de nicotinamida-adenin-dinucleótido (NAD) de alrededor de $40 \cdot 10^{-3}$ M; disolver 900 mg de NAD en 30 ml de agua bidestilada. La solución permanece estable por lo menos 4 semanas a + 4 °C.

2.1.3. Suspensión de glutamato-piruvato-transaminasa (GPT) de 20 mg/ml. La suspensión es estable por lo menos 1 año a + 4 °C.

2.1.4. Suspensión de L-lactato-deshidrogenasa (L-LDH) de 5 mg/ml. La suspensión es estable por lo menos 1 año a + 4 °C.

2.1.5. Suspensión de D-lactato-deshidrogenasa (D-LDH) de 5 mg/ml. La solución es estable por lo menos 1 año a + 4 °C.

Antes de proceder a la determinación, se recomienda comprobar la actividad de las enzimas.

Nota: El conjunto de estos reactivos se comercializan preparados.

2.2. **Material**

2.2.1. Espectrofotómetro que permita efectuar las medidas de 340 nm, máximo de absorción de la NADH.

En su defecto, fotómetro de espectro discontinuo que permita efectuar medidas de 334 nm o a 365 nm.

Dado que se trata de medidas absolutas de absorbancia (no se utiliza curva de calibrado sino el coeficiente de extinción de la NADH), deben controlarse las escalas de las longitudes de onda y de las absorbancias del aparato.

2.2.2. Cubetas de vidrio o desechables de 1 cm de trayecto óptico.

2.2.3. Micropipetas que permitan tomar volúmenes comprendidos entre 0,02 ml y 2 ml.

2.3. **Preparación de la muestra**

Evítese tocar con los dedos la parte del vidrio que entre en contacto con el medio reactivo, ya que podría ser causa de un aporte de ácido L-láctico que falsearía el resultado.

Si la concentración en ácido láctico es inferior a 100 mg/l, la determinación del lactato se efectúa directamente sobre el vino sin decoloración previa ni dilución. Si la concentración del vino en ácido láctico está comprendida entre:

100 mg/l y 1 g/l, diluir 1/10 con agua bidestilada,

1 g/l y 2,5 g/l, diluir 1/25 con agua bidestilada,

2,5 g/l y 5 g/l, diluir 1/50 con agua bidestilada.

2.4. **Procedimiento**

2.4.1. *Determinación del ácido láctico total*

La solución tampón debe llevarse a una temperatura entre 20 – 25° antes de proceder a la dosificación.

Se ajusta la longitud de onda del espectrofotómetro a 340 nm y se realizan las medidas de absorbancia en cubetas de 1 cm de trayecto óptico, habiendo ajustado el cero de absorbancia con respecto al aire (sin cubetas en el trayecto óptico) o con respecto al agua.

Introducir en las cubetas de 1 cm de trayecto óptico:

	Blanco	Muestra
Solución 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Solución 2.1.2	0,20 ml	0,20 ml
Agua bidestilada	1,00 ml	0,80 ml
Suspensión 2.1.3	0,02 ml	0,02 ml
Muestra	—	0,20 ml

Mezclar con un agitador de vidrio o con una varilla de material sintético de punta plana; transcurridos 5 minutos, aproximadamente, medir las absorbancias de las soluciones blanco y muestra (A_1).

Añadir 0,02 ml de la solución 2.1.4 y 0,05 ml de la solución 2.1.5, homogeneizar, esperar a que finalice la reacción (unos 30 minutos) y medir las absorbancias de las soluciones blanco y muestra (A_2).

Determinar las diferencias de absorbancia ($A_2 - A_1$) para el blanco y la muestra.

Restar la diferencia de absorbancias del blanco (ΔA_B) de la diferencia de absorbancias de la muestra (ΔA_M).

$$\Delta A = \Delta A_M - \Delta A_B$$

2.4.2. *Determinación del ácido L-láctico y del ácido D-láctico*

La determinación del ácido L-láctico y D-láctico puede realizarse por separado aplicando el procedimiento indicado para el ácido láctico total, pero operando tras haber determinado A_1.

Añadir 0,02 ml de la solución 2.1.4, homogeneizar, esperar a que finalice la reacción (alrededor de 20 minutos) y medir las absorbancias de las soluciones blanco y muestra (A_2).

Añadir 0,05 ml de solución 2.1.5, homogeneizar, esperar a que finalice la reacción (alrededor de 30 minutos) y medir las absorbancias de las soluciones blanco y muestra (A_3).

Determinar las diferencias de absorbancias ($A_2 - A_1$) para el ácido L-láctico y ($A_3 - A_2$) para el ácido D-láctico en el caso del blanco y en el caso de la muestra.

Restar la diferencia de absorbancias del blanco de la diferencia de absorbancias de la muestra.

$$\Delta A = \Delta A_M - \Delta A_B$$

Nota: El tiempo necesario para la acción de las enzimas puede variar de un lote a otro. Aquí sólo se ha dado a título indicativo. Se recomienda determinarlo para cada lote. Si se determina únicamente el ácido L-láctico, el tiempo de incubación tras la adición de la L-lactato-deshidrogenasa puede reducirse a 10 minutos.

2.5. **Expresión de los resultados**

La concentración en ácido láctico se expresa en gramos por litro (g/l) con 1 decimal.

2.5.1. *Método de cálculo*

La concentración en gramos por litro se calcula con la fórmula general:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\varepsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot A$$

V = volumen total en mililitros (V = 2,24 ml de ácido L-láctico, V = 2,29 ml de ácido D-láctico y ácido láctico total)

v = volumen de la muestra en mililitros (aquí: 0,2 ml)

PM = masa molecular de la sustancia que va a determinarse (aquí: ácido DL-láctico = 90,08).

d = trayecto óptico de la cubeta en centímetros (aquí: 1 cm)

ε = coeficiente de extinción de la NADH a 340 nm
$\varepsilon = 6{,}3\ (\text{mmol}^{-1} \cdot 1 \cdot \text{cm}^{-1})$

2.5.1.1. Ácido láctico total y ácido D-láctico

$$C = 0{,}164 \cdot \Delta A$$

Si al preparar la muestra se ha efectuado una dilución, multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Nota:

Medida a 334 nm: $C = 0{,}167 \cdot \Delta A$ ($\varepsilon = 6{,}2\ \text{mmol}^{-1} \cdot 1 \cdot \text{cm}^{-1}$)

Medida a 365 nm: $C = 0{,}303 \cdot \Delta A$ ($\varepsilon = 3{,}4\ \text{mmol}^{-1} \cdot 1 \cdot \text{cm}^{-1}$)

2.5.1.2. Ácido L-láctico

$C = 0{,}160 \cdot \Delta A$

Si al preparar la muestra se ha efectuado una dilución, multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Nota:

Medida a 334 nm: $C = 0{,}163 \cdot \Delta A$ ($\varepsilon = 6{,}2$ mmol$^{-1} \cdot 1 \cdot$ cm^{-1})

Medida a 365 nm: $C = 0{,}297 \cdot \Delta A$ ($\varepsilon = 3{,}4$ mmol$^{-1} \cdot 1 \cdot$ cm^{-1})

2.5.2. *Repetibilidad* (r)

$r = 0{,}02 + 0{,}07\ x_i$ g/l

x_i = concentración en ácido láctico de la muestra en gramos por litro.

2.5.3. *Reproductibilidad* (R)

$R = 0{,}05 + 0{,}125\ x_i$ g/l

x_i = concentración en ácido láctico de la muestra en gramos por litro.

3. MÉTODO USUAL

3.1.1. *Para el tratamiento preliminar del vino*

Véase el método del ácido tartárico (3.1.1. Método usual).

3.1.2. *Para la determinación del ácido láctico*

3.1.2.1. Solución 0,1 M de sulfato de cerio IV en ácido sulfúrico 0,35 M.

Disolver en frío 40,431 g de sulfato de cerio IV, $Ce(SO_4)_2, 4H_2O$, en 350 ml de una solución M de ácido sulfúrico exactamente valorada (3.1.2.4). Llevar a 1 000 ml con agua destilada.

3.1.2.2. Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 2,5 M.

3.1.2.3. Solución de acetato de sodio de 270 g por litro (preparada a partir de acetato de sodio seco $Na\ CH_3COO$).

3.1.2.4. Solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1 M.

3.1.2.5. Solución de nitroprusiato de sodio [$Na_2\ (Fe\ (CN)_5NO) \cdot 2H_2O$] al 2 % (m/v).

Conservar en un frasco bien cerrado y en la oscuridad.
Límite de conservación de la solución: 8 días.

3.1.2.6. Solución de piperidina ($C_5H_{11}N$) al 10 % (v/v).

3.1.2.7. Solución de ácido láctico M.

Diluir en 400 ml de agua 100 ml de ácido láctico ($C_3H_6O_3$). Verter esta solución en una cápsula y calentarla en un baño de agua hirviendo durante 4 horas, completando de vez en cuando el volumen con agua destilada. Llevar a un litro después de haber enfriado. Valorar el ácido láctico en 10 ml de esta solución con una solución de hidróxido de sodio M (3.1.2.8). Ajustar la solución hasta 1 M de ácido láctico (90 g).

3.1.2.8. Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M.

3.2. **Material**

3.2.1. Columna de vidrio de una longitud de aproximadamente 300 mm y de un diámetro interno de 10 a 11 mm provista de un regulador de flujo.

3.2.2. Baño de agua termostatado a 65 °C.

3.2.3. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas de absorbancia a una longitud de onda de 570 nm con cubetas de 1 cm de trayecto óptico.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Preparación de la columna cambiadora de iones*

Véase el método «ácido tartárico» (3.3.1. Método usual).

3.3.2. *Aislamiento de ácidos orgánicos*

Véase el método «ácido tartárico» (3.3.2. Método usual).

3.3.3. *Determinación del ácido láctico*

Verter 10 ml de eluido en un tubo de vidrio de 50 ml de capacidad provisto de un tapón esmerilado, añadir 10 ml de solución de sulfato de cerio (3.1.2.1). Agitar; introducir el tubo en un baño de agua con termostato a 65 °C durante exactamente 10 minutos. Al efectuar la inmersión, levantar durante algunos segundos el tapón de vidrio para compensar la presión provocada por el calentamiento; seguidamente, cerrar herméticamente el tubo para evitar la pérdida del etanal formado. Retirar el tubo, enfriar bajo un chorro de agua para lograr una temperatura aproximada de 20 °C, añadir 5 ml de la solución de hidróxido de sodio 2,5 M (3.1.2.2), mezclar y filtrar.

Extraer una muestra de 15 ml de filtrado y verterla en un matraz de 50 ml, con tapón esmerilado, en el que previamente se habrá vertido una mezcla homogénea de 5 ml de solución de acetato de sodio al 27 % (3.1.2.3) y de 2 ml de ácido sulfúrico M (3.1.2.4). Añadir 5 ml de la solución de nitroprusiato de sodio (3.1.2.5), mezclar; añadir a continuación 5 ml de la solución de piperidina (3.1.2.6), mezclar rápidamente e introducir de inmediato esta solución en la cubeta del espectrofotómetro. La coloración resultante, que varía entre el verde y el violeta, se mide 570 nm con respecto al aire (sin cubeta alguna en el trayecto óptico); la coloración aumenta disminuyendo rápidamente a continuación.

Seguir la evolución de la absorbancia correspondiente y escoger como valor definitivo su valor máximo.

Si el eluido contiene demasiado ácido láctico y la absorbancia resulta demasiado alta, diluir el eluido con la solución de sulfato de sodio al 7,1 % (3.1.1) y medir la solución diluida.

3.3.4. *Obtención de la curva patrón*

Introducir 10 ml de la solución de ácido láctico 1 M (3.1.2.7) y 10 ml de solución valorada de hidróxido de sodio 1 M (3.1.2.8) en un matraz aforado de 1 000 ml y enrasar con la solución de sulfato de sodio al 7,1 % (3.1.1). Extraer 5, 10, 15, 20 y 25 ml e introducirlos en matraces aforados de 100 ml. Enrasar con la solución de sulfato de sodio al 7,1 %. Tomar 10 ml de las soluciones obtenidas y determinar en el caso de cada una el valor de la absorbancia siguiendo el procedimiento utilizado para el eluido y que se describe en el punto 3.3.3.

Estas soluciones corresponden a los eluidos obtenidos a partir de vinos con un contenido de 0,45 — 0,9 — 1,35 — 1,80 y 2,25 g/l de ácido láctico.

La representación gráfica de las absorbancias de estas soluciones en función del contenido en ácido láctico es una recta.

3.4. **Expresión de los resultados**

Llevar la absorbancia medida en el eluido a la curva patrón para obtener el contenido del vino en ácido láctico en gramos por litro.

Este contenido se expresa con 1 decimal.

Nota: Los vinos con más de 250 mg/l de dióxido de azufre pueden presentar un contenido en ácido etanalsulfúrico que se valora como ácido láctico. En este caso, es preciso corregir el resultado de la determinación con el del obtenido en la operación complementaria siguiente: mezclar 15 ml de eluido en una probeta, provista de un tapón esmerilado, con 5 ml de acetato de sodio al 27 % y 2 ml de H_2SO_4 0,775 M (77,5 ml de H_2SO_4M se enrasa a 100 ml con agua destilada). A continuación, como al determinar el ácido láctico se añaden 5 ml de nitroprusiato de sodio al 2 % y 5 ml de piperidina al 10 %. Tras haber efectuado la mezcla, medir la absorbancia en las condiciones descritas para la determinación del ácido láctico. Trasladar esta absorbancia a la curva de calibrado para obtener el valor aparente B del ácido láctico en gramos por litro, debido al ácido etanalsulfónico. Si L' es el contenido aparente del vino en ácido láctico en gramos por litro, el contenido real L en ácido láctico se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$L = L' - B \cdot 0{,}4 \text{ (g/l)}$$

19. ÁCIDO L-MÁLICO

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

En presencia de nicotinamida-adenin-dinucleótido (NAD), el ácido L-málico (L-malato) se oxida en oxaloacetato en una reacción catalizada por la L-malato-deshidrogenasa (L-MDH).

El equilibrio de la reacción está desplazado en el sentido del malato. La eliminación del oxaloacetato del medio reactivo desplaza el equilibrio de la reacción hacia la formación de oxaloacetato. En presencia de L-glutamato, el oxaloacetato se transforma en L-aspartato, reacción catalizada por el glutamato-oxaloacetato-transaminasa (GOT).

(1) L-malato + NAD^+ $\xrightleftharpoons{\text{L-MDH}}$ oxaloacetato + NADH + H^+

(2) Oxaloacetato + L-glutamato $\xrightleftharpoons{\text{GOT}}$ L-aspartato + α – cetoglutarato

La formación de NADH, medida por el aumento de la absorbancia a la longitud de onda de 340 nm, es proporcional a la cantidad de L-malato presente.

2. REACTIVOS

2.1. Solución tampón pH 10
(glicilglicina 0,60 M; L-glutamato 0,1 M)

Disolver 4,75 g de glicilglicina y 0,88 g de ácido L-glutámico en unos 50 ml de agua bidestilada; ajustar el pH a 10 con unos 4,6 ml de solución de hidróxido sódico 10 M y llevar hasta 60 ml con agua bidestilada.

La solución permanecerá estable por lo menos 12 semanas a + 4 °C.

2.2. Solución de nicotinamida-adenin-dinucleótido (NAD) de alrededor de $47 \cdot 10^{-3}$ M: disolver 420 mg de NAD en 12 ml de agua bidestilada. La solución permanece estable por lo menos 4 semanas a + 4 °C.

2.3. Suspensión de glutamato-oxaloacetato-transaminasa (GOT) de 2 mg/ml. La suspensión es estable por lo menos 1 año a + 1 °C.

2.4. Suspensión de L-malato-deshidrogenasa (L-MDH) de 5 mg/ml. La suspensión es estable por lo menos 1 año a + 4 °C.

Nota: El conjunto de reactivos necesarios se comercializan preparado.

3. MATERIAL

3.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas a 340 nm, máximo de absorción de la NADH.

En su defecto, fotómetro de espectro discontinuo que permita efectuar medidas a 334 nm o a 365 nm.

Dado que se trata de medidas absolutas de absorbancia (no se utiliza curva de calibrado, sino el coeficiente de extinción de la NADH), deben controlarse las escalas de las longitudes de onda y de las absorbancias del aparato.

3.2. Cubetas de vidrio o cubetas desechables de 1 cm de trayecto óptico.

3.3. Micropipetas que permitan tomar volúmenes comprendidos ente 0,01 y 2 ml.

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Normalmente, la determinación del L-malato se efectúa directamente sobre el vino sin decoloración previa ni dilución, siempre que el contenido en ácido L-málico sea inferior a

350 mg/l (medidas a 365 nm). Si no, proceder a la dilución del vino con agua bidestilada de forma que la concentración en L-malato se sitúe entre 30 y 350 mg/l (cantidad de L-malato en la muestra comprendida entre 3 y 35 µg.

Si la concentración del vino en malato es inferior a 30 mg/l, el volumen de la muestra puede aumentarse hasta 1 ml. En este caso, se reducirá el volumen de agua que debe añadirse para que los volúmenes totales sean iguales en las dos cubetas.

5. PROCEDIMIENTO

Se ajusta la longitud de onda del espectrofotómetro a 340 nm y se realizan las medidas de absorbancia en cubetas de 1 cm de trayecto óptico, habiendo ajustado el cero de absorbancia con respecto al aire (sin cubetas en el trayecto óptico) o con respecto al agua.

Introducir en las cubetas de 1 cm de trayecto óptico:

	Blanco	Muestra
Solución 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Solución 2.2	0,20 ml	0,20 ml
Agua bidestilada	1,00 ml	0,90 ml
Suspensión 2.3	0,01 ml	0,01 ml
Muestra	—	0,10 ml

Mezclar; transcurridos 3 minutos, aproximadamente, medir las absorbancias de las soluciones blanco y muestra (A_1).

Añadir:

Solución 2.4	0,01 ml	0,01 ml

Mezclar; esperar a que finalice la reacción (de 5 a 10 minutos) y medir las absorbancias de las soluciones blanco y muestra (A_2).

Determinar las diferencias de absorbancia ($A_2 - A_1$) del blanco (ΔA_B) y de la muestra (ΔA_M).

Restar la diferencia de absorbancias del blanco de la diferencia de absorbancias de la muestra

$$\Delta A = \Delta A_M - \Delta A_B$$

Nota: El tiempo necesario para la acción de las enzimas puede variar de un lote a otro. Aquí sólo se ha dado a título indicativo. Se recomienda determinarlo para cada lote.

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La concentración en ácido L-málico se expresa en gramos por litro (g/l) con 1 decimal.

6.1. **Método de cálculo**

La concentración en gramos por litro se calcula con la fórmula general:

$$C = \frac{V \cdot PM}{\varepsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta A$$

V = volumen total en ml (aquí 2,22 ml)

v = volumen de la muestra en ml (aquí: 0,1 ml)

PM = masa molecular de la sustancia que va a determinarse (aquí: ácido L-málico = 134,09)

d = trayecto óptico de la cubeta en cm (aquí: 1 cm)

ε = coeficiente de extinción de la NADH a 340 nm $\varepsilon = 6{,}3\ mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

Para el L-malato se obtiene:

$C = 0{,}473 \cdot \Delta A\ g/l$

Si al preparar la muestra se ha efectuado una dilución, multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Nota:

Medida a 334 nm: $C = 0{,}482\ x\Delta A$
Medida a 365 nm: $C = 0{,}876\ x\Delta A$

6.2. **Repetibilidad** (r)

$r = 0{,}03 + 0{,}034\ x_i$
x_i = concentración en ácido málico de la muestra en gramos por litro.

6.3. **Reproductibilidad** (R)

$R = 0{,}05 + 0{,}071\ x_i$
x_i = concentración en ácido málico de la muestra en gramos por litro.

20. ÁCIDO D-MÁLICO
(método enzimático)

TEST-COMBINACIÓN PARA 30 MUESTRAS APROXIMADAMENTE

1. FUNDAMENTO

En presencia de D-malato deshidrogenasa decarboxil (D-MDH) el ácido D-málico (D-malato) se oxida a oxalacetato con la nicotinamida-adenin-dinucleotido (NAD).

El oxalacetato formado se transforma en piruvato y ácido carbónico.

$$\text{D-Malato} + \text{NAD}^+ \xrightleftharpoons{\text{D-MDH}} + \text{Piruvato} + CO_2 + \text{NADH} + H^+$$

La formación de NADH, medida por el aumento de la absorbancia a la longitud de onda de 334, 340 y 365 nm, es proporcional a la cantidad del D-malato presente.

2. COMPOSICIÓN DEL TEST

a) Frasco nº 1 que contiene aproximadamente 30 ml de solución tampón Hepes 4-[2-hidroxietil)-1-piperacinetan-ácido sulfónico], pH = 9 y estabilizadores.

b) Frasco nº 2 que contiene aproximadamente 210 mg de NAD liofilizado.

c) Tres frascos nº 3 que contienen D-MDH liofilizado, cada uno de ellos con aproximadamente 8 U.

2.1. **Preparación de las soluciones.**

2.1.1. Utilizar el contenido del frasco 2a sin diluir.

Termostatizar las soluciones a 20 a 25 °C antes de su empleo.

2.1.2. Disolver el contenido del frasco 2b en 4 ml de agua bidestilada.

2.1.3. Disolver el contenido de uno de los frascos 2c en 0,6 ml de agua bidestilada. Termostatizar la solución a 20 a 25 °C antes de su empleo.

2.2. **Estabilidad de las solucionnes**

El contenido del frasco 2.1.1 se conserva al menos un año a +4 °C.

La solución 2.1.2 se conserva aproximadamente tres semanas a +4 °C y 2 meses a −20 °C.

La solución 2.1.3 se conserva cinco días a +4 °C.

3. MATERIAL

3.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas a 340 nm, máximo de absorción del NADH y del NADPH.

En su defecto, fotómetro de espectro discontinuo que permita efectuar medidas a 334 nm o a 365 nm.

3.2. Cubetas de vidrio o cubetas desechables de 1 cm de trayecto óptico.

3.3. Micropipetas que permitan tomar volúmenes comprendidos entre 0,01 y 2 ml.

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La cantidad de D-malato en la cubeta debe estar comprendida entre 2 µg y 50 µg. Si no, diluir la muestra con agua destilada de tal manera que la concentración en malato esté comprendida entre 0,02 y 0,5 g/l si se va a medir a 365 nm o entre 0,02 y 0,3 g/l si la lectura se efectúa a 340 o 334 nm.

Si la diferencia de absorción ΔA es $< 0{,}100$, el volumen de la muestra puede aumentarse hasta 1,80 ml. En este caso, se reducirá el volumen de agua que debe añadirse para que los volúmenes totales sean iguales en las dos cubetas (muestra y testigo).

5. PROCEDIMIENTO

Temperatura: 20 a 25 °C.

Volumen de test: 2,95 ml.

Medir frente a aire (sin cubeta en el trayecto óptico) o frente al agua.

Introducir en las cubetas	Testigo	Muestra
Solución 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Solución 2.1.2	0,10 ml	0,10 ml
Agua bidestilada	1,80 ml	1,70 ml
Muestra	–	0,10 ml
Mezclar, después de aproximadamente 6 minutos leer las absorbancias de las soluciones (A_1). Comenzar la reacción por adición de:		
Solución 2.1.3	0,05 ml	0,05 ml
Mezclar. Al final de la reacción (aproximadamente 20 minutos), leer las absorbancias de las soluciones (A_2).		

Determinar la diferencia de las absorbancias ($A_2 - A_1$) del testigo y de la muestra. Restar la diferencia de absorbancia del testigo de la diferencia de absorbancia de la muestra.

$\Delta A = \Delta_M - \Delta A_T$

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La concentración en ácido D-málico se expresa en gramos por litro (g/l) con 1 decimal.

6.1. Método de cálculo

La fórmula general para el cálculo de las concentraciones es la siguiente:

$$c = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v \times 1\,000} \times \Delta A \text{ (g/l)}$$

V = volumen total (ml)

v = volumen de la muestra (ml)

PM = peso molecular de la sustancia a determinar

d = espesor de la cubeta (cm)

ε = coeficiente de absorción del NADH:

340 nm = 6,3 ($mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

Hg 334 nm = 6,18 ($mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

Hg 365 nm = 3,4 ($mmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-1}$)

Se obtiene así para el D-malato:

$$c = \frac{2,95 \times 134,9}{\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1\,000} \times \Delta A = \frac{3,956}{\varepsilon} \times \Delta A \text{ (g de D-malato/l de solución de la muestra)}$$

Si se ha efectuado alguna dilución durante la preparación de la muestra, multiplicar el resultado por el factor de dilución F.

6.2. **Repetibilidad (r)**

$r = 0{,}05\ x_i$

6.3. **Reproductibilidad**

$R = 0{,}1\ x_i$

x_i = concentración en ácido D-málico en g/l.

21. ÁCIDO MÁLICO TOTAL

MÉTODO USUAL

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El ácido málico aislado mediante una columna de resina cambiadora de aniones, se determina colorimétricamente en el eluido, debido a la coloración amarilla que da con ácido sulfúrico del 96 % y ácido cromotrópico. Las sustancias contenidas en el eluido interfieren en esta reacción. Pero estas sustancias reaccionan contrariamente al ácido málico, con ácido sulfúrico del 86 % y ácido cromotrópico. Para eliminar esta interferencia, es suficiente restar de la absorbancia obtenida después de la reacción con el ácido cromotrópico y el ácido sulfúrico del 96 %, la absorbancia obtenida después de la reacción con ácido cromotrópico y ácido sulfúrico del 86 %.

2. MATERIAL

2.1. Columna de vidrio de 250 mm de longitud aproximada y 35 mm de diámetro interior, provista de llave.

2.2. Columna de vidrio de 300 mm de longitud aproximada y 10 a 11 mm de diámetro interior, provista de llave.

2.3 Baño de agua a 100 °C.

2.4. Espectrofotómetro que permita hacer lecturas de absorbancia a la longitud de onda de 420 nm con cubetas de 10 mm de trayecto óptico.

4. REACTIVOS

3.1. Cambiador de iones de fuerte basicidad (por ejemplo, Merck III).

3.2. Hidróxido sódico al 5 % (m/v).

3.3. Ácido acético al 30 % (m/v).

3.4. Ácido acético al 0,5 % (m/v).

3.5. Solución de sulfato sódico (Na_2SO_4) al 10 % (m/v).

3.6. Ácido sulfúrico concentrado del 95 – 97 % (m/m).

3.7. Ácido sulfúrico del 86 % (m/m).

3.8. Solución de ácido cromotrópico al 5 % (m/v).

Esta solución se debe preparar inmediatamente antes de su utilización, disolviendo 500 mg de sal disódica del ácido cromotrópico ($C_{10}H_6NA_2O_8S_2$, $2H_2O$) en 10 ml de agua.

3.9. Solución de ácido dl-málico de 0,5 g/l.

Disolver 250 mg/l de ácido málico ($C_4H_6O_5$) en una cantidad suficiente de sulfato sódico al 10 % (3,5) y enrasar en un matraz aforado de 500 ml.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación del cambiador de iones.**

Colocar por encima de la llave de la columna de vidrio de 35 × 250 mm un tapón de lana de vidrio impregnado de agua destilada. Echar en la columna el cambiador de iones

puesto en suspensión en agua y de forma que quede un espacio libre de 50 mm aproximadamente por encima de la superficie del intercambiador hasta el extremo superior de la columna. Después de pasar 1 000 ml de agua destilada, llenar la columna con la solución de hidróxido de sodio al 5 % y dejar pasar el líquido hasta, aproximadamente, 2 a 3 mm por encima de la superficie del cambiador de iones, repetir dos veces más esta operación y dejar en contacto durante una hora. Lavar la columna con 1 000 ml de agua destilada. Seguidamente llenar la columna con la solución de ácido acético al 30 %, dejar pasar el líquido hasta aproximadamente 2 a 3 mm por encima de la superficie del cambiador de iones, repetir esta operación 2 veces y dejar en contacto al menos durante 24 horas antes de emplearla. Conservar el cambiador de iones en ácido acético al 30 % para las determinaciones posteriores.

4.2. **Preparación de la comlumna cambiadora de iones.**

Colocar en la columna de vidrio de 11 × 300 mm por encima de la llave un tapón de lana de vidrio, añadir a la columna el cambiador de iones preparado como se ha descrito en 4.1. hasta una altura de 10 cm. Estando la llave abierta, dejar pasar la solución de ácido acético al 30 % hasta aproximadamente 2 a 3 mm por encima de la superficie del cambiador. Lavar el cambiador con 50 ml de la solución de ácido acético al 0,5 %.

4.3. **Alslamiento del ácido dl-málico.**

Añadir sobre el cambiador preparado como se ha descrito en 4.2 10 ml de vino o de mosto. Dejar pasar el vino gota a gota (flujo medio, una gota por segundo) hasta aproximadamente 2 a 3 mm por encima de la superficie del cambiador de iones. Llevar la columna, primeramente con unos 50 ml de solución de ácido acético al 0,5 % y después con 50 ml aproximadamente de agua destilada; dejar pasar estos líquidos con la misma velocidad que el vino.

Eluir los ácidos fijados sobre el cambiador de iones, con la solución de sulfato sódico al 10 % con la misma velocidad que las operaciones precedentes (1 gota/segundo), recoger el eluido en un matraz aforado de 100 ml hasta el enrase.

Se puede regenerar el cambiador de iones como se ha descrito en 4.1.

4.4. **Determinación del ácido málico.**

Tomar dos tubos de boca ancha de 30 ml de capacidad con tapón esmerilado «A» y «B». Introducir en cada tubo 1,0 ml de eluido y 1,0 ml de solución de ácido cromotrópico al 5 %. Añadir en el tubo «A» 10,0 ml de ácido sulfúrico al 96 % (medida). Tapar y agitar para obtener una homogeneidad perfecta sin mojar el esmerilado. Sumergir los tubos durante 10 minutos exactamente en un baño de agua puesto previamente a ebullición. Enfriar los tubos a 20 °C en la oscuridad. Exactamente 90 minutos después del comienzo del enfriamiento, medir la absorbancia del tubo «B» con relación al testigo (tubo «A») a la longitud de onda de 420 nm en cubetas de 10 mm de trayecto óptico.

4.5. **Obtención de la curva patrón.**

Tomar 5, 10, 15 y 20 ml de la solución de ácido DL-málico de 0,5 g/l, introducirlos en matraces aforados de 50 ml de capacidad, enrasar con la solución de sulfato sódico al 10 %.

Las soluciones así obtenidas corresponden a eluidos obtenidos a partir de vinos que contienen 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 g/l de ácido DL-málico.

Continuar como se indica en 4.4.

Los valores de las absorbancias obtenidos con estas soluciones patrón se representan en función de los contenidos en ácido málico correspondientes, obteniéndos una recta que pasa por el origen.

Dado que la intensidad de la coloración depende mucho de la concentración de ácido sulfúrico, es necesario comprobar la curva de calibrado al menos en un punto en cada serie de medidas para poner de manifiesto un cambio eventual en la concentración del ácido sulfúrico.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Llevar la absorbancia media para el eluido, sobre la curva de calibrado, para obtener el contenido en ácido DL-málico en gramos por litro. Este contenido se expresa con un decimal.

Repetibilidad:

Contenido < 2 g/l : r = 0,1 g/l,

Contenido > 2 g/l : r = 0,2 g/l.

Reproductibilidad:

R = 0,3 g/l.

22. ÁCIDO SÓRBICO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de determinación por espectrofotometría de absorción en el ultravioleta**

El ácido sórbico (ácido hexadieno -2,4 oico trans, trans) separado por destilación con arrastre de vapor de agua se determina en el destilado mediante espectrofotometría de absorción en el ultravioleta. Las sustancias que interfieren en la medida de la absorción en el ultravioleta se eliminan por evaporación a sequedad del destilado de la muestra, ligeramente alcalinizado por una solución de hidróxido de calcio. Los contenidos inferiores a 20 mg/l deben confirmarse por cromatografía en capa fina (sensibilidad: 1 mg/l).

1.2. **Método de determinación por cromatografía de gases**

El ácido sórbico extraído en éter etílico se determina por cromatografía en fase gaseosa en presencia de un patrón interno.

1.3. **Método de detección de trazas por cromatografía de capa fina**

El ácido sórbico extraído en éter etílico se separa por cromatografía en capa fina y se evalúa su concentración en forma semicuantitativa.

2. MÉTODO DE DETERMINACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA

2.1. **Reactivos**

2.1.1. Ácido tartárico $C_4H_6O_6$ cristalizado.

2.1.2. Solución de hidróxido de calcio CA $(OH)_2$, aproximadamente 0,02 M.

2.1.3. Solución de referencia de ácido sórbico de 20 mg por litro.

Disolver 20 mg de ácido sórbico $C_6H_8O_2$ en 2 ml aproximadamente de solución 0,1 M de hidróxido de sodio. Verter en un matraz aforado de 1 000 ml, enrasar con agua. También pueden disolverse 26,8 mg de sorbato de potasio $C_6H_7KO_2$ en agua y completar con agua hasta 1 000 ml.

2.2. **Material**

2.2.1. Aparato de destilación con arrastre de vapor de agua (véase «Acidez volátil»).

2.2.2. Baño de agua a 100 °C.

2.2.3. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas a una longitud de onda de 256 nm con cubetas de cuarzo de 1 cm de trayecto óptico.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Destilación*

Introducir en el borboteador del aparato de arrastre de vapor de agua 10 ml de vino, añadir 1 a 2 g de ácido tartárico (2.1.1). Recoger 250 ml de destilado.

2.3.2. *Curva patrón*

Preparar mediante diluciones con agua a partir de la solución de referencia (2.1.3) cuatro soluciones de referencia diluidas que contengan respectivamente 0,5; 1; 2,5 y 5 mg de

ácido sórbico por litro; medir con el espectrofotómetro sus respectivas absorbancias a 256 nm respecto al agua destilada. Trazar la curva de absorbancias en función de la concentración de las soluciones. La relación es lineal.

2.3.3. *Determinación*

Introducir en una cápsula de 55 mm de diámetro 5 ml de destilado, añadir 1 ml de solución de hidróxido de calcio (2.1.2) y una gota de solución de sulfato de cobre (2.1.3). Evaporar hasta sequedad en un baño de agua hirviendo.

Recoger el residuo con algunos mililitros de agua destilada, arrastrar cuantitativamente en un matraz aforado de 20 ml y enrasar con el agua de lavado. Medir la absorbancia a 256 nm con el espectrofotómetro en comparación con una solución testigo obtenida con 1 ml de solución de hidróxido cálcico (2.1.2) y dilución a 20 ml con agua.

Llevar el valor de la absorbancia medida a la recta patrón y deducir la concentración C de la solución en ácido sórbico.

Nota: En la práctica corriente, esta evaporación a sequedad puede no ser necesaria. Medir directamente la absorbancia en el destilado diluido a 1/4 frente a agua destilada.

2.4. **Expresión de los resultados**

2.4.1. *Método de cálculo*

La concentración en ácido sórbico del vino expresada en miligramos por litro es igual a:

$100 \times C$

C = concentración en ácido sórbico de la solución analizada mediante espectrofotometría, expresada en miligramos por litro.

3. MÉTODO DE DETERMINACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN FASE GASEOSA

3.1. **Reactivos**

3.1.1. Éter etílico $(C_2H_5)_2O$ destilado en el momento de su utilización.

3.1.2. Solución del patrón interno: solución de ácido undecanoico $C_{11}H_{22}O_2$ en etanol al 95 % vol de 1 g por litro.

3.1.3. Solución acuosa de ácido sulfúrico H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml) diluido 1/3 (v/v).

3.2. **Material**

3.2.1. Cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de llama. Columna de acero inoxidable (4 m × 1/8 de pulgada) previamente tratada con dimetildicloro-silano y rellena con fase estacionaria, compuesta por una mezcla de succinato de dietilenglicol (5 %) y ácido fosfórico (1 %) (DEGS-H_3PO_4) o por una mezcla de adipato de dietilenglicol (7 %) y ácido fosfórico (1 %) (DEGA — H_3PO_4). Soporte sólido de Gaschrom Q 80 a 100 mallas.

Para el tratamiento con dimetilidicloro-silano (DMDCS), hacer pasar por la columna una solución al 2 – 3 g de DMDCS en tolueno, lavar inmediatamente la columna con metanol y secar haciendo pasar una corriente de nitrógeno, después de exano y de nuevo una corriente de nitrógeno. Rellenarla a continuación.

Condiciones de trabajo:

Temperatura del horno: 175 °C.

Temperatura del inyector y del detector: 230 °C.

Gas portador: nitrógeno (flujo ≃ 20 ml/min.).

3.2.2. Microjeringa de 10 microlitros de capacidad graduada en 0,1 microlitros.

Observación: Otros tipos de columnas pueden igualmente permitir una buena separación, por ejemplo la columna capilar (FFAP).

El modo operatorio descrito arriba se da a título de ejemplo.

3.3. **Modo operatorio**

3.3.1. *Preparación de la muestra para su análisis*

Introducir 20 ml de vino en un tubo de vidrio con una capacidad de unos 40 ml y provisto de un tapón esmerilado. Añadir 2 ml de solución del patrón interno (3.1.2) y 1 ml de solución diluida de ácido sulfúrico (3.1.3).

Tras agitar el tubo invirtiéndolo varias veces, añadir al contenido 10 ml de éter etílico (3.1.1). Extraer el ácido sórbico en la fase orgánica agitando el tubo durante 5 mintos. Dejar decantar.

3.3.2. *Preparación de la solución de referencia*

Seleccionar un vino cuyo cromatograma del extracto etéreo no presente ningún pico en el tiempo de retención correspondiente al ácido sórbico; añadir a este vino ácido sórbico hasta la concentración de 100 mg por litro. Tratar 20 ml de la muestra según el procedimiento descrito en el apartado 3.3.1.

3.3.3. *Cromatografía*

Inyectar sucesivamente en el cromatógrafo 2 µl de la fase etérea obtenida en el apartado 3.3.2 y 2 µl de la fase etérea obtenida en el apartado 3.3.1.

Registrar los cromatogramas respectivos: comprobar la identidad de los tiempos de retención respectivos del ácido sórbico y del patrón interno. Medir la altura (o el área) de cada uno de los picos registrados.

3.4. **Expresión de los resultados**

3.4.1. *Método de cálculo*

La concentración de ácido sórbico del vino analizado, expresada en miligramos por litro, es igual a:

$$C_S = 100 \cdot \frac{h}{H} \cdot \frac{I}{i}$$

H = altura del pico del ácido sórbico en la solución de referencia,

h = altura del pico del ácido sórbico en la muestra para análisis,

I = altura del pico del patrón interno en la solución de referencia,

i = altura del pico del patrón interno en la muestra para análisis.

Nota: la concentración de ácido sórbico puede determinarse del mismo modo a partir de las medidas de la superficie de los picos respectivos.

4. MÉTODO DE DETECCIÓN DE TRAZAS DE ÁCIDO SÓRBICO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

4.1. **Reactivos**

4.1.1. Éter etílico, $(C_2H_5)_2O$

4.1.2. Solución acuosa de ácido sulfúrico H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml) diluido 1/3 (v/v).

4.1.3. Solución de referencia de ácido sórbico en una mezcla hidroetanólica a 10 % de etanol (vol) aproximadamente con 20 mg por litro.

4.1.4. Fase móvil: hexano — pentano — ácido acético (20:20:3)
(C_6H_{14} — C_5H_{12} — CH_3COOH, ρ_{20} = 1,05 g/ml).

4.2. **Material**

4.2.1. Placas para cromatografía de capa fina listas para su uso de 20 × 20 cm recubiertas de gel de poliamida (espesor : 0,15 mm), al que se añadirá un indicador de fluorescencia.

4.2.2. Cubeta para cromatografía de capa fina.

4.2.3. Micropipeta o microjeringa que permitan obtener volúmenes de 5 microlitros con una aproximación de ± 0,1 microlitros.

4.2.4. Lámpara de ultravioleta (254 nm).

4.3. **Procedimiento**

4.3.1. *Preparación de la muestra para análisis*

Introducir 10 ml de vino en un tubo de vidrio con una capacidad de unos 25 ml y provisto de un tapón esmerilado. Añadir 1 ml de solución de ácido sulfúrico diluido (4.1.2) y 5 ml de éter etílico (4.1.1). Agitar el tubo invirtiéndolo varias veces. Dejar decantar.

4.3.2. *Preparación de las soluciones diluidas de referencia*

A partir de la solución 4.1.3, prepara mediante dilución cinco soluciones diluidas de referencia con 2, 4, 6, 8 y 10 mg de ácido sórbico por litro, respectivamente.

4.3.3. *Cromatografía*

Utilizando una microjeringa o una micropipeta, depositar a 2 cm del borde inferior de la placa 5 µl de fase etérea obtenida en 4.3.1 y 5 µl de cada una de las soluciones diluidas de referencia (4.3.2); la distancia entre los puntos será de 2 cm.

Introducir la fase móvil (4.1.4) en la cubeta para cromatografía a una altura de aproximadamente 0,5 cm y dejar que la atmósfera de la cubeta se sature de los vapores de los disolventes. Colocar la placa en la cubeta. Dejar desarrollar el cromatograma entre 12 y 15 cm (la duración del desarrollo es de unos 30 min.). Secar la placa bajo una corriente de aire frío. Examinar el cromatograma bajo una lámpara ultravioleta a 254 nm.

Las manchas de ácido sórbico, de color violeta oscuro, destacarán sobre el fondo amarillo fluorescente de la placa.

4.4. **Expresión de los resultados**

La comparación entre la intensidad de la mancha de la muestra para análisis y las manchas de las soluciones de referencia permite evaluar de manera semicuantitativa la concentración de ácido sórbico entre 2 y 10 mg por litro. Podrá determinarse una concentración igual a 1 mg por litro con un depósito de 10 µl de solución de la muestra para análisis.

Podrán determinarse concentraciones superiores a 10 mg por litro con un volumen de depósito de la solución para análisis inferior a 5 µl (medido con una microjeringa).

23. ÁCIDO L-ASCÓRBICO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

Los métodos que se proponen permiten determinar el ácido L-ascórbico y el ácido dehidroascórbico presentes en vinos o mostos.

1.1. Método de referencia (fluorimétrico)

El ácido L-ascórbico se oxida por la acción del carbón activo a ácido dehidroascórbico. Este compuesto forma un compuesto fluorescente por reacción con la ortofenilendiamina (OPDA). La realización de una prueba testigo en presencia de ácido bórico permite determinar la fluorescencia parásita (mediante la formación de un complejo de ácido bórico — ácido dehidroascórbico) y deducirla de la determinación fluorimétrica.

1.2. Método usual (colorimétrico)

El ácido L-ascórbico se oxida con el yodo en ácido dehidroascórbico. Este compuesto se precipita con la 2,4 dinitrofenilhidrazina como *bis* (2,4 — dinitrofenilhidrazona). Después de una separación por cromatografía en capa fina y solubilización en medio acético, este compuesto, de color rojo, se determina por espectrofotometría a 500 nm.

2. MÉTODO DE REFERENCIA (MÉTODO FLUORIMÉTRICO)

2.1. Reactivos

2.1.1. Solución de dihidrocloruro de ortofenilendiamina ($C_6H_{10}Cl_2N_2$) a 0,02 g por 100 ml, preparada inmediatamente antes de su empleo.

2.1.2. Solución de acetato de sodio trihidratado ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) de 500 g/l.

2.1.3. Solución mixta de ácido bórico y acetato de sodio.

Disolver 3 g de ácido bórico H_3BO_3 en 100 ml de solución de acetato de sodio (2.1.2). Dicha solución debe prepararse inmediatamente antes de su uso.

2.1.4. Solución de ácido acético cristalizable CH_3COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml) diluida al 56 % (v/v). ajustada a un pH 1,2, aproximadamente.

2.1.5. Solución de referencia de ácido L-ascórbico de 1 g/l.

Disolver en el momento de su uso 50 mg de ácido L-ascórbico $C_6H_8O_6$, previamente deshidratado en un desecador fuera del alcance de la luz, en 50 ml de solución de ácido acético (2.1.4).

2.1.6. Carbón activo muy puro para análisis (1)

Introducir en un matraz erlenmeyer cónico de 2 litros de capacidad 100 g de carbón activo, añadir 500 ml de una solución de ácido clorhídrico (HCl) (ρ_{20} = 1,19 g/ml) al 10 p. 100 (v/v). Llevar a ebullición, filtrar sobre un filtro de vidrio fritado de porosidad 3. Recoger el carbón así tratado en un erlenmeyer de 2 litros de capacidad, añadir 1 litro de agua, agitar y filtrar sobre un filtro de vidrio fritado de porosidad 3. Repetir dos veces esta operación e introducir el residuo en una estufa regulada a 115 ± 5 °C durante 12 horas (una noche, por ejemplo).

2.2. Material y aparatos

2.2.1. Fluorímetro. Emplear un espectrofluorímetro equipado con una lámpara de espectro continuo utilizando la potencia mínima de la misma. Las longitudes de onda de excitación y emisión óptimas se determinarán previamente y dependen del aparato utilizado. Se puede decir, con carácter indicativo, que la longitud de onda de excitación se sitúa aproximadamente en 350 nm y la de emisión en 430 nm. Cubas con 1 cm de trayecto óptico.

(1) Una de las denominaciones comerciales de este producto es «norite«.

2.2.2. Filtro de vidrio poroso nº 3.

2.2.3. Tubos de ensayo (diámetro ≃ 10 mm).

2.2.4. Agitador para tubos de ensayo.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Preparación de la muestra de vino o mosto*

Poner en un matraz aforado de 100 ml un volumen de vino o mosto y enrasar con la solución de ácido acético al 56 % (2.1.4) con el fin de obtener una solución cuya concentración de ácido L-ascórbico, esté comprendida entre 0 y 60 mg/litro. Homogeneizar el contenido del matraz aforado por agitación. Añadir 2 g de carbón activo (2.1.6) y dejar en contacto durante 15 minutos agitando de vez en cuando. Filtrar sobre papel de filtro ordinario, eliminando los primeros mililitros de filtrado.

Introducir en dos matraces aforados de 100 ml, 5 ml de filtrado y, respectivamente, 5 ml de solución mixta de ácido bórico y de acetato de sodio (2.1.2) y 5 ml de solución de acetato de sodio (2.1.2). Dejar en contacdo durante 15 min. agitando de vez en cuando y enrasar con agua destilada.

Extraer 2 ml del contenido de cada uno de los matraces, añadir 5 ml de solución de ortofenilendiamina (2.1.1) y agitar; dejar en reposo en la oscuridad durante 30 minutos para que la reacción tenga lugar y medir con el espectrofluorímetro.

2.3.2. *Curva patrón*

En tres matraces aforados de 100 ml introducir, respectivamente, 2, 4 y 6 ml de solución de referencia de ácido L-ascórbico (2.1.5), completar hasta 100 ml con la solución de ácido acético (2.1.4) y homogeneizar por agitación. Las soluciones de referencia preparadas contendrán, respectivamente, 2, 4 y 6 mg/100 ml.

Añadir 2 g de carbón activo (2.1.6) en cada uno de los matraces y dejar en contacto durante 15 minutos, agitando de vez en cuando. Filtrar sobre papel filtro ordinario, eliminando los primeros mililitros. Introducir, respectivamente, 5 ml de cada uno de los filtrados obtenidos en tres matraces aforados de 100 ml (primera serie) y repetir la operación en una segunda serie de tres matraces aforados. Añadir en cada uno de los matraces de la primera serie (correspondiente al ensayo testigo) 5 ml de solución mixta de ácido bórico y de acetato de sodio (2.1.3) y en cada uno de los matraces de la segunda serie 5 ml de solución de acetato de sodio (2.1.2).

Dejar en contacto durante 15 minutos, agitando de vez en cuando y completar hasta 100 ml con agua destilada. Extraer 2 ml del contenido de cada uno de los matraces, añadir 5 ml de solución de ortofenilendiamina (2.1.1), agitar y dejar en reposo en la oscuridad durante 30 minutos para que la reacción tenga lugar y medir a continuación con el espectrofluorímetro.

2.3.3. *Determinación fluorimétrica*

Regular para cada solución de la curva patrón y para la solución del problema el cero de la escala de medidas con la prueba testigo correspondiente. Medir, a continuación, la intensidad de la fluorescencia de cada solución patrón y de la solución del problema.

Representar la curva patrón; ésta deberá ser lineal y pasar por el origen. Trasladar a esta recta el valor del problema y deducir el contenido C de ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico de la solución analizada.

2.3.4. *Expresión de los resultados*

La concentración de ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico en el vino o mosto, expresada en miligramos por litro, será la siguiente:

$$C \cdot F$$

F = factor de dilución.

3. MÉTODO USUAL (COLORIMÉTRICO)

3.1. **Reactivos**

3.1.1. Solución de ácido metafosfórico al 30 % (m/v).

Tomar 30 g de ácido metafosfórico $(HPO_3)_n$ previamente triturado en un mortero. Lavar rápidamente por inmersión y agitación en agua destilada. Disolver el ácido lavado en agua destilada agitando esta solución en un matraz aforado de 100 ml y enrasar. La solución obtenida contendrá aproximadamente un 30 % (m/v) de ácido metafosfórico.

3.1.2. Solución de ácido metasfosfórico al 3 % (m/v) preparada inmediatamente antes de su empleo por dilución al 1/10 con agua destilada de la solución 3.1.1.

3.1.3. Solución de ácido metafosfórico al 1 % (m/v) preparada inmediatamente antes de su empleo por dilución al 1/30 con agua destilada de la solución 3.1.1.

3.1.4. Suspensión de poliamida

Poner en suspensión 10 g de polvo de poliamida para cromatografía con 60 ml de agua destilada y dejar en contacto durante 2 horas. La cantidad preparada será suficiente para 4 determinaciones.

3.1.5. Tiourea (H_2NCSNH_2)

3.1.6. Solución de yodo (I_2) 0,05 M.

3.1.7. Solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina al 6 % (m/v). Poner en suspensión 6 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina ($C_6H_6N_4O_4$) en 50 ml de ácido acético glacial (ρ_{20} = 1,05 g/ml); añadir 50 ml de ácido sulfúrico (ρ_{20} = 1,84 g/ml); la 2,4-dinitrofenilhidrazina se disuelve por agitación.

3.1.8. Acetato de etilo ($C_4H_8O_2$) que contenga un 2 % (v/v) de ácido acético glacial (3.1.12).

3.1.9. Cloroformo, $CHCl_3$.

3.1.10. Solución acuosa de almidón al 0,5 % (m/v).

3.1.11. Fase móvil:

acetato de etilo	50 vol.
cloroformo	60 vol.
ácido acético glacial	5 vol.

Dejar en reposo 12 horas antes de su uso.

3.1.12. Ácido acético glacial, CH_3COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml).

3.1.13. Solución de ácido L-ascórbico al 0,1 g por 100 ml en solución de ácido metafosfórico al 1 % (3.1.3).

3.2. **Material y aparatos**

3.2.1. Centrifuga y tubos de centrifugación de 50 ml de capacidad con tapones esmerilados.

3.2.2. Baño de agua refrigerada a una temperatura entre 5 y 10 °C.

3.2.3. Baño de agua refrigerada a una temperatura de 20 °C.

3.2.4. Placas para cromatografía en capa fina dispuestas para el uso de 20 × 20 cm, recubiertas de gel de sílice G (espesor de 0,25 o 0,3 mm).

3.2.5. Cubeta para cromatografía.

3.2.6. Micropipeta que permita obtener volúmenes de 0,2 ml.

3.2.7. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas de absorbancia a 500 nm, equipado con cubetas de 1 cm de espesor.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Oxidación del ácido L-ascórbico en ácido dehidroascórbico*

Introducir 50 ml de vino en un matraz aforado de 100 ml, añadir 15 ml de suspensión de poliamida (3.1.4) y enrasar con la solución de ácido metafosfórico al 3 % (3.1.2). Dejar en contacto durante una hora agitando con frecuencia. Filtrar por filtro de pliegues. Introducir 20 ml de filtrado en un tubo de centrifuga con tapón esmerilado, añadir 1 ml de solución 0,05 M de yodo (3.1.6). Homogeneizar por agitación y, tras 1 minuto, reducir el exceso de yodo con 25 mg de tiourea, aproximadamente.

3.3.2. *Formación y extracción de la bis (2.4-dinitrofenilhidrazona) del ácido dicetogulónico)*

Colocar el tubo en un baño da agua refrigerada entre 5 y 10 °C, añadir 4 ml de solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina (3.1.7) y homogeneizar el contenido del tubo, evitando que se moje el tapón de vidrio. Mantener el tubo bien cerrado en un baño de agua a 20 °C durante 16 horas aproximadamente (una noche, por ejemplo).

Añadir al contenido del tubo de centrifugación 15 ml de acetato de etilo (3.1.8), taparlo, agitar durante 30 segundos y centrifugar durante 5 minutos aplicando una fuerza centrífuga de 350 a 400 g. Tomar con la pipeta 10 ml del acetato de etilo de extracción e introducirlos en un erlenmeyer con tapón esmerilado. Añadir al contenido del tubo de centrifugación 5 ml de acetato de etilo (3.1.8). Agitar durante 30 segundos y centrifugar durante 5 minutos a la misma velocidad. Tomar 5 ml del acetato de etilo de extracción y añadir al erlenmeyer que contenga los 10 ml de la primera extracción y agitar.

3.3.3. *Aislamiento de la bis (2.4-dinitrofenilhidrazona) por cromatografía: deberá efectuarse en las 2 horas siguientes a la extracción (3.3.2)*

Dejando un margen de 2 cm en las partes inferior y lateral de la placa, depositar sobre toda la línea de partida 0,2 ml del extracto de acetato de etilo. Introducir la fase móvil (3.1.11) en la cubeta hasta una altura de 1 cm y dejar que la atmósfera se sature de los vapores del disolvente. Introducir la placa, dejar migrar el solvente hasta el borde superior de la misma y secarla durante una hora bajo una campana ventilada. Raspar con una espátula, perpendicularmente a la dirección de migración, la zona de coloración roja característica de la bis (2,4-dinitrofenilhydrazona). Recoger el sustrato sobre una hoja de papel satinado y trasvasarlo cuantitativamente a un erlenmeyer con tapón esmerilado, añadiendo 4 ml de ácido acético (3.1.12). Dejar en contacto durante 30 minutos agitando con frecuencia. Filtrar con papel filtro de pilegues directamente sobre la cubeta del espectrofotómetro (3.2.7). El filtrado deberá estar perfectamente limpio. Regular el cero de la escala de absorbancias a 500 nm con el ácido acético (3.1.12) y medir la absorbancia de la solución.

3.3.4. *Curva patrón*

Introducir en 3 matraces aforados de 100 ml 5, 10 y 15 ml, respectivamente, de solución de ácido L-ascórbico (3.1.13), enrasar con la solución de ácido metafosfórico al 1 % (3.1.3). Las soluciones así obtenidas contienen 50, 100 y 150 mg por litro de ácido ascórbico, respectivamente.

Tratar 50 ml de cada una de estas soluciones según el procedimiento descrito en los apartados 3.3.1, 3.3.2 y 3.3.3. Trazar la curva patrón, que deberá ser lineal y pasar por el origen.

3.3.5. *Expresión de los resultados*

La concentración del vino en ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico se expresará en miligramos por litro.

3.3.5.1. Cálculo

Llevar a la curva patrón el valor de la absorbancia medida en el apartado 3.3.3 y leer la concentración de ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico de la solución analizada.

Nota: Si la concentración de ácido L-ascórbico + ácido dehidroascórbico es superior a 150 mg/litro, reducir el volumen tomado de muestra a 25,20 o 10 ml de vino y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución F.

24. pH

1. FUNDAMENTO

Medida de la diferencia de potencial entre dos electrodos sumergidos en el líquido que se estudia. Uno de los dos electrodos tiene un potencial que es una función definida del pH del líquido, el otro tiene un potencial fijo y conocido y constituye el electrodo de referencia.

2. MATERIAL Y APARATOS

2.1. pH metro graduado en unidades de pH que permita efectuar medidas con una aproximación de 0,05 como mínimo.

2.2. Electrodos:

2.2.1. Electrodo de vidrio, que deberá conservarse en agua destilada.

2.2.2. Electrodo de referencia de calomelanos de cloruro potásico saturado, que se conservará en una solución saturada de cloruro potásico.

2.2.3. O electrodo combinado, que deberá conservarse en agua destilada.

3. REACTIVOS

3.1. Soluciones tampón:

3.1.1. Solución saturada de tartrato ácido de potasio, al menos de 5,7 g/l de tartrato ácido de potasio ($C_4H_5KO_6$) a 20 °C. Esta solución puede conservarse hasta 2 meses en presencia de 0,1 g de timol por cada 200 ml).

pH { 3,57 a 20 °C
pH { 3,56 a 25 °C
pH { 3,55 a 30 °C

3.1.2. Solución 0,05 M de ftalato ácido de potasio. Solución con 10,211 g/l de ftalato ácido de potasio ($C_8H_5KO_4$) a 20 °C (duración máxima de la solución: 2 meses).

pH { 3,999 a 15 °C
pH { 4,003 a 20 °C
pH { 4,008 a 25 °C
pH { 4,015 a 30 °C

3.1.3. Solución que contenga:

Fosfato monopotásico KH_2PO_4 ..... 3,402 g

Fosfato bipotásico $K_2H\,PO_4$ ..... 4,354 g

Agua csp ..... 1 l

(Duración máxima de la solución: 2 meses)

pH { 6,90 a 15 °C
pH { 6,88 a 20 °C
pH { 6,86 a 25 °C
pH { 6,85 a 30 °C

Nota: También pueden utilizarse soluciones tampones de referencia comerciales.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra para análisis**

4.1.1. *En el caso del mosto y el vino*

Operar directamente sobre los mismos.

4.1.2. *En el caso del mosto concentrado rectificado*

Diluirlo con agua a fin de obtener una concentración de 25 ± 0,5 % (m/m) en azúcares totales (25 ° Brix).

Si P es el contenido en % (m/m) en azúcares totales del mosto concentrado rectificado, pesar una masa igual a

$$\frac{2\,500}{P}$$

y completar con agua hasta 100 g. La conductividad del agua utilizada deberá ser inferior a 2 microsiemens por centímetro.

4.2. **Puesta a cero del aparato**

Se efectuará antes de cada medida, siguiendo las instrucciones dadas para el aparato utilizado.

4.3. **Calibrado del pH metro**

El calibrado se efectúa a 20 °C siguiendo las indicaciones del aparato utilizado, con las soluciones de pH 6,88 y 3,57 a 20 °C. Utilizar la solución tampón de pH 4,00 a 20 °C para controlar el calibrado de la escala.

4.4. **Medida**

Introducir el electrodo en la muestra analizada, cuya temperatura deberá estar comprendida entre 20 y 25 °C y tan próxima como sea posible a 20 °C. Leer directamente el valor del pH.

Efectúense al menos 2 determinaciones de cada muestra.

Tomar como resultado la media aritmética de ambas determinaciones.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

El pH del mosto, del vino o de la solución al 25 % (m/m) (25 ° Brix) del mosto concentrado rectificado se expresarán con 2 decimales.

25. DIÓXIDO DE AZUFRE

1. DEFINICIONES

Se denomina dióxido de azufre al dióxido de azufre presente en el mosto o el vino en las formas siguientes: H_2SO_3, HSO_3^-, cuyo equilibrio es función del pH y de la temperatura:

$$H_2SO_3 \rightleftharpoons H^+ + HSO_3^-$$

H_2SO_3 representa el dióxido de azufre molecular.

Se denomina dióxido de azufre total al conjunto de las distintas formas de dióxido de azufre presentes en el vino en estado libre o combinado con sus componentes.

2. DIÓXIDO DE AZUFRE LIBRE Y TOTAL

2.1. **Fundamento de los métodos**

2.1.1. *Método de referencia*

2.1.1.1. En el caso del vino y el mosto:

Arrastre del dióxido de azufre con una corriente de aire o de nitrógeno; fijación y oxidación por borboteo en una solución diluida y neutra de peróxido de hidrógeno. Valoración del ácido sulfúrico formado con una solución valorada de hidróxido sódico.

El arrastre en frío (10 °C) garantiza la extracción únicamente del dióxido de azufre libre.

En caliente (100 °C aproximadamente) se extrae el dióxido de azufre total.

2.1.1.2. En el caso del mosto concentrado rectificado.

Se extrae el dióxido de azufre total por arrastre en caliente (aproximadamente 100 °C) del mosto concentrado rectificado previamente diluido.

2.1.2. *Método rápido de ensayo* (vinos y mostos)

Determinación del dióxido de azufre libre por valoración yodométrica directa.

Determinación del dióxido de azufre combinado por valoración yodométrica tras hidrólisis alcalina. La suma del dióxido de azufre libre y combinado permite obtener el dióxido de azufre total.

2.2. **Método de referencia**

2.2.1. *Material y aparatos*

2.2.1.1. El material utilizado debe ajustarse al esquema que figura a continuación, principalmente en lo que se refiere al refrigerante.

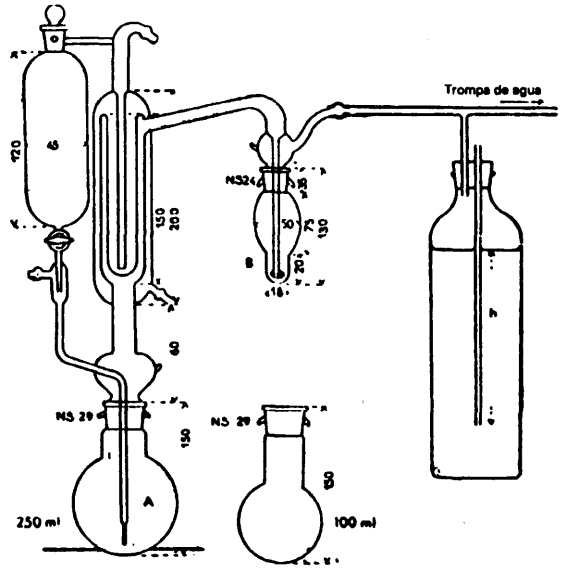


Figura 1

Las dimensiones están indicadas en milímetros. Los diámetros internos de los 4 tubos concéntricos que constituyen el refrigerante son: 45, 34, 27 y 10 mm.

El tubo de conducción de los gases al borboteador B termina en una pequeña esfera de 1 cm de diámetro que lleva, en su mayor círculo horizontal, 20 agujeros de 0,2 mm de diámetro. También puede terminar en una placa de vidrio fritado que garantice la formación de gran número de pequeñas burbujas, realizando así un buen contacto entre las fases gaseosa y líquida.

El flujo de gas que debe recorrer el aparato debe ser de 40 l/h aproximadamente. El frasco situado a la derecha del aparato de destina a limitar de 20 a 30 cm de agua la depresión producida por la trompa de agua. Para poder regular dicha depresión de forma que el caudal sea el correcto, conviene colocar un medidor de flujo de tubo semicapilar entre el borboteador y el frasco.

2.2.1.2. Microbureta

2.2.2. *Reactivos*

2.2.2.1. Ácido fosfórico al 85 % H_3PO_4 (ρ_{20} = 1,71 g/ml).

2.2.2.2. Solución de peróxido de hidrógeno de 9,1 g/l H_2O_2 (3 volúmenes).

2.2.2.3. Reactivo indicador:

rojo de metilo	100 mg,
azul de metileno	50 mg,
Alcohol de 50 % vol	100 ml.

2.2.2.4. Solución de hidróxido d e sodio (NaOH), 0,01 M.

2.2.3. *Procedimiento*

2.2.3.1. Determinación del dióxido de azufre libre

El vino debe mantenerse a 20 °C en un frasco lleno y cerrado durante 2 días antes de la determinación.

— En el borboteador B, colocar de 2 a 3 ml de solución de peróxido de hidrógeno (2.2.2.2) y 2 gotas de reactivo indicador; neutralizar la solución de peróxido de hidrógeno con la solución 0,01 M de hidróxido de sodio (2.2.2.4). Acoplar el borboteador al aparato (2.2.1.1).

— En el matraz A de 250 ml del aparato de arrastre, introducir 50 ml de muestra y 15 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Colocar el matraz en su lugar.

A continuación , hacer borbotear el aire (o el nitrógeno) durante 15 minutos. El dióxido de azufre libre arrastrado se oxida a ácido sulfúrico. Retirar el borboteador del aparato y valorar el ácido formado con la solución de hidróxido sódico 0,01 M (2.2.2.4).

Sea n el número de mililitros utilizados.

2.2.3.2. Expresión de los resultados

Dióxido de azufre libre en mg/l sin decimales

2.2.3.2.1. Cálculo

Dióxido de azufre libre en miligramos por litro: 6,4 n.

2.2.3.3. Determinación del dióxido de azufre total.

2.2.3.3.1. En el caso del mosto concentrado rectificado, utilizar la solución obtenida diluyendo la muestra para analizar al 40 %(m/v) tal y como se indica en el capítulo «Acidez total», en el apartado 5.1.2. En el matraz A de 250 ml del aparato de arrastre introducir 50 ml de esta solución y 5 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Acoplar el matraz al aparato 2.2.1.1.

2.2.3.3.2. Vinos y mostos

Muestras en las que se suponga que el contenido en SO_2 total sea $\leq$ 50 mg/l.

En el matraz A de 250 ml del aparato de arrastre introducir 50 ml de muestra y 15 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Acoplar el matraz al aparato (2.2.1.1).

Sin embargo, hasta el 31 de diciembre de 1992 como fecha límite, para analizar el contenido en dióxido de azufre de los zumos de uva se emplea 5 ml de ácido fósfórico (2.2.2.1) diluido a 25 % (m/V).

2.2.3.3.3. Muestras en las que se suponga que el contenido en SO_2 total sea $\geq$ 50 mg/l.

En el matraz A de 100 ml del aparato de arrastre introducir 20 ml de muestra y 5 ml de ácido fosfórico (2.2.2.1). Acoplar el matraz al aparato (2.2.1.1.).

Introducir en el borboteador B de 2 a 3 ml de solución de peróxido de hidrógeno (2.2.2.2), neutralizarla como se hizo anteriormente, llevar a ebullición el vino contenido en el matraz A con una pequeña llama de 4 a 5 cm de altura que debe tocar ligeramente el fondo del matraz. No colocar bajo el matraz ninguna tela metálica, sino depositarlo sobre un disco perforado con un agujero de 30 mm de diámetro. Se evita así la pirogenación de las materias extractivas del vino sobre las paredes del matraz.

Mantener la ebullición durante el paso de la corriente de aire (o de nitrógeno). En 15 minutos el dióxido de azufre total habrá sido arrastrado y oxidado. Valorar el ácido sulfúrico formado con la solución 0,01 M de hidróxido sódico (2.2.2.4).

Sea n el número de mililitros utilizados.

2.2.3.4. Expresión de los resultados

El dióxido de azufre total se expresa en miligramos por litro (mg/l) o en miligramos por kilogramo (mg/kg) de azúcares totales sin decimales.

2.2.3.4.1. Cálculo

Vinos y mostos

Dióxido de azufre total en miligramos por litro:

— Muestras con bajo contenido en dióxido de azufre (muestra 50 ml):
$6{,}4 \cdot n$

— Otras muestras (muestra 20 ml):
$16 \cdot n$

Mosto concentrado rectificado

Dióxido de azufre en miligramos por kilo de azúcares totales (muestra: 50 ml de muestra preparada (2.2.3.3.1):

$$\frac{1600 \cdot n}{P}$$

P = contenido en % (m/m) de azúcares totales.

2.2.3.4.2. Repetibilidad (r)

Contenido < 50 mg/l (muestra de 50 ml), r = 1 mg/l.

Contenido > 50 mg/l (muestra de 20 ml), r = 6 mg/l.

2.2.3.4.3. Reproductibilidad (R)

Contenido < 50 mg/l (muestra de 50 ml), R = 9 mg/l.

Contenido > 50 mg/l (muestra de 20 ml), R = 15 mg/l

2.3. **Método rápido de ensayo**

2.3.1. *Reactivos*

2.3.1.1. EDTA (complexona III): sal disódica del ácido etilen diamino tetracético dihidratada ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$).

2.3.1.2. Solución 4 M de hidróxido sódico NAOH (160 g/l)

2.3.1.3. Ácido sulfúrico H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml), solución a 1/10 (v/v)

2.3.1.4. Engrudo de almidón, solución de 5 g/l.

Disolver 5 g de almidón en 500 ml de agua aproximadamente. Llevar a ebullición agitando y mantener la ebullición durante 10 minutos; añadir 200 g de cloruro sódico (NaCl). Enrasar hasta un litro después de enfriar.

2.3.1.5. Solución 0,025 M yodo (I_2).

2.3.2. *Material*

2.3.2.1. Erlenmeyer de 500 ml

2.3.2.2. Bureta

2.3.2.3. Pipetas de 1, 2, 5 y 50 ml

2.3.3. *Procedimiento*

2.3.3.1. Dióxido de azufre libre

En un erlenmeyer de 500 ml, echar:

— 50 ml de vino

— 5 ml de engrudo de almidón (2.3.1.4)

— 30 mg de EDTA (complexona III) (2.3.1.1.)

— 3 ml de H_2SO_4 al 1/10 v/v (2.3.1.3)

Valorar inmediatamente con yodo 0,025 M (2.3.1.5) hasta que la coloración azul se mantenga claramente durante 10 a 15 segundos. Sea n ml el volumen de yodo utilizado.

2.3.3.2. Dióxido de azufre combinado

Añadir 8 ml de solución 4 M de hidróxido sódico (2.3.1.2), agitar una sola vez y dejar 5 minutos en contacto. Verter de un golpe, y agitando enérgicamente el contenido de un pequeño vaso en el que se hayan echado 10 ml de ácido sulfúrico al 1/10 v/v (2.3.1.3). Valorar inmediatamente con yodo 0,025 M (2.3.1.5). Sea n' el volumen de yodo empleado.

Añadir 20 ml de solución 4 M de hidróxido sódico (2.3.1.2), dejar en contacto 5 minutos después de haber agitado una sola vez. Diluir con 200 ml de agua lo más fría posible.

Agitando enérgicamente, verter de un golpe 30 ml de ácido sulfúrico al 1/10 (2.3.1.3) previamente colocados en una probeta. Valorar el dióxido de azufre liberado con el yodo 0,025 M (2.3.1.5). Sea n" el volumen de yodo empleado.

2.3.4. *Expresión de los resultados*

2.3.4.1. Cálculo

Dióxido de azufre libre en miligramos por litro: 32 n.

Dióxido de azufre total en miligramos por litro: 32 (n + n' + n").

Observaciones:

1. En el caso de los vinos tintos con bajo contenido en SO_2, conviene utilizar yodo más diluido que 0,025 M, por ejemplo: 0,01 M. Sustituir el coeficiente 32 por 12,8 en las fórmulas anteriores.

2. En el caso de los vinos tintos, procede iluminar el vino por debajo con un haz de luz amarilla obtenida con una lámpara eléctrica ordinaria y una solución de cromato de potasio, o con una lámpara de vapor de sodio. Es preciso situarse en una cámara oscura y observar la transparencia del vino, que se hará opaco cuando se produzca el viraje del engrudo.

3. Cuando la cantidad de dióxido de azufre encontrada se aproxime o supere el límite legal, es conveniente determinar el dióxido de azufre total por el método de referencia.

4. Cuando se conceda especial importancia a la determinación del dióxido de azufre, se operará de la forma convencional sobre una muestra que se haya mantenido durante 4 días antes del análisis al resguardo del aire y a una temperatura de 20 °C; la determinación deberá realizarse a esta misma temperatura.

5. Dado que el yodo oxida determinadas sustancias en medio ácido, en determinaciones muy precisas será necesario evaluar la cantidad de yodo así utilizado. Para ello, el dióxido de azufre libre debe combinarse con un exceso de etanal o de propanal, antes de efectuar la valoración con yodo. Añadir, a 50 ml de vino colocados en un erlenmeyer de 300 ml, 5 ml de solución de etanal (C_2H_4O) de 7 g/l o 5 ml de una solución de propanal (C_3H_6O) de 10 g/l.

   Tapar y dejar reposar durante 30 minutos por lo menos. Añadir 3 ml de ácido sulfúrico al 1/10 (2.3.1.3) y yodo 0,025 M (2.3.1.5) en cantidad suficiente para que vire el engrudo de almidón. Sea n''' el volumen de yodo empleado. Debe restarse de n (dióxido de azufre libre) y de n + n' + n'' (dióxido de azufre total). n''' es generalmente bajo: 0,2 a 0,3 ml de yodo 0,025 M. Si se ha añadido al vino ácido ascórbico, n''' será mucho más elevado y, sabiendo que 1 ml de yodo 0,025 M oxida 4,4 mg de ácido ascórbico, el valor de n''' permitirá medir, por lo menos aproximadamente, la cantidad de dicho producto. Así, con la medida de n''' se pueden detectar sin dificultad los vinos a los que se les ha añadido ácido ascórbico en cantidad superior a 20 mg/l y que no se ha transformado en productos de oxidación.

3. DIÓXIDO DE AZUFRE MOLECULAR

3.1. Fundamento de método

El porcentaje de dióxido de azufre molecular, H_2SO_3, en el dióxido de azufre libre se calcula en función del pH, del grado alcohólico y de la temperatura.

Para una temperatura y grado alcohólico determinados:

$$H_2SO_3 \rightleftharpoons H^+ + HSO_3^-$$

$$\left[H_2SO_3\right] = \frac{L}{10^{(pH - pK_M)} + 1} \quad (1)$$

$$\text{con } pK_M = pK_T - \frac{A\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}}$$

$$L = \left[H_2SO_3\right] + \left[HSO_3^-\right]$$

I = fuerza iónica,

A y B = coeficientes que varían con la temperatura y el grado alcohólico,

K_T = constante termodinámica de disociación; el valor de pk_T viene dado en la tabla 1 en función del grado alcohólico y de la temperatura,

K_M = constante mixta de disociación.

Tomando para la fuerza iónica I el valor medio 0,038, en la tabla 2 se dan los valores de pk_M en función de la temperatura y del grado alcohólico.

El contenido en dióxido de azufre molecular calculado a partir de la relación (1) viene dado en la tabla 3 en función del pH, de la temperatura y del grado alcohólico.

3.2. Cálculo

Conociendo el pH del vino y su grado alcohólico, el porcentaje de dióxido de azufre molecular viene dado en la tabla 3 para la temperatura t °C; sea X %.

Contenido en dióxido de azufre molecular en mg/l:

X · C

C = contenido en dióxido de azufre libre en mg/l.

TABLA 1

Valores de la constante termodinámica pK_T

Alcohol % en volumen	Temperatura (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,798	2,000	2,219	2,334	2,493
5	1,897	2,098	2,299	2,397	2,527
10	1,997	2,198	2,394	2,488	2,606
15	2,099	2,301	2,503	2,607	2,728
20	2,203	2,406	2,628	2,754	2,895

TABLA 2

Valores de la constante mixta pK_M (I = 0,038)

Alcohol % en volumen	Temperatura (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,723	1,925	2,143	2,257	2,416
5	1,819	2,020	2,220	2,317	2,446
10	1,916	2,116	2,311	2,405	2,522
15	2,014	2,216	2,417	2,520	2,640
20	2,114	2,317	2,538	2,663	2,803

TABLA 3

Dióxido de azufre molecular en porcentaje del dióxido de azufre libre (l = 0,038)

pH	T = 20 °C				
	Alcohol % en volumen				
	0	5	10	15	20
2,8	7,73	9,46	11,55	14,07	17,09
2,9	6,24	7,66	9,40	11,51	14,07
3,0	5,02	6,18	7,61	9,36	11,51
3,1	4,03	4,98	6,14	7,58	9,36
3,2	3,22	3,99	4,94	6,12	7,58
3,3	2,58	3,20	3,98	4,92	6,12
3,4	2,06	2,56	3,18	3,95	4,92
3,5	1,64	2,04	2,54	3,16	3,95
3,6	1,31	1,63	2,03	2,53	3,16
3,7	1,04	1,30	1,62	2,02	2,53
3,8	0,83	1,03	1,29	1,61	2,02
T = 25 °C					
2,8	11,47	14,23	17,15	20,67	24,75
2,9	9,58	11,65	14,12	17,15	22,71
3,0	7,76	9,48	11,55	14,12	17,18
3,1	6,27	7,68	9,40	11,55	14,15
3,2	5,04	6,20	7,61	9,40	11,58
3,3	4,05	4,99	6,14	7,61	9,42
3,4	3,24	4,00	4,94	6,14	7,63
3,5	2,60	3,20	3,97	4,94	6,16
3,6	2,07	2,56	3,18	3,97	4,55
3,7	1,65	2,05	2,54	3,18	3,98
3,8	1,32	1,63	2,03	2,54	3,18
T = 30 °C					
2,8	18,05	20,83	24,49	29,28	35,36
2,9	14,89	17,28	20,48	24,75	30,29
3,0	12,20	14,23	16,98	20,71	25,66
3,1	9,94	11,65	13,98	17,18	21,52
3,2	8,06	9,48	11,44	14,15	17,88
3,3	6,51	7,68	9,30	11,58	14,75
3,4	5,24	6,20	7,53	9,42	12,08
3,5	4,21	4,99	6,08	7,63	9,84
3,6	3,37	4,00	4,89	6,16	7,98
3,7	2,69	3,21	3,92	4,95	6,44
3,8	2,16	2,56	3,14	3,98	5,19

TABLA 3 (continuación)

Dióxido de azufre molecular en porcentaje del dióxido de azufre libre (l = 0,038)

pH	T = 35 °C				
	Alcohol % en volumen				
	0	5	10	15	20
2,8	22,27	24,75	28,71	34,42	42,18
2,9	18,53	20,71	24,24	29,42	36,69
3,0	15,31	17,18	20,26	24,88	31,52
3,1	12,55	14,15	16,79	20,83	26,77
3,2	10,24	11,58	13,82	17,28	22,51
3,3	8,31	9,42	11,30	14,23	18,74
3,4	6,71	7,63	9,19	11,65	15,49
3,5	5,44	6,16	7,44	9,48	12,71
3,6	4,34	4,95	6,00	7,68	10,36
3,7	3,48	3,98	4,88	6,20	8,41
3,8	2,78	3,18	3,87	4,99	6,80
T = 40 °C					
2,8	29,23	30,68	34,52	40,89	50,14
2,9	24,70	26,01	29,52	35,47	44,74
3,0	20,67	21,83	24,96	30,39	38,85
3,1	17,15	18,16	20,90	25,75	33,54
3,2	14,12	14,98	17,35	21,60	28,62
3,3	11,55	12,28	14,29	17,96	24,15
3,4	9,40	10,00	11,70	14,81	20,19
3,5	7,61	8,11	9,52	12,13	16,73
3,6	6,14	6,56	7,71	9,88	13,77
3,7	4,94	5,28	6,22	8,01	11,25
3,8	3,97	4,24	5,01	6,47	9,15

26. SODIO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de referencia: Espectrofotometría de absorción atómica**

El sodio se determina directamente en el vino mediante espectrofotometría de absorción atómica, previa adición de un tampón espectral de cloruro de cesio para evitar la ionización del sodio.

1.2. **Método usual: fotometría de llama**

El sodio se determina directamente en el vino diluido al menos a 1/10 por fotometría de llama.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. **Reactivos**

2.1.1. *Solución de sodio de 1 g/l.*

Utilizar una solución estándar de sodio comercial de 1 g/l. Esta solución puede prepararse disolviendo 2,542 g de cloruro sódico (NaCl) desecado, en agua destilada y ajustando el volumen a 1 litro.

Conservar esta solución en un frasco de polietileno.

2.1.2. *Solución de referencia:*

Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	3,5 g
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	1,5 g
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	5,0 g
Cloruro de calcio anhidro ($CaCl_2$)	50 mg
Cloruro de magnesio anhidro ($MgCl_2$)	50 mg
Alcohol absoluto (C_2H_5OH)	50 mg
Agua csp	500 ml

2.1.3. *Solución de cloruro de cesio al 5 % en cesio.*

Disolver 6,33 g de cloruro de cesio (Cs Cl) en 100 ml de agua destilada.

2.2. **Aparatos**

2.2.1. Espectrofotómetro de absorción atómica provisto de un mechero alimentado por aire y acetileno.

2.2.2. Lámpara de cátodo hueco de sodio.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Preparación de la muestra*

Tomar 2,5 ml de vino, echar en un matraz aforado de 50 ml, añadir 1 ml de la solución de cloruro de cesio (2.1.3) y enrasar con agua destilada.

2.3.2. *Calibrado*

En una serie de matraces aforados de 100 ml introducir 5,0 ml de solución de referencia, echar 0; 2,5; 5; 7,5 y 10 ml de la solución de sodio de 1 g por litro (2.1.1) previamente diluida a 1/100, añadir en todos los matraces 2 ml de la solución de cloruro de cesio (2.1.3) y enrasar hasta 100 ml con agua destilada.

Las soluciones patrón preparadas tienen un contenido de 0; 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00 mg de sodio por litro respectivamente y 1 g de cesio por litro. Estas soluciones deberán conservarse en frascos de polietileno.

2.3.3. *Determinación*

Seleccionar la longitud de onda 589,0 nm. Regular el cero de la escala de absorbancias con la solución de calibrado que contiene 1 g de cesio por litro (2.3.2). Aspirar directamente el vino diluido en el mechero del espectrofotómetro, y seguidamente hacer lo mismo con las soluciones patrón (2.3.2). Leer las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

2.4. **Expresión de los resultados**

2.4.1. *Método de cálculo*

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración en sodio de las soluciones patrón.

Llevar a esta curva el valor medio de las absorbancias obtenidas de la muestra y determinar la concentración C de sodio en miligramos por litro.

La concentración de sodio expresada en miligramos por litro de vino sin decimales será:

$20 \cdot C$

2.4.2. *Repetibilidad: r*

$r = 1 + 0{,}024\ x_i$ mg/l

x_i = concentración de sodio en la muestra en mg/l

2.4.3. *Reproductibilidad: R*

$R = 2{,}5 + 0{,}05\ x_i$ mg/l

x_i = concentración de sodio en la muestra en mg/l.

3. MÉTODO USUAL

3.1. **Reactivos**

3.1.1. *Solución patrón de sodio de 20 mg por litro.*

Alcohol absoluto (C_2H_5OH)	10	ml
Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	700	mg
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
Tartrato ácido de potasio ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
Cloruro cálcico anhidro ($CaCl_2$)	10	mg
Cloruro de magnesio anhidro ($MgCl_2$)	10	mg
Cloruro sódico desecado (NaCl)	50,84	mg
Agua csp	1	l

3.1.2. *Solución de dilución*

Alcohol absoluto (C_2H_5OH)	10	ml
Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	700	mg
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
Tartrato ácido de potasio ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
Cloruro cálcico anhidro ($Ca\ Cl_2$)	10	mg
Cloruro de magnesio anhidro ($Mg\ Cl_2$)	10	mg
Agua csp	1	l

Para preparar las soluciones 3.1.1 y 3.1.2, disolver el tartrato ácido de potasio en unos 500 ml de agua destilada muy caliente, mezclar la solución con los demás compuestos previamente disueltos en 400 ml de agua destilada y enrasar a 1 litro. Las soluciones se conservarán en frascos de polietileno, añadiendo 2 gotas de isotiocianato de alilo.

3.2. **Aparato**

3.2.1. Fotómetro de llama alimentado por una mezcla de aire y butano.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Calibrado*

En cinco matraces aforados de 100 ml, echar 5, 10, 15, 20 y 25 ml de la solución de sodio de 20 mg/l (3.1.1) y completar hasta 100 ml con la solución de dilución (3.1.2). Se obtendrán soluciones con un contenido de 1, 2, 3, 4 y 5 mg de sodio por litro, respectivamente.

3.3.2. *Determinación*

Efectuar las medidas a 589,0 nm. Regular el 100 % de transmisión con agua destilada. Aspirar directamente en el mechero del fotómetro las soluciones patrón (3.3.1), seguidamente hacer lo mismo con el vino diluido a 1/10 con agua destilada y leer los porcentajes de transmisión. Si fuera necesario, diluir el vino, ya diluido a 1/10, con la solución de dilución (3.1.2).

3.4. **Expresión de los resultados**

3.4.1. *Método de cálculo*

Trazar la curva de variaciones del porcentaje de transmisión en función de la concentración de sodio de las soluciones patrón. Llevar a esta curva la transmisión correspondiente a la muestra de vino diluido y determinar la concentración C en sodio. La concentración en miligramos de sodio por litro será:

$C \cdot F$

F = factor de dilución.

3.4.2. *Repetibilidad: r*

(excepto vinos de licor) r = 1,4 mg/l

vinos de licor: r = 2,0 mg/l

3.4.3. *Reproductibilidad: R*

$R = 4{,}7 + 0{,}08\ x_i$ mg/l

x_i = concentración de sodio en la muestra en mg/L

27. POTASIO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de referencia**

Elpotasio se determina directamente en el vino diluido por espectrofotometría de absorción atómica previa adición de un tampón espectral de cloruro de cesio para evitar la ionización del potasio, especialmente cuando se utiliza la llama acetileno-aire.

1.2. **Método usual**

El potasio se determina directamente en el vino diluido por fotometría de llama.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. **Reactivos**

2.1.1. *Solución de potasio de 1 g/l*

Utilizar una solución estándar de potasio comercial de 1 g/l. Esta solución puede prepararse disolviendo 4,813 g de tartrato ácido de potasio ($C_4H_5KO_6$) en agua destilada y ajustando el volumen a 1 litro.

2.1.2. *Solución referencia*

Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	3,5 g
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	1,5 g
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	5,0 g
Cloruro cálcico anhidro ($Ca\ Cl_2$)	50 mg
Cloruro de magnesio anhidro ($Mg\ Cl_2$)	50 mg
Alcohol absoluto (C_2H_5OH)	50 ml
Agua csp	500 ml

2.1.3. *Solución de cloruro de cesio al 5 % en cesio*

Disolver 6,330 g de cloruro de cesio (Cs Cl) en 100 ml de agua destilada.

2.2. **Material**

2.2.1. Espectrofotómetro de absorción atómica, equipado con un mechero alimentado por aire y acetileno.

2.2.2. Lámpara de cátodo hueco de potasio.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Preparación de la muestra*

Tomar 2,5 ml de vino (previamente diluido al 1/10), echarlos en un matraz aforado de 50 ml, añadir 1 ml de la solución de cloruro de cesio (2.1.3) y enrasar con agua destilada hasta la marca del aforo.

2.3.2. *Calibrado*

En una serie de matraces aforados de 100 ml introducir 5 ml de solución referencia (2.1.2), echar 0; 2,0; 4,0; 6,0 y 8,0 ml de la solución de potasio de 1 g por litro (2.1.1) previamente

diluida al 1/10, añadir en todos los matraces 2 ml de la solución de cloruro de cesio (2.1.3) y ajustar el volumen a 100 ml con agua destilada. Las soluciones patrón preparadas tienen un contenido de potasio de 0; 2; 4; 6 y 8 mg por litro respectivamente y 1 g de cesio por litro. Estas soluciones deberán conservarse en frascos de polietileno.

2.3.3. *Determinación*

Seleccionar la longitud de onda 769,9 nm. Regular el cero de la escala de absorbancia con la solución referencia que contiene 1 g de cesio por litro (2.3.2). Aspirar directamente el vino diluido (2.3.1) en el mechero del espectrofotómetro, y seguidamente hacer lo mismo con las soluciones patrón (2.3.2); tomar las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

2.4. **Expresión de los resultados**

2.4.1. *Método de cálculo*

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración en potasio de las soluciones patrón. Llevar a esta curva el valor medio de las absorbancias correspondientes a la muestra de vino diluido y determinar la concentración C de potasio en miligramos por litro.

La concentración de potasio, expresada en miligramos por litro de vino, será:

$F \cdot C$

F = factor de dilución (aquí, 200).

2.4.2. *Repetibilidad: r*

r = 35 mg/l.

2.4.3. *Reproductibilidad: R*

R = 66 mg/l.

2.4.4. *Otras expresiones de los resultados*

— en miliequivalentes por litro: $0{,}256 \cdot F \cdot C$

— en tartrato ácido de potasio en miligramos por litro:

$4{,}813 \cdot F \cdot C$

3. MÉTODO USUAL: ESPECTROFOTOMETRÍA DE LLAMA

3.1. **Reactivos**

3.1.1. *Solución de referencia de 100 mg de potasio por litro*

Alcohol absoluto (C_2H_5OH)	10 ml
Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	700 mg
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300 mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000 mg
Cloruro de sodio (NaCl)	50,8 mg
Cloruro cálcico anhidro ($Ca\ Cl_2$)	10 mg
Cloruro de magnesio anhidro ($Mg\ Cl_2$)	10 mg
Tartrato ácido de potasio desecado ($C_4H_5KO_6$)	481,3 mg
Agua csp	1 000 ml

Disolver el tartrato ácido de potasio en aproximadamente 500 ml de agua destilada muy caliente, mezclar la solución con los demás elementos previamente disueltos en 400 ml de agua destilada y enrasar a 1 litro.

3.1.2. *Solución de dilución*

Alcohol absoluto (C_2H_5OH)	10 ml
Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, H_2O)	700 mg
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300 mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000 mg
Cloruro de sodio (NaCl)	50,8 mg
Cloruro cálcico anhidro ($Ca\ Cl_2$)	10 mg
Cloruro de magnesio anhidro ($Mg\ Cl_2$)	10 mg
Ácido tartárico ($C_4H_6O_6$)	383 mg
Agua csp	1 000 ml

Las soluciones se conservarán en frascos de polietileno, añadiendo 2 gotas de isotiocianato de alilo.

3.2. **Material**

3.2.1. Fotómetro de llama alimentado por una mezcla de aire y butano.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Calibrado*

En cuatro matraces aforados de 100 ml, echar 25, 50, 75 y 100 ml de la solución de referencia (3.1.1) y completar hasta 100 ml con la solución de dilución (3.1.2). Se obtendrán soluciones con un contenido de 25, 50, 75 y 100 mg por litro de potasio, respectivamente.

3.3.2. *Determinación*

Efectuar las medidas a 766 nm. Regular el 100 % de transmisión con agua destilada. Aspirar directamente en el mechero del fotómetro las soluciones patrón (3.3.1), seguidamente hacer lo mismo con el vino diluido al 1/10 con agua destilada y tomar los porcentajes de transmisión. Si fuera necesario, diluir de nuevo el vino ya diluido a 1/10, con la solución de dilución (3.1.2).

3.4. **Expresión de los resultados**

3.4.1. *Método de cálculo*

Trazar la curva de variación de los porcentajes de transmisión en función de la concentración en potasio de las soluciones patrón. Llevar a esta curva la transmisión obtenida con la muestra de vino diluido y determinar la concentración C en potasio.

La concentración en miligramos de potasio por litro será:

$C \cdot F$

F = factor de dilución.

3.4.2. *Repetibilidad: r*

r = 17 mg/l.

3.4.3. *Reproductibilidad: R*

R = 66 mg/l.

3.4.4. *Otras expresiones de los resultados:*

— en miliequivalentes por litro: 0,0256 · F · C

— en tartrato ácido de potasio en miligramos por litro: 4,813 · F · C.

28. MAGNESIO

1. FUNDAMENTO

El magnesio se determina directamente en el vino, convenientemente diluido, por espectrofotometría de absorción atómica.

2. REACTIVOS

2.1. **Solución patrón concentrada de magnesio con un contenido de 1 g por litro.**

Utilizar una solución estándar de magnesio comercial.

Dicha solución podrá prepararse disolviendo 8,3646 g de cloruro de magnesio ($MgCl_2$, 6 H_2O) en agua destilada y enrasando el volumen a 1 litro.

2.2. Solución patrón diluida de magnesio, con un contenido de 5 mg por litro.

Nota: Conservar las soluciones patrón de magnesio en frascos de polietileno.

3. MATERIAL

3.1. Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado por aire y acetileno.

3.2. Lámpara de cátodo hueco de magnesio.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

Diluir el vino a 1/100 con agua destilada.

4.2. **Calibrado**

En una serie de matraces aforados de 100 ml, echar 5, 10, 15 y 20 ml de la solución 2.2 y enrasar a 100 ml con agua destilada. Las soluciones preparadas tienen un contenido de magnesio de 0,25, 0,50, 0,75 y 1 mg por litro respectivamente. Estas soluciones se conservarán en frascos de polietileno.

4.3. **Determinación**

Seleccionar la longitud de onda 285 nm.

Regular el cero de la escala de absorbancias con agua destilada. Aspirar directamente el vino diluido en el mechero del espectrofotómetro, hacerlo a continuación con las soluciones patrón preparadas en 4.2.

Leer las absorbancias; efectuar las determinaciones por duplicado.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. **Método de cálculo**

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración en magnesio de las soluciones patrón.

Llevar a esta curva el valor medio de las absorbancias obtenidas con la muestra de vino diluido y determinar la concentración C en magnesio.

La concentración en magnesio, expresada en miligramos por litro de vino sin decimales, será:

$100 \cdot C$

5.2. **Repetibilidad: r**

$r = 3$ mg/l.

5.3. **Reproductibilidad: R**

$R = 8$ mg/l.

29. CALCIO

1. FUNDAMENTO

El calcio se determina directamente en el vino, convenientemente diluido, por espectrofotometría de absorción atómica, previa adición de un tampón espectral.

2. REACTIVOS

2.1. **Solución patrón de calcio con un contenido de 1 g por litro.**

Utilizar una solución estándar de calcio comercial.

Dicha solución podrá prepararse disolviendo 2,5 g de carbonato de calcio ($Ca\ CO_3$) en la cantidad suficiente de HCl a 1/10 (v/v) para obtener su disolución y enrasando el volumen a 1 litro con agua destilada.

2.2. **Solución patrón diluida de calcio con un contenido de 50 mg por litro.**

Nota: Conservar las soluciones patrón de calcio en frascos de polietileno.

2.3. **Solución de cloruro de lantano de 50 g/l en lantano.**

Disolver 13,369 g de cloruro de lantano ($La\ Cl_3, 7\ H_2O$) en agua destilada; añadir 1 ml de HCL diluido 1/10 (v/v) y enrasar a 100 ml.

3. MATERIAL

3.1. Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado por aire y acetileno.

3.2. Lámpara de cátodo hueco de calcio.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

En un matraz aforado de 20 ml, echar 1 ml de vino, 2 ml de solución 2.3 y enrasar con agua destilada. El vino diluido a 1/20 contiene 5 g de lantano por litro.

Nota: En el caso de vinos dulces, la concentración de 5 g de lantano por litro será suficiente, siempre que la dilución lleve el contenido en azúcares a menos de 2,5 g por litro. Para concentraciones en azúcares superiores, será necesario aumentar a 10 g por litro el contenido en lantano.

4.2. **Calibrado**

En cinco matraces aforados de 100 ml, echar 0, 5, 10, 15 y 20 ml de la solución 2.2, añadir en todos los matraces 10 ml de la solución 2.3 y enrasar a 100 ml con agua destilada. Las soluciones patrón preparadas tienen un contenido de calcio de 0, 2,5, 5, 7,5 y 10 mg por litro respectivamente y 5 g de lantano por litro. Estas soluciones se conservarán en frascos de polietileno.

4.3. **Determinación**

Seleccionar la longitud de onda 422,7 nm. Regular el cero de la escala de absorbancias con la solución que contiene 5 g de lantano por litro (4.2). Aspirar directamente el vino diluido en el mechero del espectrofotómetro, seguidamente hacer lo mismo con las soluciones patrón preparadas en 4.2. Leer las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. **Método de cálculo**

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración en calcio de las soluciones patrón.

Llevar a esta curva el valor medio de las absorbancias obtenidas con la muestra de vino diluido y determinar la concentración C en calcio. La concentración en calcio, expresada en miligramos por litro de vino sin decimales, será:

$20 \cdot C$

5.2. **Repetibilidad: r**

contenido < 60 mg/l: r = 2,7 mg/l

contenido > 60 mg/l: r = 4 mg/l.

5.3. **Reproductibilidad: R**

$R = 0{,}114\, x_i - 0{,}5$

x_i = concentración en mg/l de la muestra.

30. HIERRO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

Método de referencia

El hierro se determina directamente por espectrofotometría de absorción atómica, previa dilución del vino y eliminación del alcohol.

Método usual

Después de la mineralización del vino con perhidrol, el hierro que se encuentra en forma de hierro III se reduce al estado de hierro II y se determina por la coloración roja que se produce con la ortofenantrolina.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. **Reactivos**

2.1.1. Solución patrón concentrada de hierro III, de 1 g/l.

Utilizar una solución estándar comercial. Esta solución puede prepararse disolviendo 8,6341 g de sulfato de hierro III [$FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$] y de amonio en agua destilada ligeramente acidificada con ácido clorhídrico M y enrasando el volumen a 1 litro.

2.1.2. Solución patrón diluida de hierro, de 100 miligramos por litro.

2.2. **Material**

2.2.1. Rotavapor con baño de agua termostatado.

2.2.2. Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado con aire y acetileno.

2.2.3. Lámpara de cátodo hueco de hierro.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Preparación de la muestra*

Eliminar el alcohol del vino mediante concentración del volumen de la muestra a su mitad en un rotavapor (50-60 °C). Completarlo a su volumen inicial con agua destilada.

Si fuera necesario, efectuar una dilución previa a la determinación.

2.3.2. *Calibrado*

En una serie de matraces aforados de 100 ml, echar 1, 2, 3, 4 y 5 ml de la solución de hierro de 100 miligramos por litro (2.1.2) y completar hasta 100 ml con agua destilada. Las soluciones preparadas tendrán un contenido de hierro de 1, 2, 3, 4 y 5 mg por litro.

Estas soluciones se conservarán en frascos de polietileno.

2.3.3. *Determinación*

Seleccionar la longitud de onda 248,3 nm. Regular el cero de la escala de absorbancias con agua destilada. Aspirar directamente la muestra diluida en el mechero del espectrofo-

tómetro, seguidamente hacer lo mismo con las soluciones patrón preparadas en 2.3.2. Leer las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

2.4. **Expresión de los resultados**

2.4.1. *Método de cálculo*

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración de hierro de las soluciones patrón. Llevar a esta curva el valor medio de la absorbancia obtenida con la muestra de vino diluido y determinar la concentración en hierro C.

La concentración en hierro, expresada en miligramos por litro de vino con 1 decimal, será:

$C \cdot F$

F = factor de dilución.

3. MÉTODO USUAL

3.1. **Reactivos**

3.1.1. Solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30 % (m/v) exenta de hierro.

3.1.2. Solución de ácido clorhídrico exento de hierro, 1 M.

3.1.3. Hidróxido de amonio (ρ_{20} = 0,92 g/ml).

3.1.4. Piedra pómez tratada con ácido clorhídrico a 1/2 hirviendo y lavada con agua destilada.

3.1.5. Solución de hidroquinona ($C_6H_6O_2$) al 2,5 %, acidificada con 1 ml de ácido sulfúrico puro (ρ_{20} = 1,84 g/ml) para 100 ml de solución. Esta solución se conservará en un frasco topacio en nevera y se sustituirá en cuanto aparezca el más mínimo tono marrón.

3.1.6. Solución de sulfito de sodio (Na_2SO_3) al 20 % preparada a partir de sulfito neutro y anhidro.

3.1.7. Solución de ortofenantrolina ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) al 0,5 % en alcohol de 96 % vol.

3.1.8. Solución de acetato de amonio (CH_3COONH_4) al 20 % (m/v).

3.1.9. Solución de hierro III de 1 g de hierro por litro. Utilizar una solución estándar comercial. Esta solución puede prepararse disolviendo 8,6341 g de sulfato de hierro y de amonio [$NH_4Fe(SO_4)_2$]. 12 H_2O en 100 ml de solución 1 M de ácido clorhídrico (3.1.2) y enrasando el volumen a 1 litro con la solución 1 M de ácido clorhídrico (3.1.2).

3.1.10. Solución patrón de hierro diluida, de 100 miligramos por litro.

3.2. **Material**

3.2.1. Matraz Kjeldahl de 100 ml.

3.2.2. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas a una longitud de onda de 508 nm.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Mineralización*

3.3.1.1. Vino cuyo contenido en azúcares sea inferior a 50 g/l:

Introducir en un matraz de Kjeldahl 25 ml de vino, 10 ml de solución de peróxido de hidrógeno (3.1.1) y algunos granos de piedra pómez (3.1.4). Concentrar el líquido hasta un volumen de 2 a 3 ml.

Una vez frío, añadir al residuo obtenido, sin mojar las paredes del matraz, hidróxido de amonio (3.1.3) en la cantidad necesaria para alcalinizar el medio y precipitar los hidróxidos.

Después de que se enfríe, añadir al líquido alcalino la solución 1 M de ácido clorhídrico (3.1.2) en la cantidad necesaria para disolver el precipitado de los hidróxidos y transvasar la solución obtenida a un matraz aforado de 100 ml. Después de lavar el matraz de Kjeldahl con la solución M de ácido clorhídrico (3.1.2), enrasar el volumen a 100 ml con la misma solución.

3.3.1.2. Mostos y vinos cuyo contenido en azúcares sea superior a 50 g/l:

3.3.1.2.1. Contenido en azúcares comprendido entre 50 y 200 g/l:

la muestra de 25 ml de mosto o de vino se tratará con 20 ml de solución de peróxido de hidrógeno (3.1.1).

Continuar como se describe en (3.3.1.1).

3.3.1.2.2. Contenido en azúcares superior a 200 g/l:

las muestras de mosto o de vino deberán diluirse previamente a 1/2 o incluso a 1/4 y tratarse como se indica en el procedimiento 3.3.1.2.1.

3.3.2. *Ensayo en blanco*

Efectuar un ensayo en blanco con agua destilada empleando el mismo volumen de solución de peróxido de hidrógeno (3.1.1) que el utilizado para la mineralización y siguiendo el protocolo experimental descrito en 3.3.1.1.

3.3.3. *Determinación*

Tomar 20 ml de la solución clorhídrica del producto de mineralización de la muestra (3.3.11) y 20 ml de la solución clorhídrica «ensayo en blanco» (3.3.2) e introducirlos en dos matraces aforados de 50 ml. Añadir en cada matraz 2 ml de la solución de hidroquinona (3.1.5), 2 ml de la solución de sulfito (3.1.6) y 1 ml de la solución de ortofenantrolina (3.1.7). Dejar reposar durante 15 minutos para favorecer la reducción de Fe III en Fe II. Añadir 10 ml de la solución de acetato de amonio (3.1.8), completar el volumen hasta 50 ml con agua destilada y agitar los dos matraces aforados. Medir la absorbancia a 508 nm de la solución que va a determinarse regulando el cero de la escala de absorbancias con la solución procedente del ensayo en blanco.

3.3.4. *Calibrado*

En cuatro matraces aforados de 50 ml, echar 0,5, 1, 1,5 y 2 ml de la solución de 100 mg de hierro por litro (3.1.10) y 20 ml de agua destilada; continuar como se indica en el procedimiento 3.3.3 y medir la absorbancia de cada una de las soluciones patrón preparadas, que corresponden, respectivamente, a 50, 100, 150 y 200 microgramos de hierro en la muestra.

3.4. **Expresión de los resultados**

3.4.1. *Método de cálculo*

Trazar la curva de las variaciones de la absorbancia en función de la concentración en hierro de las soluciones patrón. Leer la absorbancia obtenida con la solución problema y determinar la concentración en hierro C contenida en la muestra de 20 ml de solución clorhídrica de mineralización, es decir en 5 ml de la muestra que va a analizarse.

La concentración de hierro, expresada en miligramos por litro de vino, con 1 decimal, será:

$200 \cdot C$

Si el vino (o el mosto) ha sido diluido, la concentración de hierro expresada en miligramos por litro de vino, con 1 decimal, será:

$200 \cdot C \cdot F$

F = factor de dilución.

31. COBRE

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Empleo de la espectrofotometría de absorción atómica.

2. MATERIAL

2.1. Cápsula de platino.

2.2. Espectrofotómetro de absorción atómica.

2.3. Lámpara de cátodo hueco de cobre.

2.4. Gas de alimentación: aire, acetileno y/o protóxido de nitrógeno.

3. REACTIVOS

3.1. Cobre metálico.

3.2. Ácido nítrico concentrado al 65 % (HNO_3, ρ_{20} = 1,38 g/ml).

3.3. Ácido nítrico diluido al 1/2 (v/v).

3.4. **Solución de cobre de 1 g/l**

Utilizar una solución estándar de cobre comercial.

Esta solución podrá prepararse pesando 1 000 g de cobre metálico y transfiriendo cuantitativamente en un matraz aforado de 1 000 ml. Añadir ácido nítrico diluido a 1/2 (3.3) en cantidad estrictamente suficiente para disolver el metal, añadir 10 ml de ácido nítrico concentrado (3.2) y enrasar con agua bidestilada.

3.5. *Solución de cobre de 100 mg/l.*

Tomar 10 ml de la solución 3.4 e introducirlos en un matraz aforado de 100 ml, completando el volumen con agua bidestilada.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra y determinación del cobre**

En caso necesario, preparar una dilución adecuada con agua bidestilada.

4.2. **Calibrado**

Tomar 0,5, 1, 2 ml de la solución 3.5 (100 mg de cobre por litro) e introducirlos en matraces aforados de 100 ml completando el volumen con agua bidestilada; las soluciones obtenidas contendrán respectivamente 0,5, 1, 2 mg/l de cobre. Con los valores de absorbancias de estas soluciones, medidas como se especifica en 4.1, trazar la curva de calibrado.

4.3. **Dosificación**

Seleccionar la longitud de onda 324,8 nm. Ajustar a cero la escala de las absorbancias con el agua bidestilada. Aspirar directamente la muestra diluida en el mechero del espectrofotómetro, después sucesivamente las soluciones patrón preparadas en 4.2. Hallar las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Modo de cálculo

Construir la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración en hierro de las soluciones patrón.

Trasladar a la curva patrón la absorbancia leída para la muestra de vino diluido y hallar la concentración C en mg/l.

Si F es el factor de dilución el contenido de cobre del vino será en miligramos por litro: F · C y se dará con 2 decimales.

Observaciones:

a) Las soluciones para establecer la curva patrón y las diluciones de la muestra deben elegirse en función de la sensibilidad del aparato utilizado y de la concentración del cobre presente en la muestra.

b) Cuando en la muestra hay concentraciones muy bajas de cobre, el procedimiento es el siguiente: echar 100 ml de muestra en una cápsula de platino, evaporar en un baño de agua a 100 °C hasta que adquiera una consistencia de jarabe, añadir, gota a gota, 2,5 ml de ácido nítrico concentrado (3.2) intentando cubrir todo el fondo de la cápsula. Incinerar con precaución el residuo en una placa calentadora eléctrica o sobre una pequeña llama; introducir a continuación la cápsula en un horno de mufla regulado a 500 °C ± 25 °C, manteniéndola una hora aproximadamente. Cuando se haya enfriado, humedecer las cenizas con 1 ml de ácido nítrico concentrado (3.2), triturándolas con una pequeña varilla de vidrio, evaporar e incinerar de nuevo como en el caso anterior. Meter otra vez la cápsula en el horno durante 15 minutos; repetir tres veces, como mínimo, este tratamiento con ácido nítrico concentrado. Solubilizar las cenizas añadiendo en la cápsula 1 ml de ácido nítrico concentrado (3.2) y 2 ml de agua bidestilada; pasar a un matraz aforado de 10 ml. Lavar la cápsula tres veces con 2 ml de agua bidestilada cada vez y enrasar con agua bidestilada.

32. CADMIO

1. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El cadmio se dosifica directamente en el vino por espectrofotometria de absorción atómica sin llama.

2. MATERIAL

Todo el vidrio debe ser lavado antes de su uso con ácido nítrico concentrado caliente (70 a 80 °C) y enjuagado con agua bidestilada.

2.1. Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con horno de grafito, corrector de ruido de fondo y de un registrador multipotenciométrico.

2.2. Lámpara de cátodo hueco de cadmio.

2.3. Micropipetas de 5 µl provistas de puntas desechables especiales para medidas de absorción atómica.

3. REACTIVOS

El agua utilizada debe ser agua bidestilada en un aparato de vidrio borosilicatado o agua de pureza equivalente. Todos los reactivos deben ser de pureza analítica reconocida y, en particular, estar exentos de cadmio.

3.1. Ácido fosfórico del 85 % (ρ_{20} = 1,71 g/ml).

3.2. Solución de ácido fosfórico obtenido por dilución de 8 ml de ácido fosfórico a 100 ml con agua.

3.3. Solución 0,02 M de la sal disódica del ácido etilendiaminotetracético (EDTA).

3.4. Solución tampón de pH 9 obtenido disolviendo en un matraz aforado de 100 ml 5,4 g de cloruro amónico en algunos mililitros de agua, se añade 35 ml de solución de hidróxido amónico (ρ_{20} = 0,92 g/ml) diluido a 25 % (v/v) y se enrasa con agua.

3.5. Negro de eriocromo T: dilución sólida al 1 % (m/m) en cloruro sódico.

3.6. **Sulfato de cadmio ($3CdSO_4$, $8H_2O$).**

La pureza del sulfato de cadmio debe ser comprobada según el siguiente procedimiento:

Pesar exactamente 102,6 mg de sulfato de cadmio, arrastrar con agua cuantitativamente a un vaso de precipitado, agitar hasta que se produzca la disolución, añadir 5 ml de la solución tampón de pH 9, 20 mg, aproximadamente, de negro de eriocromo T. Valorar con la solución de EDTA, hasta que se produzca el virage del indicador al azul.

El volumen de EDTA añadido debe ser igual a 20 ml. Si el volumen difiere poco, corregir adecuadamente la pesada de sulfato de cadmio utilizada para la preparación de la solución de referencia.

3.7. **Solución de referencia de 1 g por litro de cadmio.**

Utilizar una solución estándar del comercio. Esta solución también puede ser obtenida disolviendo 2,2820 g de sulfato de cadmio en agua y enrasando a 1 litro con agua destilada. Conservar esta solución en un matraz de vidrio borosilicatado con tapón esmerilado.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

Diluir el vino a 1/2 (v/v) con la solución de ácido fosfórico.

4.2. **Preparación de las soluciones de la curva de calibrado.**

A partir de la solución de referencia de cadmio, preparar por diluciones sucesivas soluciones de 2,5-5-10-15 microgramos por litro de cadmio.

4.3. **Determinación**

4.3.1. *Programa del horno (se propone a título indicativo)*

Secado a 100 °C durante 30 segundos.

Mineralización a 900 °C durante 20 segundos.

Atomización a 2 250 °C de 2 a 3 segundos.

Flujo de nitrógeno (gas de transporte): 6 litros por minuto.

Nota: Al final de la operación, subir la temperatura hasta 2 700 °C, para purgar el horno.

4.3.2. *Medida en absorción atómica.*

Seleccionar la longitud de onda a 228,8 nm. Ajustar el cero de la escala de absorbancia con agua bidestilada. Inyectar en el horno, mediante una micropipeta, tres veces 5 µl cada una de las soluciones de la escala de patrones y de la solución de muestra que se va a analizar. Registrar las absorbancias medidas. Calcular el valor medio de la absorbancia a partir de los resultados relativos de las tres inyecciones.

5. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

5.1. **Cálculo**

Representar la curva de las absorbancias en función de las concentraciones de cadmio de las soluciones de la escala de patrones. La curva es lineal. Llevar el valor medio de la absorbancia de la muestra a analizar sobre la recta de calibrado, obteniendo la concentración C de cadmio. La concentración en cadmio expresada en microgramos por litro del vino es igual a:

2 C

33. PLATA

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Empleo de la espectrofotometría de absorción atómica, previa mineralización de la muestra.

2. MATERIAL

2.1. Cápsula de platino.

2.2. Baño de agua a una temperatura de 100 °C.

2.3. Horno regulado de 500 a 525 °C.

2.4. Espectrofotómetro de absorción atómica.

2.5. Lámpara de cátodo hueco de plata.

2.6. Gas de alimentación: aire, acetileno.

3. REACTIVOS

3.1. Nitrato de plata ($AgNO_3$).

3.2. Ácido nítrico concentrado al 65 % (HNO_3), ρ_{20} = 1,38 g/ml).

3.3. Ácido nítrico diluido al 1/10 (v/v).

3.4. Solución de plata de 1 g/l.

Utilizar una solución estándar de plata comercial. Esta solución puede prepararse disolviendo 1,575 g de nitrato de plata en ácido nítrico diluido y enrasando hasta 1 000 ml con ácido nítrico diluido (3.3).

3.5. **Solución de plata de 10 mg/l**

Se diluyen 10 ml de la solución 3.4 hasta 1 000 ml con ácido nítrico diluido (3.3).

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

Echar 20 ml de muestra en una cápsula de platino y evaporar a sequedad en un baño de agua en ebullición. Incinerar hasta que se conviertan en cenizas blancas en un horno eléctrico de 500 a 525 °C. Recoger las cenizas con 1 ml de ácido nítrico concentrado (3.2), evaporar en un baño de agua a 100 °C, volver a añadir 1 ml de ácido nítrico (3.2) y evaporar. Añadir 5 ml de ácido nítrico diluido (3.3) y calentar ligeramente hasta disolución.

4.2. **Calibrado**

Echar 2, 4, 6, 8, 10 y 20 ml de solución (3.5) de 10 mg por litro de plata en una serie de matraces aforados de 100 ml y enrasar con el ácido nítrico diluido (3.3). Estas soluciones contienen 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,0 y 2,0 mg/l de plata.

4.3. **Determinación**

Seleccionar la longitud de onda 328, 1 nm. Ajustar el cero de la escala de absorbancias con el ácido nítrico diluido (3.3). Aspirar directamente el líquido obtenido según 4.1 en el

mechero del espectrofotómetro y seguidamente las soluciones patrón. Anotar las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Método de cálculo

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración en plata de las soluciones patrón.

Llevar la absorbancia leída para la solución obtenida según 4.1 sobre la curva de calibrado y obtener la concentración Cen mg/l.

El contenido de plata en el vino, expresado en mg/l es: 0,25 °C; este dato se da con 2 decimales.

Nota: Las soluciones de referencia para obtener la curva de calibrado, la cantidad de muestra tomada y el volumen final de líquido, pueden modificarse en función de la sensibilidad del aparato utilizado.

34. CINC

1. FUNDAMENTO

El cinc se determina directamente en el vino desalcoholizado por espectrofotometría de absorción atómica.

2. REACTIVOS

El agua utilizada debe ser agua bidestilada en un aparato de vidrio borosilicatado o agua de pureza equivalente.

2.1. Solución patrón de cinc de 1 g por litro.

Utilizar una solución estándar de cinc comercial. Esta solución puede prepararse disolviendo 4,3975 g de sulfato de cinc ($Zn\ SO_4,\ 7H_2O$) en agua y enrasando el volumen a 1 litro.

2.2. Solución patrón diluida de cinc de 100 miligramos por litro.

3. MATERIAL

3.1. Rotavapor con termostato.

3.2. Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado con aire y acetileno.

3.3. Lámpara de cátodo hueco de cinc.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

Eliminar el alcohol del vino mediante concentración al ½ de 100 ml de vino en un rotavapor (temperatura: 50 a 60 °C). Completar hasta el volumen inicial de 100 ml con agua bidestilada.

4.2. **Calibrado**

En cuatro matraces aforados de 100 ml, echar 0,5; 1; 1,5 y 2 ml de la solución de cinc de 100 mg/l (2.2) y enrasar a la marca de aforo con agua bidestilada. Las soluciones patrón corresponden respectivamente a 0,5; 1; 1,5 y 2 mg de cinc por litro.

4.3. **Determinación**

Seleccionar la longitud de onda 213,9 nm. Regular el cero de la escala de absorbancias con agua bidestilada. Aspirar directamente el vino en el mechero del espectrofotómetro, seguidamente hacer lo mismo con las soluciones patrón. Tomar las absorbancias. Efectuar las determinaciones por duplicado.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. **Método de cálculo**

Trazar la curva de variación de la absorbancia en función de la concentración de cinc de las soluciones patrón. Trasladar el valor medio de las absorbancias obtenidas con el vino y determinar la concentración de cinc en miligramos por litro de vino, con 1 decimal.

35. PLOMO

1. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El plomo es medido directamente del vino por espectrofotometría de absorción atómica sin llama.

2. MATERIAL

Todo el material de vidrio se lavará con ácido nítrico concentrado caliente (70 a 80 °C) y aclarado con agua destilada.

2.1. Espectrofotometría de absorción atómica equipado con horno de grafito, corrector de absorción no específica y registrador multipotenciométrico.

2.2. Lámpara de plomo de cátodo hueco.

2.3. Micropipeta de 5 µl provista de puntas desechables para medidas de absorción atómica.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de pureza analítica reconocida y en particular estar exentos de plomo. El agua utilizada debe ser agua bidestilada en un aparato de vidrio borosilicatado o agua de pureza equivalente.

3.1. Ácido fosfórico 85 % (ρ_{20} = 1,71 g/ml).

3.2. Solución de ácido fosfórico obtenida por dilución de 8 ml de ácido enrasados a 100 ml con agua destilada.

3.3. Ácido nítrico (ρ_{20} = 1,38 g/ml).

3.4. Solución de plomo a 1 g por litro.

Utilizar una solución estándar comercial. Esta solución puede obtenerse por disolución de 1 600 g de nitrato de plomo II, $Pb(NO_3)_2$ en ácido nítrico diluido al 1 % v/v y enrasar a 1 litro. Conservar la solución en matraz de vidrio borosilicatado con tapón esmerilado.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

Diluir el vino a ½ o ⅓ con la solución de ácido fosfórico según la concentración esperada de plomo.

4,2. **Preparación de las soluciones de la escala de patrones.**

A partir de la solución de referencia de plomo, preparar por diluciones sucesivas con agua destilada las soluciones patrón que contengan respectivamente 25, 50, 100 y 150 µg de plomo por litro.

4.3. **Determinación**

4.3.1. Programa del horno (propuesto a título indicativo).

Secado a 100 °C durante 30 segundos.

Mineralización a 900 °C durante 20 segundos.

Atomización a 2 250 °C de 2 a 3 segundos.

Flujo del nitrógeno (gas de transporte) 6 litros por minuto.

Nota: Al final de la operación elevar la temperatura a 2 700 °C para purgar el horno.

4.3.2. *Medidas*

Seleccionar la longitud de onda a 217 nm. Regular el cero de la escala de absorbancias con agua bidestilada. Inyectar en el horno ya programado, con la ayuda de una micropipeta, tres veces 5 µl de cada una de las soluciones de la escala de patrones y de la solución de la muestra a analizar. Registrar las medidas de absorbancia. Calcular el valor medio de la absorbancia a partir de los resultados de las tres inyecciones.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. **Cálculo**

Representar la curva de los valores de absorbancia en función de las concentraciones de plomo de las soluciones de la escala de patrones. La variación es lineal. Llevar el valor medio de la absorbancia de la muestra a analizar sobre la recta de calibrado, sacar la concentración C en plomo de la muestra. La concentración en plomo expresada en microgramos por litro de vino es igual a:

$C \times F$

F = factor de dilución.

36. FLUORUROS

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El contenido en fluoruros del vino, con adición de una solución tampón, se determina con ayuda de un electrodo específico con membrana sólida. El potencial medido es proporcional al logaritmo de la actividad de los iones fluoruro en el medio estudiado según la relación:

$E = E_0 \pm S \log a_F$

E = potencial del electrodo iónico específico medido con relación al electrodo de referencia en el medio estudiado.

E_0 = potencial patrón de la célula de medida.

S = pendiente del electrodo iónico específico (factor de Nernst). A 25 °C la pendiente teórica es igual a 59,2 mV.

a_F = actividad de los iones fluoruro en la solución estudiada.

2. MATERIAL

2.1. Electrodo con membrana cristalina específica del ion flúor.

2.2. Electrodo de referencia (calomelanos o Ag/AgCl)

2.3. Milivoltímetro (pH-metro con graduación en milivoltios) de precisión 0,1 mV.

2.4. Agitador magnético con placa de aislante para proteger la solución del calor del motor. Imán agitador recubierto de plástico (polietileno o material equivalente).

2.5. Vasos de plástico de 30 o 50 ml y frascos de plástico (polietileno o material equivalente).

2.6. Pipetas de precisión (pipetas graduadas en microlitros u otras equivalentes).

3. REACTIVOS

3.1. Solución madre de fluoruro de 1 g/l.

Utilizar una solución comercial estándar de 1 g/l. Esta solución puede prepararse disolviendo 2,210 g de fluoruro sódico (desecado a 105 °C durante 3 o 4 horas) en agua destilada. Enrasar con agua destilada a 1 l. La solución se conserva en frasco de plástico.

3.2. Las soluciones patrón de fluoruro de concentración apropiada se preparan por dilución de la solución madre con agua destilada y conservadas en frascos de plástico. Las soluciones patrón con un contenido en fluoruro del orden de mg/l deben ser preparadas inmediatamente antes de su empleo.

3.3. Solución tampón pH 5,5.

10 g de ácido ciclohexano-diamino (1,2) tetraacético (CDTA) se disuelven en 50 ml de agua, añadir una solución que contenga 58 g de cloruro sódico y 29,4 g de citrato trisódico en 700 ml de agua destilada. El CDTA se disuelve añadiendo una solución de hidróxido sódico al 32 % (m/v) (aproximadamente 6 ml).

Añadir 57 ml de ácido acético (densidad ρ_{20} = 1,05 g/ml) y ajustar el pH a 5,5 con la solución de hidróxido sódico al 32 % (aproximadamente 45 ml). Dejar enfriar y llevar a 1 l con agua destilada.

4. PROCEDIMIENTO

Observación preliminar:

Debe tenerse la precaución de que todas las soluciones conserven durante la medición una temperatura de 25 ± 1 °C (una desviación de ± 1 °C provoca una modificación de ± 0,2 mV).

4.1. **Método directo**

En un vaso de plástico introducir un volumen de vino y un volumen igual de solución tampón.

Se agita la solución moderadamente. Cuando el aparato de medida esté estable (se obtiene la estabilidad cuando el potencial varíe como máximo de 0,2 a 0,3 mV/3 min), leer el valor del potencial en mV.

4.2. **Método de adiciones conocidas**

Sin interrumpir la agitación, se añade a la muestra a analizar mediante una pipeta de precisión un volumen conocido de solución patrón de fluoruros. Cuando el aparato de medida esté estable, leer el valor del potencial en mV.

Elegir la concentración de la solución patrón de la siguiente forma:

a) doblar o triplicar la concentración en fluoruro de la muestra estudiada;

b) el volumen del medio estudiado debe permanecer prácticamente constante

(aumento de volumen ≤ 1 %).

(La condición b simplifica los cálculos; ver 5.)

La concentración aproximada del medio estudiado se lleva sobre una recta de calibrado trazada en coordenadas semilogarítmicas con las soluciones patrón que contengan 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 mg/l de fluoruros.

Observación. Si la concentración aproximada del medio sobrepasa la concentración de las soluciones patrón, diluir la muestra.

Ejemplo:

Sea 0,25 mg/l F^- la concentración aproximada del medio estudiado (volumen 20 ml); la concentración debe ser aumentada en 0,25 mg/l. Para ello añadir, por ejemplo, a la solución, con la pipeta de precisión adecuada 0,20 ml (= 1 %) de una solución patrón que contenga 25 mg/l F^- o 0,050 ml de una solución patrón de 100 mg/l F^-.

5. CÁLCULOS

El contenido en fluoruros del medio estudiado expresado en miligramos por litro se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$C_F = \frac{C_a \times V_a}{V_o} \times \frac{1}{(antilog\,\Delta E/S) - 1}$$

C_F = concentración en fluoruro del medio estudiado (mg/l)

C_a = concentración de fluoruro añadido en mg/l en el medio estudiado (Va)

V_a = volumen en ml de la solución patrón adicionada

V_o = volumen inicial del medio estudiado (antes de la adición)

ΔE = diferencia entre los potenciales E_1 y E_2 obtenidos en 4.1 y 4.2 en mV

S = pendiente del electrodo en la solución estudiada.

Si V_a es muy próximo a V_o (véase 4.2) la fórmula se simplifica:

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

El valor obtenido debe multiplicarse por el factor de dilución que proviene de la adición del tampón.

37. DIÓXIDO DE CARBONO

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método de referencia**

1.1.1. *Caso de vinos tranquilos* (sobrepresión de $CO_2 \leq 0{,}5 \cdot 10^5$ Pa) (1)

El volumen de vino tomado de la muestra y llevado a una temperatura próxima a los 0 °C se vierte en un exceso suficiente de solución valorada de hidróxido de sodio para lograr un pH de 10 a 11. Se valora con una solución ácida en presencia de anhidrasa carbónica. El contenido en dióxido de carbono se deduce del volumen empleado para pasar de pH 8,6 (forma carbonato ácido) a 4,0 (ácido carbónico). Una valoración testigo efectuada en las mismas condiciones sobre el vino desprovisto de CO_2 permite tener en cuenta el volumen de solución de hidróxido de sodio consumido por los ácidos del vino.

1.1.2. *Caso de vinos de aguja y vinos espumosos*

Se lleva la muestra de vino que deba analizarse cerca de su punto de congelación. Después de tomar un cierto volumen que servirá de testigo una vez desprovisto de CO_2, se alcaliniza el resto de la botella para fijar todo el CO_2 en forma de Na_2CO_3. Se valora con una solución ácida en presencia de anhidrasa carbónica. El contenido en dióxido de carbono se deduce del volumen de solución ácida empleado para pasar de pH 8,6 (forma carbonato ácido) a pH 4,0 en ácido carbónico. Una valoración testigo efectuada en las mismas condiciones sobre el vino desprovisto de CO_2 permite tener en cuenta el volumen de solución de hidróxido de sodio consumido por los ácidos del vino.

1.2. **Método usual**: en el caso de los vinos de aguja y espumosos

Método manométrico: medida de la sobrepresión de dióxido de carbono directamente en la botella utilizando un afrómetro.

2. MÉTODO DE REFERENCIA

2.1. Caso de vinos tranquilos (sobrepresión de dióxido de carbono $\leq 0{,}5 \cdot 10^5$ Pa).

2.1.1. *Material*

2.1.1.1. Agitador magnético.

2.1.1.2. pH-metro.

2.1.2. *Reactivos*

2.1.2.1. Solución de hidróxido de sodio (NaOH), 0,1 M.

2.1.2.2. Solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4), 0,05 M.

2.1.2.3. Solución de 1 g/l de anhidrasa carbónica.

2.1.3. *Procedimiento*

Enfriar la muestra de vino hasta los 0 °C, aproximadamente, así como la pipeta de 10 ml que sirva para la toma de muestra.

Tomar en un vaso de precipitados de 100 ml, 25 ml de solución de hidróxido de sodio (2.1.2.1); añadir 2 gotas de solución acuosa da anhidrasa carbónica (2.1.2.3). Introducir 10 ml de vino con ayuda de la pipeta enfriada a 0 °C.

(1) 10^5 pascal (Pa) = 1 bar.

Poner el vaso de precipitados en el agitador magnético, colocar el electrodo y la varilla magnética y llevar a cabo una agitación moderada.

Cuando el líquido esté a la temperatura ambiente, echar, mediante afusión lenta, la solución de ácido sulfúrico (2.1.2.2) hasta lograr el pH 8,6.

Continuar las afusiones de ácido sulfúrico (2.1.2.2) hasta pH 4,0. Sea n' ml el volumen utilizado entre el pH 8,6 y 4,0.

Por otro lado, eliminar el CO_2 de 50 ml de vino, aproximadamente, agitando bajo vacío durante tres minutos y calentando el matraz en un baño de agua a 25 °C aproximadamente.

Aplicar el procedimiento anterior a 10 ml de vino desprovisto de CO_2: sea n' ml el volumen utilizado.

2.1.4. *Expresión de los resultados*

1 ml de solución valorada de hidróxido de sodio 0,1 M corresponde a 4,4 mg de CO_2.

La cantidad de CO_2 en gramos por litro de vino se expresa mediante:

$0{,}44\ (n - n')$

con 2 decimales.

Observación: En el caso de vinos con bajo contenido de CO_2 ($CO_2 < 1$ g/l), no es necesaria la adición de anhidrasa carbónica para catalizar la hidratación del CO_2.

2.2. **Caso de vinos de aguja y vinos espumosos**

2.2.1. *Material*

2.2.1.1. Agitador magnético.

2.2.1.2. pH-metro.

2.2.2. *Reactivos*

2.2.2.1. Solución de hidróxido de sodio al 50 % (m/m) (NaOH).

2.2.2.2. Solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4), 0,05 M.

2.2.2.3. Solución de 1 g/l de anhidrasa carbónica.

2.2.3. *Procedimiento*

Trazar una marca, al nivel del llenado, sobre la botella de vino que deba analizarse y enfriarla hasta el inicio de la congelación.

Dejar que la botella se caliente ligeramente, agitando hasta que desparezcan los cristales de hielo.

Destapar rápidamente y apartar en una probeta graduada 45 a 50 ml de vino que servirán para la determinación testigo. El volumen exacto de esta toma, v ml, se determinará mediante lectura sobre la probeta, cuando el vino esté a la temperatura ambiente.

Añadir, inmediatamente después de haber efectuado la toma, 20 ml de solución de hidróxido de sodio (2.2.2.1) en la botella para un contenido de 750 ml.

Esperar a que el vino esté de nuevo a temperatura ambiente.

Colocar en un vaso de precipitados de 100 ml, 30 ml de agua destilada hervida y 2 gotas de solución de anhidrasa carbónica (2.2.2.3). Añadir 10 ml de vino alcalinizado.

Poner el vaso en el agitador magnético, colocar el electrodo y la varilla magnética y llevar a cabo una agitación moderada.

Echar, mediante afusión lenta, la solución (2.2.2.2) de ácido sulfúrico hasta lograr el pH 8,6.

Continuar las afusiones de ácido sulfúrico (2.2.2.2) hasta pH 4,0. Sea n ml el volumen utilizado entre pH 8,6 y 4,0.

Por otro lado, eliminar el CO_2 de los v ml de vino apartados para la determinación testigo, agitando bajo vacío durante tres minutes y calentando el matraz en un baño de agua a 25 °C aproximadamente. Tomar 10 ml de vino desprovisto de CO_2 en 30 ml de agua destilada hervida, añadir 2 o 3 gotas de solución de hidróxido de sodio (2.2.2.1) para llevar el pH a 10-11. Aplicar después el procedimiento anterior. Sea n' ml el volumen de ácido sulfúrico 0,05 M empleado.

2.2.4. *Expresión de los resultados*

1 ml de solución de ácido sulfúrico 0,1 M corresponde a 4,4 mg de CO_2.

Vaciar la botella del vino alcalinizado y determinar con una aproximación de 1 ml el volumen inicial de vino, llenándola con agua hasta la marca, sea V ml.

La cantidad de CO_2 en gramos por litro de vino se expresa mediante:

$$0{,}44\,(n - n') \cdot \frac{V - v + 20}{V - v}$$

y con 2 decimales.

2.3. **Cálculo de la sobrepresión**

La sobrepresión a 20 °C, $Paph_{20}$, expresado en pascales, viene dada por la fórmula:

$$Paph\ 20 = \frac{Q}{1{,}951 \times 10^{-5}\,(0{,}86 - 0{,}01\,A)\,(1 - 0{,}00144\,S)} - Patm$$

Siendo:

Q: contenido en gramos de CO_2 por litro de vino,

A: grado alcohólico del vino a 20 °C,

S: contenido en azúcares del vino en gramos por litro,

Patm: presión atmosférica expresada en pascales.

3. MÉTODO USUAL (VINOS DE AGUJA Y ESPUMOSOS)

3.1. **Material**

3.1.1. *Afrómetro*

Es un aparato que sirve para medir la sobrepresión en las botellas de vinos de aguja y espumosos; tiene distintas presentaciones que dependen del tapón de la botella (cápsula metálica, corona, tapón de corcho o de plástico; véanse figuras 1 y 2).

Están graduados en pascales (abreviatura: Pa) (1). Resulta más práctico utilizar el 10^5 pascal (10^5Pa) o el kilopascal (kPa) como unidad.

(1) 1 pascal (Pa) = 1 N/m^2 = 10^{-5}bares.

Pueden ser de distintas clases. La clase de un manómetro es la precisión de la lectura respecto de la escala completa expresada en términos porcentuales (ejemplo «manómetro 1 000 kPa clase 1» significa presión de utilización máxima 1 000 kPa lectura a ± 10 kPa). La clase 1 se recomienda para lecturas precisas.

Los afrómetros deben verificarse con regularidad (al menos una vez al año).

3.2. **Procedimiento**

La medida debe efectuarse en botellas cuya temperatura esté estabilizada desde, como mímimo, 24 horas antes.

Tras haber perforado la cápsula o el tapón, la botella debe agitarse vigorosamente hasta obtener una presión constante para efectuar la lectura.

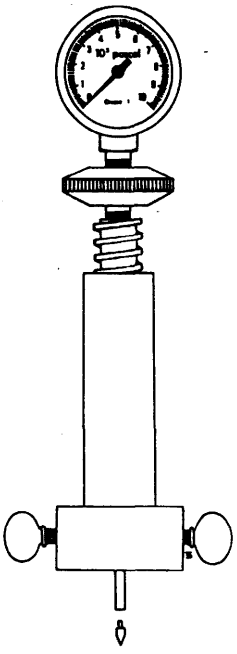


Figura 1 — Afrómetro para cápsulas

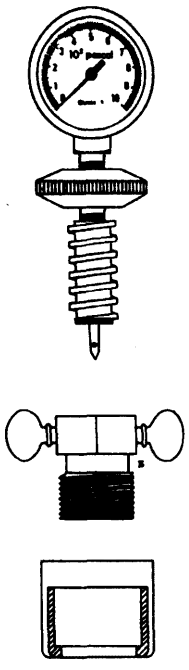


Figura 2 — Afrómetro para tapones

3.3. **Expresión de los resultados**

La sobrepresión a 20 °C ($Paph_{20}$) se expresa en pascales (Pa) o kilopascales (kPa).

Deberá concordar con la precisión del manómetro (ejemplo: 6,3 10^5 Pa o 6,3 kPa y no 6,33 10^5 Pa o 633 kPa para un manómetro 1000 kPa de escala completa y de clase 1).

Cuando la temperatura de medida difiera de 20 °C, resulta conveniente corregir multiplicando la presión medida por el coeficiente

$$\frac{Paph_{20}}{Paph_t},$$

indicado en la tabla 1 para volver a la temperatura de 20 °C.

4. RELACIÓN ENTRE LA PRESIÓN Y LA CANTIDAD DE DIÓXIDO DE CARBONO PRESENTE EN UN VINO ESPUMOSO (1)

A partir de la sobrepresión a 20 °C ($Paph_{20}$), se calcula la presión absoluta a 20 °C ($Pabs_{20}$) de acuerdo con la fórmula:

$$Pabs_{20} = Patm + Paph_{20}$$

(1) No se tiene en cuenta la presencia de otros gases (O_2, N_2, etc.) en cantidades tan bajas que no tengan influencias sobre la sobrepresión.

Patm = presión atmosférica expresada en pascales.

La cantidad de dióxido de carbono contenida en un vino viene dada por las siguientes relaciones:

— en litros de CO_2 por litro de vino:

$$0{,}987 \cdot 10^{-5}\ Pabs_{20}\ (0{,}86 - 0{,}01A)\ (1 - 0{,}00144S)$$

— en gramos de CO_2 por litro de vino:

$$1{,}951 \cdot 10^{-5}\ Pabs_{20}\ (0{,}86 - 0{,}01A)\ (1 - 0{,}00144S)$$

en las que:

A = grado alcohólico del vino a 20 °C.

S = contenido en azúcares del vino, expresado en gramos por litro.

TABLA 1

Relación entre la sobrepresión $Paph_{20}$ de vinos de aguja y espumosos a 20 °C a la sobrepresión $Paph_t$ a una temperatura t

0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

38. CIANO-DERIVADOS

1. FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS

1.1. **Método rápido de ensayo:** control de los vinos tratados con hexacianoferrato (II) de potasio.

Verificación de la ausencia de precipitado de hexacianoferrato II de hierro III en suspensión en el depósito.

Verificación de la ausencia de formación de hexacianoferrato II de hierro III por adición de una sal de hierro III al vino acidificado.

Verificación de la presencia de hierro que puede precipitarse por adición al vino acidulado de una mezcla de hexacianoferrato II y de hexacianoferrato III alcalinos.

1.2. **Método usual**

Determinación argentimétrica del ácido cianhídrico total liberado por hidrólisis ácida y separado mediante destilación:

2. MÉTODO RÁPIDO DE ENSAYO

Control de los vinos tratados con hexacianoferrato II de potasio.

2.1. **Material**

Es preciso disponer de uno de los siguientes aparatos:

2.1.1. Centrifugadora que permita aplicar una fuerza centrífuga de 1 200 a 1 500 g.

2.1.2. Dispositivo de filtración para filtros de membrana (diámetro de los poros 0,45 µm).

2.2. **Reactivos**

2.2.1. Ácido clorhídrico diluido a 1/2 (v/v) obtenido por dilución en volúmenes de ácido clorhídrico (HCl), ρ_{20} = 1,18 a 1,19 g/ml) exento de hierro.

2.2.2. Solución de sulfato de hierro III y de amonio $Fe_2(SO_4)_3$, $(NH_4)_2\ SO_4$, $24H_2O$, al 15 % (m/v).

2.2.3. Solución de hexacianoferrato II de potasio, K_4 [Fe $(CN)_6$], $3H_2O$, al 10 % (m/v).

2.2.4. Solución de hexacianoferrato III de potasio, K_3 [Fe $(CN)_6$], al 10 % (m/v). Preparar inmediatamente antes de su empleo.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Detección de trazas de hexacianoferrato II de hierro III en suspensión*

Tras haber agitado la muestra, introducir 20 ml de vino en un tubo para centrifugar de 30 ml; añadir 1 ml de ácido clorhídrico (2.2.1). Centrifugar durante 15 minutos o filtrar en filtro (diámetro de los poros 0,45 µm). El fondo del tubo para centrifugar o el filtro deberá estar totalmente exento de partículas azules.

2.3.2. *Detección de trazas de iones hexacianoferrato II en solución*

Añadir 1 gota de una solución de sulfato de hierro III y de amonio (2.2.2) al sobrenadante o al filtrado obtenidos en la prueba 2.3.1. Agitar y dejar reposar al menos 24 horas. Centri-

fugar 15 minutos o filtrar en filtro (diámetro de los poros 0,45 µm). El fondo del tubo de centrifuga o el filtro deberá estar totalmente exento de partículas azules de hexacianoferrato II de hierro III.

2.3.3. *Comprobación de la presencia de iones hierro en el vino*

Introducir en un tubo de ensayo 20 ml de vino, 1 ml de ácido clorhídrico (2.2.1), 1 gota de una solución de hexacianoferrato II de potasio (2.2.3) y 1 gota de una solución de hexacianoferrato III de potasio (2.2.4). En menos de 30 minutos deberá aparecer una coloración o un precipitado de color azul. Tras centrifugación o filtración en filtro (diámetro de los poros 0,45 µm) seguida del lavado del filtro dos veces con 5 ml de agua, deberá observarse un depósito azul en el tubo para centrifugar o en el filtro.

3. MÉTODO USUAL

3.1. **Material**

3.1.1. Aparato de destilación constituido por un matraz de fondo redondo de 500 ml unido mediante un tubo esmerilado al extremo superior de un refrigerante en posición vertical con una longitud de 350 mm al menos.

El extremo inferior de este refrigerante llevará una alargadera estrechada en su punta que conduce el destilado hasta el fondo de un matraz de 50 ml que estará totalmente sumergido en agua helada.

3.1.2. Baño de agua con termostato a 100 °C, calentado eléctricamente.

3.2. **Reactivos**

3.2.1. Ácido sulfúrico diluido a 1/5 (v/v).

Mezclar con precaución 200 ml de ácido sulfúrico H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml) con una cantidad de agua suficiente para obtener 1 litro de solución.

3.2.2. Cloruro de cobre II cristalizado, $Cu\,Cl_2, 2\,H_2O$.

3.2.3. Solución de rojo de fenol.

Disolver 0,05 g de rojo de fenol en 1,4 ml de una solución 0,1 M de hidróxido de sodio; enrasar a 1 000 ml.

3.2.4. Solución de yoduro de potasio.

Disolver 250 g de yoduro de potasio, KI en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 litro de solución.

3.2.5. Solución 0,001 M de nitrato de plata.

Diluir 10 ml de una solución 0,1 M de nitrato de plata, $Ag\,NO_3$, hasta 1 000 ml tras añadir 0,5 ml de ácido nítrico concentrado (HNO_3, ρ_{20} = 1,40 g/ml)

3.2.6. Solución de hidróxido de sodio 1 M, que no contenga hierro.

3.3. **Procedimiento**

Introducir 100 ml de vino filtrado (o sin filtrar, si se quiere determinar también el ácido cianhídrico contenido en el posible enturbiamiento azul), añadir aproximadamente 5 mg de cloruro de Cu II (3.2.2) y 10 ml de ácido sulfúrico diluido (3.2.1). Introducir en el matraz receptor 5 ml de solución de hidróxido de sodio (3.2.6). Destilar hasta que el matraz de 50 ml esté lleno.

Se vierte este destilado en un vaso de precipitados de 400 ml colocado en un baño de agua a 100 °C y para acelerar la evaporación dirigir una fuerte corriente de aire frío a la superfi-

cie del líquido alcalino. Hay que reducir el volumen hasta 5 o 7 ml, lo que require aproximadamente 30 minutos (no reducir nunca el volumen a menos de 5 ml).

En caso necesario, se filtra la solución enfriada recogiendo el filtrado en un tubo de ensayo de 20 mm de diámetro y de 180 mm de longitud o se trasvasa directamente a este tubo. Lavar el vaso de precipitados y, en su caso, el filtro con algunos mililitros de agua y añadirlos al tubo.

Colocar el tubo de ensayo sobre un fondo negro e iluminarlo lateralmente mediante un haz de luz blanca. El líquido debe estar completamente transparente (1).

Añadir dos gotas de solución de rojo de fenol (3.2.3) para sensibilizar el viraje (2) y 1 gota de solución de yoduro de potasio (3.2.4). Valorar con la solución 0,001 M de nitrato de plata (3.2.5) hasta que se produzca un ligero enturbiamento, que sea estable. Sea n el volumen de solución necesario para obtener este resultado.

Preparar, por otra parte, un tubo semejante con 5 ml de solución de hidróxido de sodio (3.2.6), 2 gotas de solución de rojo de fenol (3.2.3)(2), 1 gota de solución de yoduro de potasio (3.2.4) y una cantidad de agua suficiente para obtener un volumen idéntico al del ensayo anterior. Añadir la solución 0,001 M de nitrato de plata (3.2.5) en cantidad suficiente para obtener el mismo enturbamiento, sea n' el volumen empleado (3).

3.4. **Expresión de los resultados**

1 ml de solución 0,001 M de nitrato de plata corresponde a 54 µg de ácido cianhídrico (HCN).

La cantidad de ácido cianhídrico total contenido en 1 l de vino, expresada en miligramos, es: 0,54 (n − n'). Se expresa con 2 decimales.

Sólo deben considerarse como significativos de presencia de compuestos cianhídricos en el vino aquellos ensayos en los que n − n' sea superior a 0,5 ml.

Cuando n − n' sea superior a 10 ml, volver a efectuar todas las operaciones utilizando una solución de nitrato de plata 0,01 M.

(1) Algunos vinos, como los vinos de licor, etc., producen un destilado que no es límpido a pesar de la filtración; debe, entonces, colocarse este destilado concentrado en un matraz de destilación de 200 ml, añadir agua hasta obtener 30 ml y destilarlo cuando aún es alcalino, tirando el primer destilado de volumen igual a 15 ml aproximadamente. Enfriar el contenido del matraz, acidificar con 5 ml, aproximadamente, de ácido sulfúrico diluido y volver a destilar, recogiendo el destilado sobre 5 ml de líquido. Entonces está límpido.

(2) Esta adición es facultativa, algunas personas observan mejor la aparición del enturbiamiento en una solución rosa que en una solución incolora.

(3) n' es igual a 0,05 o 0,1 ml, si el volumen de agua empleado es inferior a 10 ml. Para obtener un viraje sensible, es necesario que ese volumen sea lo menor posible, evitando en lo posible toda causa de dilución, durante la operación principal.

39. ISOTIOCIANATO DE ALILO

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El isotiocianato de alilo, presente, en su caso, en el vino es recuperado por destilación y se identifica mediante una técnica de cromatografía en fase gaseosa.

2. REACTIVOS

2.1. Etanol absoluto.

2.2. Solución estándar: solución en alcohol absoluto de isotiocianato de alilo con 15 mg/l de principio activo.

2.3. Mezcla refrigerante constituida por etanol y nieve carbónica (temperatura −60 °C)

3. MATERIAL

3.1. Aparato de destilación por arrastre mediante corriente de nitrógeno según la figura.

3.2. Envuelta termógena termorregulable.

3.3. Medidor de flujo.

3.4. Cromatógrafo de fase gaseosa con detector fotométrico de llama, provisto de un filtro selectivo para los compuestos azufrados (λ = 394 nm), o cualquier otro detector apropiado para esta medida.

3.5. Columna de cromatografía de acero inoxidable, diámetro interno 3 mm, longitud 3 m; rellena de Carbowax 20 M al 10 % sobre chromosorb WHP, 80 a 100 mallas

3.6. Microjeringa de 10 µl.

4. PROCEDIMIENTO

Tomar 2 l de vino e introducirlos en el matraz de destilación. Echar algunos ml de etanol (2.1) en los dos tubos de recuperación hasta que se produzca la total inmersión de la parte porosa para la dispersión gaseosa. Enfriar, por la parte exterior, los dos tubos con la mezcla refrigerante. Comunicar el matraz con los dos tubos receptores y comenzar a enviar dentro del aparato una corriente de nitrógeno de 3 l por hora, aproximadamente. Calentar el vino a 80 °C regulando convenientemente la temperatura del recinto termógeno y recuperar en total 45 a 50 ml de destilado.

Estabilizar el cromatógrafo; es aconsejable tener las condiciones operatorias siguientes:

— temperatura del inyector: 200 °C,

— temperatura de la columna: 130 °C,

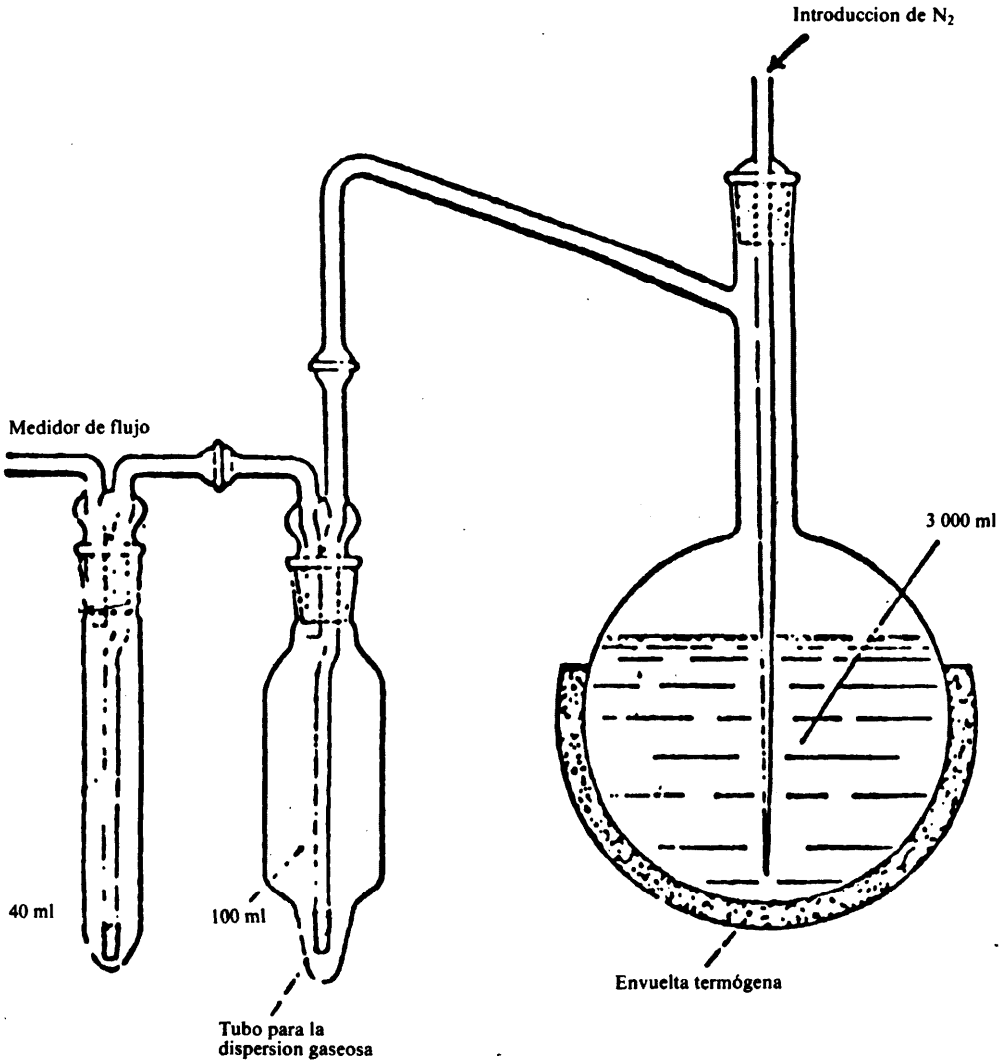
— gas portador helio con un flujo de 20 ml por minuto.

Inyectar con la ayuda de la microjeringa una cantidad de solución estándar tal que el pico correspondiente al isotiocianato de alilo pueda ser fácilmente identificado sobre el cromatograma.

Inyectar, de la misma forma, una parte alícuota de destilado y comprobar la correspondencia entre el tiempo de retención del isotiocianato de alilo y el pico obtenido.

En las condiciones indicadas para el ensayo, ningún compuesto natural del vino produce interferencias correspondientes al tiempo de retención de la substancia investigada.

Aparato de destilación bajo corriente de nitrógeno



40. CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS

1. VINOS Y MOSTOS

1.1. **Definiciones**

Se consideran características cromáticas de un vino la luminosidad y cromaticidad.

La luminosidad corresponde a la transmitancia y varía en razón inversa a la intensidad colorante del vino.

La cromaticidad corresponde a la longitud de onda dominante (que caracteriza la tonalidad) y a la pureza.

Convencionalmente y por razones de comodidad, las características cromáticas de los vino tintos y rosados podrían ser definidas por la intensidad colorante y la tonalidad, de acuerdo con un procedimiento que se ha adoptado como método usual.

1.2. **Fundamento de los métodos**

1.2.1. *Método de referencia*

Método espectrofotométrico que permite el cálculo de los valores triestimulares y de los coeficientes tricromáticos necesarios para especificar el color en los términos de la Comisión Internacional del Alumbrado (CIE).

1.2.2 *Método usual (aplicable a vinos tintos y rosados)*

Método espectrofotométrico de acuerdo con el cual las características cromáticas se expresan convencionalmente como se indica a continuación:

la intensidad viene dada por la suma de las absorbancias en cubetas de 1 cm de trayecto óptico para las radiaciones de longitudes de onda iguales a 420, 520 y 620 nm,

la tonalidad se expresa por la relación entre la absorbancia a 420 nm y la absorbancia a 520 nm.

1.3. **Método de referencia**

1.3.1. *Material*

1.3.1.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas entre 300 y 700 nm.

1.3.1.2. Cubetas de vidrio, disponibles por parejas, de un trayecto óptico b, igual a 0,1; 0,2; 0,5; 1,2 y 4 cm.

1.3.2. *Procedimiento*

1.3.2.1. Preparación de la muestra

Si el vino está turbio, debe clarificarse por centrifugación o por filtración a través de una membrana.

En los vinos jóvenes o espumosos debe eliminarse la mayor cantidad posible de dióxido de carbono mediante agitación al vacío.

1.3.2.2. Medidas

El trayecto óptico b de las cubetas utilizadas debe elegirse de forma que la absorbancia medida esté comprendida entre 0,3 y 0,7.

A título indicativo, se aconseja utilizar cubetas de 2 cm (o 4 cm) de trayecto óptico para los vinos blancos, 1 cm para vinos rosados y 0,1 cm (o 0,2 cm) para los vinos tintos.

Efectuar las medidas espectrofotométricas utilizando como líquido de referencia agua destilada en una cubeta del mismo trayecto óptico b, para regular el cero de la escala de absorbancias a las longitudes de onda 445, 495, 550 y 625 nm.

Tomar, para el trayecto óptico b, las cuatro absorbancias obtenidas para el vino A_{445}, A_{495}, A_{550} y A_{625} (con 3 decimales).

1.3.3. *Cálculos*

Tomar los valores de las absorbancias para b expresados en cm de trayecto óptico y buscar en la tabla I las transmitancias (T %) correspondientes, es decir: T_{445}, T_{495}, T_{550}, T_{625}.

— Calcular los valores triestimulares X, Y y Z, expresados en fracciones decimales:

$$X = 0{,}42 \cdot T_{625} + 0{,}35 \cdot T_{550} + 0{,}21 \cdot T_{445}$$

$$Y = 0{,}20 \cdot T_{625} + 0{,}63 \cdot T_{550} + 0{,}17 \cdot T_{495}$$

$$Z = 0{,}24 \cdot T_{495} + 0{,}94 \cdot T_{445}$$

— Calcular las coordenadas del color x e y:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \qquad y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

1.3.4. *Expresión de los resultados*

1.3.4.1. La luminosidad relativa viene dada por el valor de Y expresado en porcentaje. (En el caso del negro Y % = 0, en el caso del incoloro Y % = 100.)

1.3.4.2. La cromaticidad se expresa por la longitud de onda dominante y la pureza.

Para su determinación hay que recurrir al diagrama de cromaticidad, delimitado por el *spectrum locus*, que se da en la figura 1. En él se indica el punto 0 que corresponde a la fuente de luz blanca utilizada, representada por el iluminante estándar C de coordenadas $X_O = 0{,}3101$ e $Y_O = 0{,}3163$, correspondiente a la luz de un día medianamente claro.

— Longitud de onda dominante

Situar en el diagrama el punto C de coordenadas x e y. Cuando el punto C se sitúe fuera del triángulo AOB, trazar la recta de unión entre el punto O y el punto C y prolongarla; cortará el *spectrum locus* en un punto S que corresponde a la longitud de onda dominante.

Cuando el punto C se encuentre dentro del triángulo AOB, trazar una recta desde C hasta O; cortará el *spectrum locus* en un punto que corresponde a la longitud de onda del color complementario del vino. Dicha longitud de onda se expresa por su valor seguido de la letra C.

— Pureza

Cuando el punto C se encuentra fuera del triángulo AOB, la pureza se expresa en porcentaje mediante la relación:

$$100 \cdot \frac{\text{distancia del punto C al punto O}}{\text{distancia del punto O al punto S}}$$

Cuando el punto C está dentro del triángulo AOB, la pureza se expresa en porcentaje mediante la relación:

$$100 \cdot \frac{\text{distancia del punto C al punto O (1)}}{\text{distancia del punto O al punto P}}$$

(1) Esta distancia debe medirse en el sentido OC.

Siendo P el punto en que la recta OC corta la línea de los púrpuras.

La pureza también puede conocerse directamente a partir de los diagramas de cromaticidad conociendo x e y (figuras 2, 3, 4, 5 y 6).

1.3.4.3. Resultados

La luminosidad, la cromaticidad (expresada por la longitud de onda dominante) y la pureza definen por completo el color de un vino.

Deben indicarse en el boletín de análisis con el valor del trayecto óptico al que se hayan efectuado las medidas.

1.4. **Método usual**

1.4.1. *Material*

1.4.1.1. Espectrofotómetro que permita medidas entre 300 y 700 nm.

1.4.1.2. Cubetas de vidrio, disponibles en parejas, de trayecto óptico b, igual a 0,1; 0,2; 0,5 y 1 cm.

1.4.2. *Tratamiento previo de la muestra*

Si el vino está turbio, debe clarificarse por centrifugación o por filtración a través de una membrana.

En los vinos jóvenes o espumosos debe eliminarse la mayor cantidad posible de dióxido de carbono mediante agitación al vacío.

1.4.3. *Procedimiento*

El trayecto óptico b de la cubeta de medida debe elegirse de forma que la absorbancia A esté comprendida entre 0,3 y 0,7.

Efectuar las medidas espectrofotométricas utilizando como líquido de referencia agua destilada en una cubeta del mismo trayecto óptico b, para regular el cero de la escala de absorbancias a las longitudes de onda 420, 520 y 620 nm.

1.4.4. *Expresión de los resultados*

1.4.4.1. Cálculos

Calcular las absorbancias en cubetas de 1 cm de trayecto óptico para las 3 longitudes de onda, dividiendo entre b, expresado en cm, las absorbancias halladas, es decir, A_{420}; A_{520} y A_{620}.

Convencionalmente, la intensidad viene dada por:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Se expresa con 3 decimales.

Convencionalmente, la tonalidad viene dada por:

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Se expresa con 3 decimales.

TABLA I

Transformación de las absorbancias en transmitancias (T %)

Instrucciones de uso:

Leer la primera cifra decimal del valor de la absorbancia en la columna vertical 1 y la segunda cifra decimal en la línea horizontal 2.

Tomar la cifra situada en su intersección. Para obtener la transmitancia, esta cifra deberá dividirse entre 10 si la absorbancia tiene un valor inferior a 1, entre 100 si está comprendida entre 1 y 2 y entre 1 000 si está comprendida entre 2 y 3.

Nota:

La cifra situada en el ángulo superior derecho de cada casilla permite tener en cuenta, por interpolación, la tercera cifra decimal del valor de la absorbancia.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	23 1000	22 977	22 955	21 933	21 912	20 891	20 871	19 851	19 832	19 813
1	18 794	18 776	17 759	17 741	16 724	16 708	16 692	15 676	15 661	15 646
2	14 631	14 617	14 603	14 589	13 575	13 562	13 549	12 537	12 525	12 513
3	11 501	11 490	11 479	11 468	10 457	9 447	9 436	10 427	10 417	9 407
4	9 398	9 389	9 380	8 371	8 363	8 355	8 347	8 339	7 331	8 324
5	7 316	7 309	7 302	7 295	6 288	7 282	6 275	6 269	6 263	6 257
6	6 251	5 245	6 240	5 234	5 229	5 224	5 219	5 214	5 209	5 204
7	4 199	5 195	4 190	4 186	4 182	4 178	4 174	4 170	4 166	4 162
8	3 158	4 155	3 151	4 148	4 144	3 141	3 138	3 135	3 132	3 129
9	3 126	3 123	3 120	2 117	3 115	2 112	3 110	2 107	3 105	2 102

Ejemplo:

Absorbancia óptica:	0,47	1,47	2,47	3,47
T %:	33,9 %	3,4 %	0,3 %	0 %

Las transmitancias T % se expresarán con una aproximación de 0,1 %.

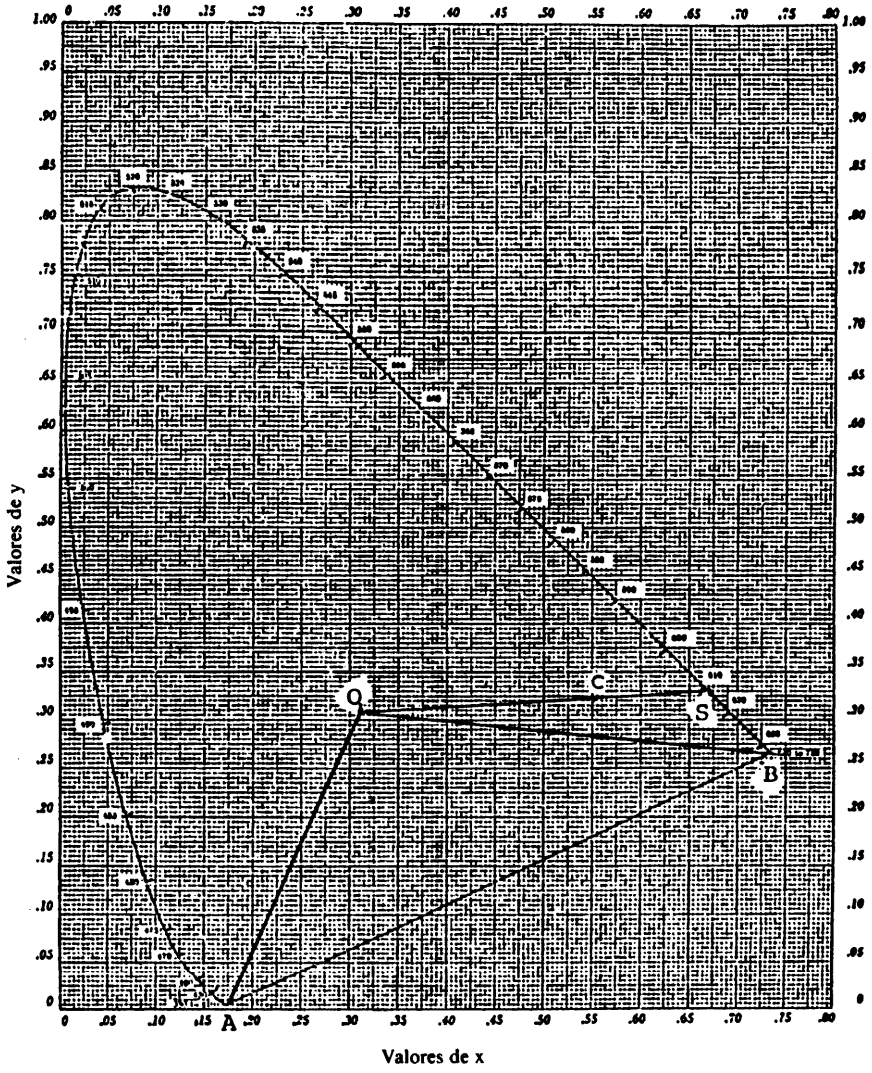


Figura 1

Diagrama de cromaticidad en el que se representa la localización de todos los colores del espectro

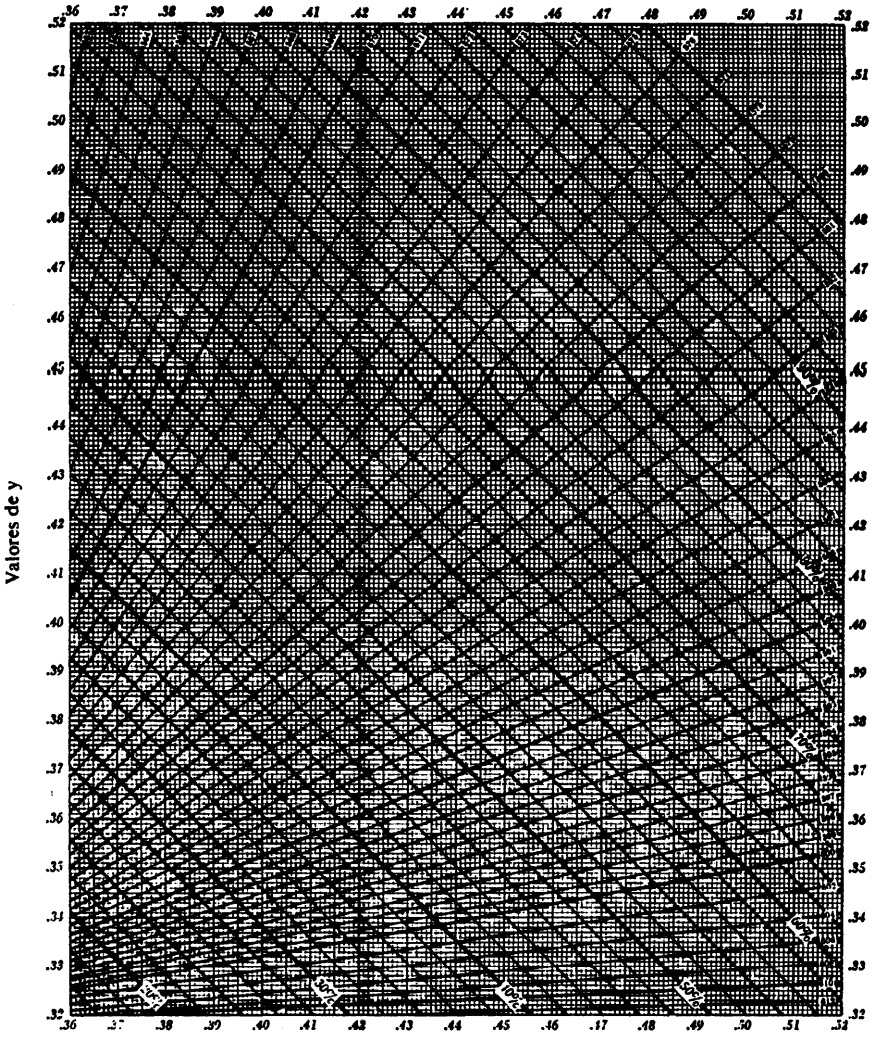


Figura 2

Diagrama de cromaticidad para los vinos tintos limpios y los vinos tintos de tela de cebolla

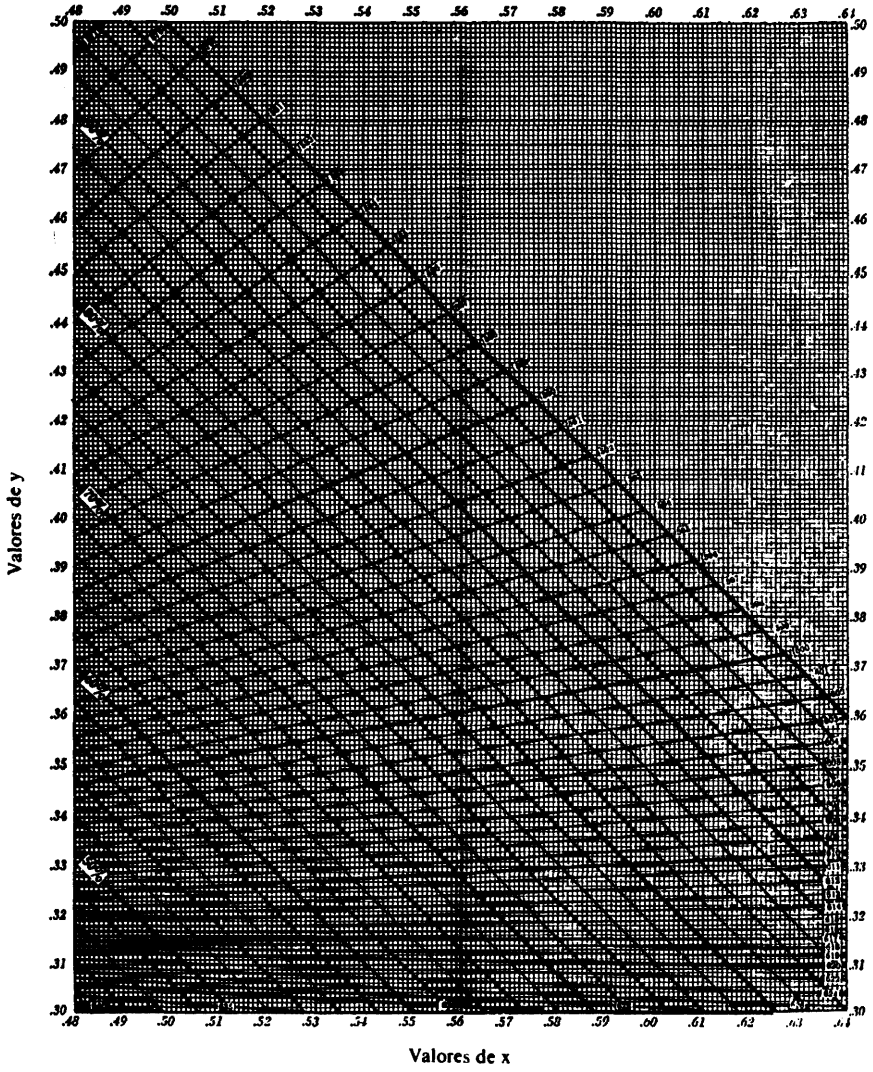


Figura 3

Diagrama de cromaticidad para los vinos tintos limpios y los vinos tintos de tela de cebolla

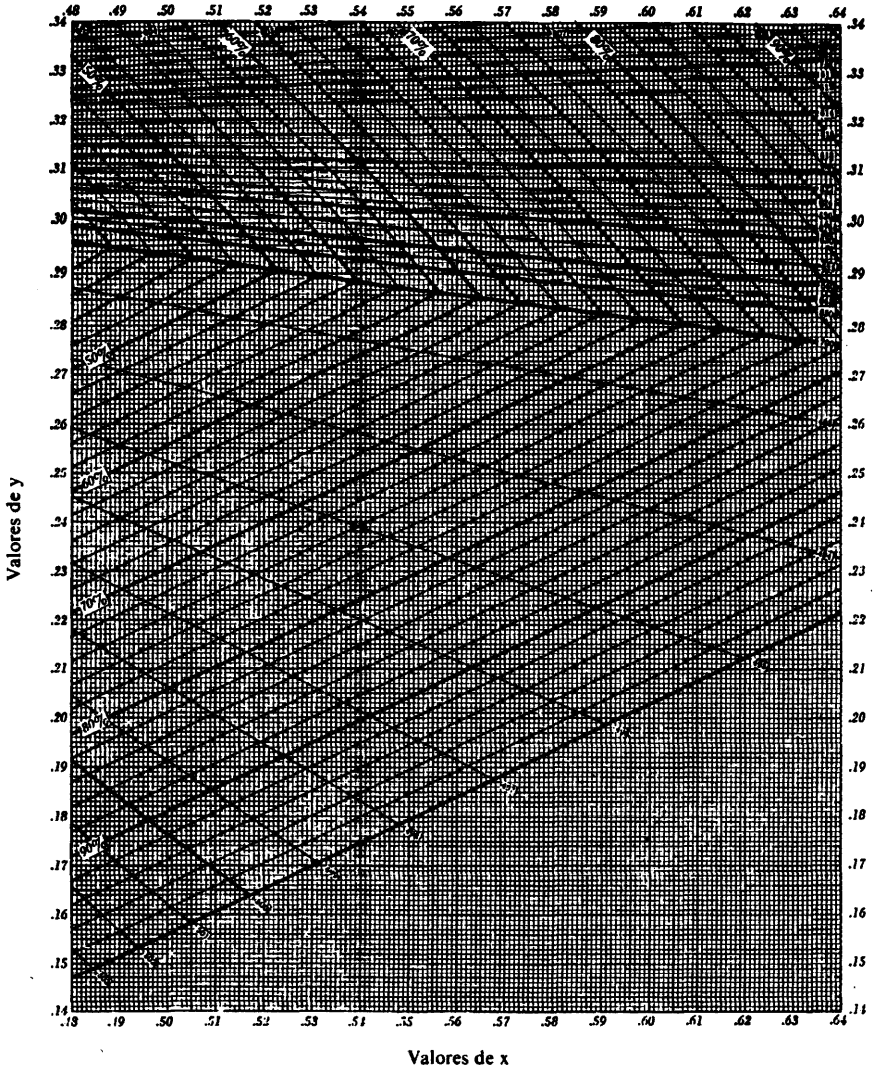


Figura 4

Diagrama de cromaticidad para los vinos tintos limpios y los vinos tintos púrpura

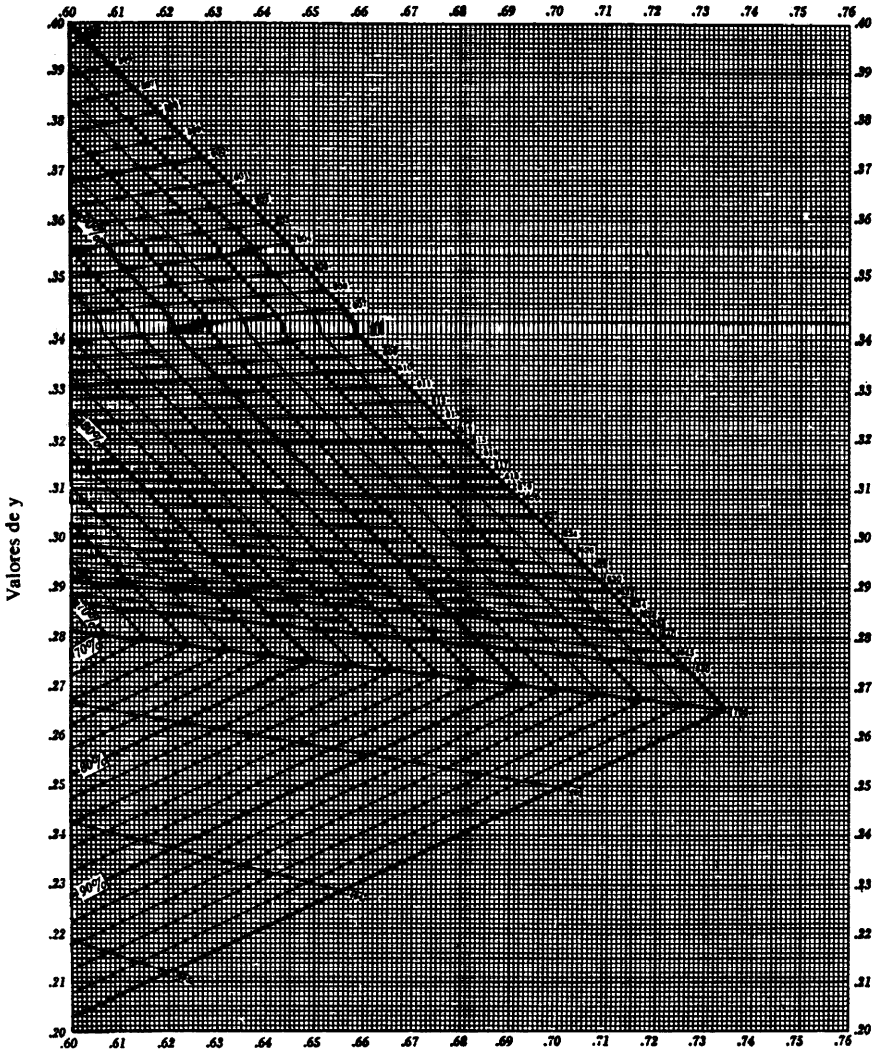


Figura 5

Diagrama de cromaticidad para los vinos tintos limpios y los vinos tintos púrpura

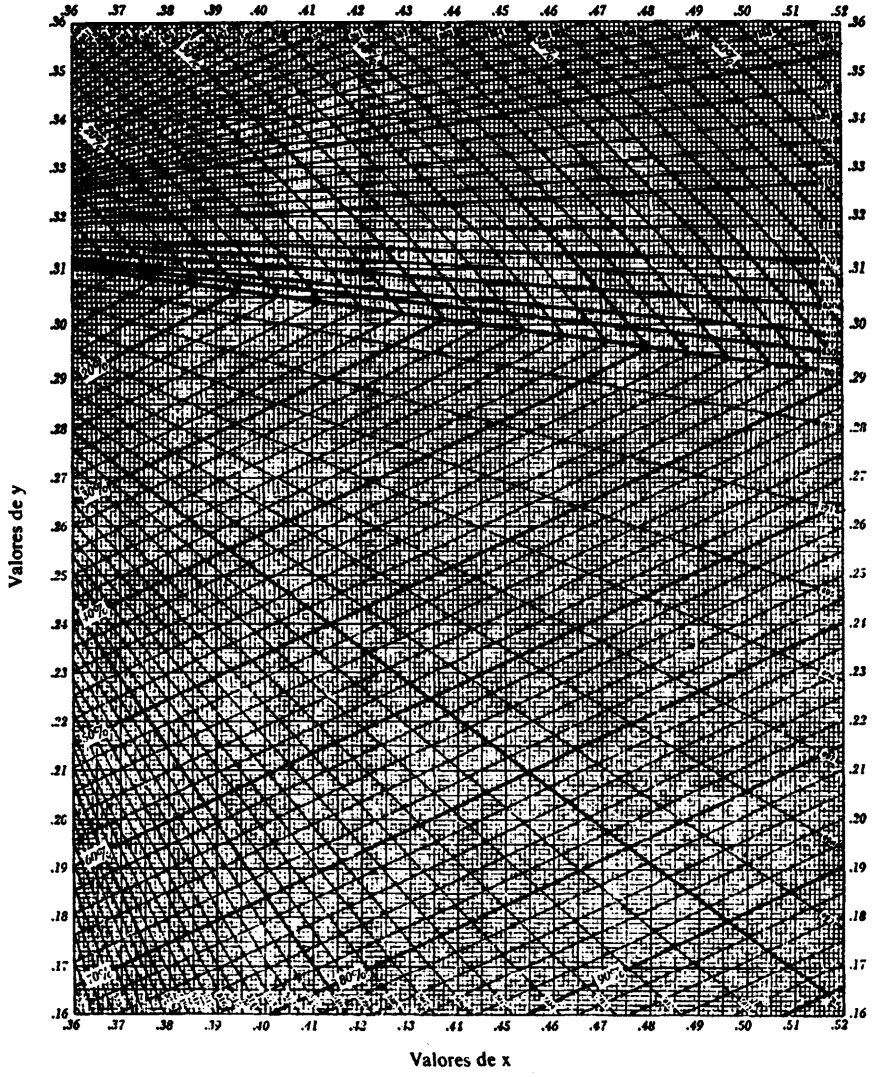


Figura 6

Diagrama de cromaticidad para los vinos tintos tela de cebolla y los vinos tintos púrpura

2. MOSTO CONCENTRADO RECTIFICADO

2.1. **Fundamento**

Medida de la absorbancia, a 425 nm en cubetas de 1 cm de espesor, del mosto concentrado rectificado cuya concentración en azúcares se haya reducido al 25 % (m/m) (25° Brix).

2.2. **Material**

2.2.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas entre 300 y 700 nm.

2.2.2. Cubetas de vidrio con un trayecto óptico de 1 cm.

2.2.3. Filtro con membrana y de una porosidad de 0,45 µm.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Preparación de la muestra*

Utilizar una solución cuyo valor en azúcares sea del 25 % (m/m) (25° Brix) y que se habrá preparado del modo indicado en el capítulo «pH» (4.1.2). Filtrarla en un filtro con membrana de una porosidad de 0,45 µm.

2.3.2. *Determinación de la absorbancia*

Regular la absorbancia cero para la longitud de onda 425 nm en una cubeta de 1 cm de trayecto óptico que contenga agua destilada.

Determinar la absorbancia A a esta longitud de onda de la solución al 25 % de azúcares (25° Brix) obtenida en el apartado 2.3.1 y colocada en una cubeta de 1 cm de trayecto óptico.

2.4. **Expresión de los resultados**

La absorbancia a 425 nm del mosto concentrado rectificado en solución al 25 % (m/m) de azúcares (25° Brix) se expresará con 2 decimales.

41. ÍNDICE DE FOLIN-CIOCALTEU

1. DEFINICIÓN

El índice de Folin-Ciocalteu es el resultado de la aplicación del método que se describe a continuación.

2. FUNDAMENTO

El conjunto de los compuestos fenólicos del vino se oxida por el reactivo Folin-Ciocalteu. Este último está constituido por una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolíbdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) que se reduce, por la oxidación de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}).

La coloración azul producida posee una absorción máxima en torno a 750 nm. Es proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos.

3. REACTIVOS

Los reactivos deben ser de calidad analítica. El agua utilizada será agua destilada o agua de pureza equivalente.

3.1. **Reactivo de Folin-Ciocalteu**

Este reactivo se encuentra en el comercio listo para su empleo. Puede prepararse de la forma siguiente: disolver en 700 ml de agua destilada 100 g de tungstato de sodio $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ y 25 g de molibdato de sodio $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; añadir 50 ml de ácido fosfórico al 85 % (ρ_{20} = 1,71 g/ml), 100 ml de ácido clorhídrico concentrado (ρ_{20} = 1,19 g/ml). Llevar a ebullición bajo reflujo durante 10 horas, añadir a continuación 150 g de sulfato de litio, algunas gotas de bromo y hervir de nuevo durante 15 minutos. Enfriar y completar hasta 1 litro con agua destilada.

3.2. Carbonato de sodio (Na_2CO_3) anhidro en solución al 20 % (m/v).

4. MATERIAL

Material corriente de laboratorio, y en particular:

4.1. Matraces aforados de 100 ml.

4.2. Espectrofotómetro que permita trabajar a 750 nm.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. **Caso de los vinos tintos**

En un matraz aforado de 100 ml (4.1), introducir respetando el orden siguiente:

1 ml de vino diluido al 1/5,

50 ml de agua destilada,

5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (3.1),

20 ml de solución de carbonato de sodio (3.2).

Enrasar a 100 ml con agua destilada.

Agitar para homogeneizar. Esperar 30 minutos, para que se estabilice la reacción. Determinar la absorbancia a 750 nm con una cubeta de 1 cm con relación a un testigo preparado con agua destilada en lugar del vino.

Si la absorbancia leída no está próxima a 0,3, hay que modificar la dilución del vino para obtener dicha absorbancia.

5.2. **Caso de los vinos blancos**

Operar de la misma forma con 1 ml de vino sin diluir.

5.3. **Caso del mosto concentrado rectificado**

5.3.1. *Preparación de la muestra*

Utilizar una solución cuyo contenido en azúcares sea del 25 % (m/m) (25 ° Brix), preparada del modo indicado en el capítulo «pH» (4.1.2).

5.3.2. *Medida*

Proceder como en el caso de los vinos tintos (5.1) en 5 ml de muestra preparada de acuerdo con el apartado 5.3.1, midiendo la absorbancia en relación con un testigo preparado con 5 ml de solución de azúcar invertido al 25 % (m/m).

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. **Método de cálculo**

El resultado se expresa en forma de un índice obtenido al multiplicar la absorbancia por 100 en el caso de los vinos tintos diluidos al 1/5 (o por el factor correspondiente a la dilución empleada) y por 20 en el caso de los vinos blancos. En el caso de mostos concentrados rectificados, la absorbancia hay que multiplicarla por 16.

6.2. **Repetibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o inmediatamente una después de otra por el mismo analista no debe ser superior a 1.

La buena repetibilidad de los resultados depende de la utilización de un instrumental (matraces aforados y cubetas del espectrofotómetro) rigurosamente limpio.

42. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESPECÍFICOS PARA MOSTOS DE UVA CONCENTRADOS RECTIFICADOS

a) CATIONES TOTALES

1. FUNDAMENTO

Se trata la muestra con un intercambiador de cationes de elevada acidez. Se intercambian los cationes por H^+. Se expresan mediante la diferencia la acidez total del efluente y la de la muestra.

2. MATERIAL

2.1. Columna de vidrio de aproximadamente 300 mm de longitud y 10 a 11 mm de diámetro interno, provista de un grifo.

2.2. pH metro graduado, como mínimo, en décimas de unidades pH

2.3. Electrodos

— electrodo de vidrio, que deberá conservarse en agua destilada,

— electrodo de referencia de cloruro mercúrico de cloruro de potasio saturado, que deberá conservarse en una solución saturada de cloruro de potasio,

— electrodo combinado, que deberá conservarse en agua destilada.

3. REACTIVOS

3.1. Cambiador de cationes de acidez elevada, de forma H^+, preparada previamente a su empleo, manteniéndola en agua, al menos durante una noche para que se hinche.

3.2. Solución 0,1 M de hidróxido de sodio.

3.3. Papel indicador de pH.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra**

Utilizar la solución que se haya obtenido diluyendo el mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v), tal y como se indica en el capítulo «Acidez total» (5.1.2).

4.2. **Preparación de la columna intercambiadora de iones**

Introducir en la columna 10 ml, aproximadamente, de cambiador de iones en forma H^+ previamente hinchado; lavar la columna con agua destilada hasta eliminar la acidez, que se controlará con el papel indicador.

4.3. **Cambio de iones**

Hacer pasar por la columna 100 ml de la solución de mosto concentrado rectificado, preparada del modo indicado en el apartado 4.1, a razón de una gota por segundo. Recoger el efluente en un vaso de precipitados. Lavar la columna con 50 ml de agua destilada. Valorar la acidez del efluente (incluida el agua de lavado) con la solución 0,1 M de hidróxido de sodio hasta que se alcance un pH de 7 a 20 °C. La adición de licor alcalino deberá efectuarse lentamente, agitando continuamente la solución.

Sea n ml el volumen de solución 0,1 M de hidróxido de sodio empleado.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Los cationes totales se expresan en miliequivalentes por kilo de azúcares totales con 1 decimal.

5.1. **Cálculos**

— Acidez del efluente expresada en miliequivalentes por kilo de mosto concentrado rectificado:

$$E = 2{,}5 \cdot n$$

— Acidez total del mosto concentrado rectificado en miliequivalentes por kilo (véase «Acidez total» 6.1.2): a

— Cationes totales en miliequivalentes por kilo de azúcares totales:

$$\frac{2{,}5\,n - a}{P} \cdot 100$$

P = contenido % (m/m) en azúcares totales.

b) CONDUCTIVIDAD

1. FUNDAMENTO

Medida de la conductividad eléctrica de una columna de líquido, delimitada por dos electrodos de platino (que se mantendrán paralelos), que constituye una de las ramas de un puente de Wheatstone.

La conductividad varía con la temperatura y se expresará a 20 °C.

2. MATERIAL

2.1. Conductímetro que permita efectuar medidas de conductividad en un sector comprendido entre 1 y 1 000 microsiemens por cm.

2.2. Baño de agua que permita alcanzar una temperatura de aproximadamente 20 °C (20 ± 2 °C).

3. REACTIVOS

3.1. Agua desmineralizada de conductividad específica inferior a 2 microsiemens por cm a 20 °C.

3.2. Solución de cloruro de potasio de referencia.

Disolver en agua desmineralizada (3.1) 0,581 g de cloruro de potasio, KCl, previamente secado hasta obtener una masa constante a la temperatura de 105 °C. Completar hasta 1 litro con agua desmineralizada (3.1). Esta solución posee una conductividad de 1 000 microsiemens por cm a 20 °C. Su período de conservación se limita a 3 meses.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Preparación de la muestra para análisis**

Utilizar una solución con un contenido de azúcares totales del 25 % (m/m) (25 ° Brix), tal y como se indica en el capítulo «pH» (4.1.2).

4.2. **Determinación de la conductividad**

Poner la muestra para análisis a una temperatura de 20 °C mediante inmersión en un baño de agua. Comprobar la temperatura con una aproximación de 0,1 °C.

Lavar dos veces la célula de medida del conductímetro con la solución que vaya a analizarse.

Medir la conductividad expresada en microsiemens por centímetro.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La conductividad se expresa en microsiemens por centímetro (μ5 cm^{-1}) a 20 °C sin decimales para la solución al 25 % (m/m) (25 °C Brix) de mosto concentrado rectificado.

5.1. **Cálculos**

En caso de que el aparato no cuente con un compensador de temperatura, corregir la conductividad que se haya medido mediante la tabla I. Si la temperatura es inferior a 20 °C, añadir la corrección; si la temperatura es superior a 20 °C, restar la corrección.

TABLA I

Correcciones de conductividad para temperaturas distintas de 20 °C en microsiemens cm^{-1}

Conductividad	Temperaturas									
	20.2 19.8	20.4 19.6	20.6 19.4	20.8 19.2	21.0 19.0	21.2 18.8	21.4 18.6	21.6 18.4	21.8 18.2	22.0 (1) 18.0 (2)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
300	1	3	4	5	7	8	9	11	12	13
350	1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

(1) Restar la corrección
(2) Sumar la corrección

c) HIDROXIMETILFURFURAL

1. FUNDAMENTO

1.1. **Método colorimétrico**

Los aldehídos derivados del furano, de los cuales el principal es el hidroximetilfurfural, reaccionan con el ácido barbitúrico y la paratoluidina, obteniéndose un compuesto rojo que se determina por colorimetría a 550 nm.

1.2. **Método por cromatografía líquida de alta resolución**

Separación en columna de fase inversa y determinación a 280 nm.

2. MÉTODO COLORIMÉTRICO

2.1. **Material**

2.1.1. Espectrofotómetro que permita efectuar medidas entre 300 y 700 nm.

2.1.2. Cubeta de vidrio de trayecto óptico igual a 1 cm de espesor.

2.2. **Reactivos**

2.2.1. *Ácido barbitúrico en solución al 0,5 % (m/v).*

Disolver 500 mg de ácido barbitúrico, $C_4O_3N_2H_4$, en agua destilada calentándolo ligeramente en un baño de agua a 100 °C; enrasar hasta 100 ml con agua destilada. La solución se conserva aproximadamente una semana.

2.2.2. *Paratoluidina en solución al 10 % (m/v).*

Introducir 10 g de paratoluidina, $C_6H_4(CH_3)\ NH_2$, en un matraz aforado de 100 ml; añadir 50 ml de isopropanol, $CH_3CH(OH)CH_3$ y 10 ml de ácido acético glacial, CH_3COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml); completar hasta 100 ml con isopropanol. Esta solución debe prepararse diariamente.

2.2.3. *Etanal (CH_3CHO) en solución acuosa al 1 % (m/v).*

Deberá prepararse inmediatamente antes de su empleo.

2.2.4. *Hidroximetilfurfural, $C_6O_3H_6$, en solución acuosa de 1 g/l.*

Preparar en diluciones sucesivas, soluciones con 5, 10, 20, 30 y 40 mg/l. La solución de 1 g/l y sus diluciones deberán estar preparadas.

2.3. **Procedimiento**

2.3.1. *Preparación de la muestra*

Utilizar la solución obtenida diluyendo el mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v), tal y como se indica en el capítulo «Acidez total» (5.1.2). Efectuar la determinación con 2 ml de esta solución.

2.3.2. *Determinación colorimétrica*

Introducir 2 ml de muestra preparada del modo que se indica en el apartado 2.3.1 en dos erlenmeyer *a* y *b* de 25 ml provistos de tapones esmerilados. Verter en cada erlenmeyer 5 ml de solución de paratoluidina (2.2.2); mezclar. Añadir en el erlenmeyer *b* (testigo) 1 ml de agua destilada y, en el erlenmeyer *a* (medida), 1 ml de solución de ácido barbitúrico (2.2.1). Agitar para homogeneizar. Transvasar el contenido de los erlenmeyer en las cubetas de 1 cm de trayecto óptico del espectrofotómetro. Regular el cero de la escala de absorbancia con el contenido del erlenmeyer *b* para una longitud de onda 550 nm y determinar la absorbancia del contenido del erlenmeyer *a*; tomar su valor máximo A, que se alcanzará entre 2 y 5 minutos.

Las muestras cuyo contenido en hidroximetilfurfural sea superior a 30 mg/l deberán diluirse antes del análisis.

2.3.3. *Curva patrón*

Introducir en dos erlenmeyer *a* y *b* de 25 ml, 2 ml de cada una de las soluciones de hidroximetilfurfural de 5, 10, 20, 30 y 40 mg/l (2.2.4) y aplicarles el procedimiento descrito en el apartado 2.3.2.

La representación gráfica de las absorbancias en función de los contenidos en miligramos por litro en hidroximetilfurfural de las soluciones patrón deberá ser una recta que pasa por el origen.

2.4. **Expresión de los resultados**

El contenido en hidroximetilfurfural del mosto concentrado rectificado se expresará en miligramos por kilogramo de azúcares totales.

2.4.1. Método de cálculo

El contenido C mg/l en hidroximetilfurfural de la muestra para análisis se obtendrá llevando a la curva patrón la absorbancia A determinada en esta muestra.

El contenido en hidroximetilfurfural expresado en miligramos por kilogramo de azúcares totales es igual a:

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

P = contenido % (m/m) en azúcares totales del mosto concentrado rectificado.

3. MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

3.1. **Material**

3.1.1. *Cromatógrafo de fase líquida de alta resolución equipado con:*

— un inyector con loop de 5 o 10 µl,

— un detector, espectrofotómetro que permita efectuar medidas a 280 nm,

— una columna de sílica dopada con octadecil (por ejemplo: Bondapak C_{18} Corasil, Waters Ass.),

— un registrador y, en su caso, un integrador,

— flujo de la fase móvil: 1,5 ml/min.

3.1.2. *Equipo de filtración de muestra y disolventes para eliminar partículas superiores a 0,45 µm*

3.2. **Reactivos**

3.2.1. Agua bidestilada.

3.2.2. Metanol, CH_3OH destilado o de calidad HPLC.

3.2.3. Ácido acético, CH_3COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml).

3.2.4. Fase móvil: agua-metanol (3.2.2) ácido acético (3.2.3) previamente filtrado (0,45 µm), (40, 9, 1 v/v).

Esta fase móvil deberá prepararse diariamente y desgasificada antes de su uso.

3.2.5. Solución de referencia de hidroximetilfurfural de 25 mg/l (m/v).

Introducir en un matraz aforado de 100 ml 25 mg exactamente pesados de hidroximetilfurfural $C_6H_3O_6$, y completar el volumen con metanol (3.2.2). Diluir esta solución al 1/10 con metanol (3.2.2) y filtrarla con una membrana (0,45 µm).

Esta solución se conservará de 2 a 3 meses si se introduce en un frasco de vidrio topacio herméticamente cerrado y se mantiene refrigerada.

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Preparación de la muestra*

Utilizar la solución que se haya obtenido diluyendo el mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v) del modo indicado en el capítulo «Acidez total» (5.1.2) y filtrarla con una membrana (0,45 µm).

3.3.2. *Determinación cromatográfica*

Inyectar en el cromatógrafo 5 (o 10) µl de la muestra preparada del modo indicado en el apartado 3.3.1 y 5 (o 10) µl de solución de referencia de hidroximetilfurfural (3.2.5). Registrar el cromatograma.

El período de retención del hidroximetilfurfural se aproxima a 6 o 7 minutos.

3.4. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

El contenido en hidroximetilfurfural del mosto concentrado rectificado se expresa en miligramos por kilogramo de azúcares totales.

3.4.1. *Modo de cálculo*

Sea C mg/l el contenido en hidroximetilfurfural de la solución de mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v).

El contenido en hidroximetilfurfural en miligramos por kilogramo de azúcares totales viene expresado por:

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

P = contenido % (m/m) en azúcares totales del mosto concentrado rectificado.

d) METALES PESADOS

1. FUNDAMENTOS

I. **Método rápido de evaluación de metales pesados.**

La presencia de los metales pesados se pone de manifiesto en el mosto concentrado rectificado convenientemente diluido por la coloración que da la formación de sulfuros. Se evalúan comparándolos a una solución patrón de plomo correspondiente al contenido máximo admisible.

II. **Determinación del contenido en plomo por espectrofotometría de absorción atómica.**

El quelato que se obtiene del plomo con pirrolidinditiocarbamato de amonio se extrae con metilisobutilcetona, cuya absorbancia se mide a 283,3 nm. El contenido en plomo se determina por el método de adición.

2. MÉTODO RÁPIDO DE EVALUACIÓN DE METALES PESADOS

2.1. **Reactivos**

2.1.1. *Ácido clorhídrico diluido al 70 % (m/v)*

Tomar 70 g de ácido clorhídrico (HCl), (ρ = 1,16 – 1,19 g/ml) y completar hasta 100 ml con agua.

2.1.2. *Ácido clorhídrico diluido al 20 % (m/v)*

Tomar 20 g de ácido clorhídrico (HCl) (ρ = 1,16 – 1,19 g/ml) y completar hasta 100 ml con agua.

2.1.3. *Amoniaco diluido*

Tomar 14 g de amoníaco, NH_3 (ρ = 0,931 – 0,934 g/ml) y completar hasta 100 ml con agua.

2.1.4. *Solución tampón pH 3,5*

Disolver 25 g de acetato de amonio (CH_3COONH_4) en 25 ml de agua y añadir 30 ml de ácido clorhídrico diluido (2.1.1). Ajustar el pH en caso necesario con ácido clorhídrico diluido (2.1.2) o amoníaco diluido (2.1.3) y completar hasta 100 ml con agua.

2.1.5. *Solución de tioacetamida, (C_2H_5NS), al 4 % (m/v).*

2.1.6. *Solución de glicerol ($C_3H_8O_3$) al 85 % (m/v)*

($n_D^{20\,°C}$ = 1,449 – 1,455).

2.1.7. *Reactivo de tioacetamida*

Añadir a 0,2 ml de solución de tioacetamida (2.1.5) 1 ml de una mezcla de 5 ml de agua, 15 ml de hidróxido de sodio en solución 1 M y 20 ml de glicerol (2.1.6). Calentar en un baño de agua a 100 °C durante 20 segundos. Preparar inmediatamente antes de su empleo.

2.1.8. *Solución de plomo de 0,002 g/l*

Preparar una solución de 1 g/l de plomo disolviendo en agua 0,400 g de nitrato de plomo, Pb $(NO_3)_2$ y completar hasta 250 ml con agua. Diluir con agua esta solución en el momento de su uso al 2 ‰ (v/v) para obtener una solución de 0,002 g/l.

2.2. **Procedimiento**

Disolver una muestra de 10 g de mosto concentrado rectificado en 10 ml de agua. Añadir 2 ml de solución tampón pH 3,5 (2.1.4) y mezclar. Añadir 1,2 ml de reactivo de tioacetamida (2.1.7) y mezclar inmediatamente. Preparar el testigo en las mismas condiciones utilizando 10 ml de solución de 0,002 g/l de plomo (2.1.8).

Transcurridos 2 minutos, la posible coloración marrón de la solución de mosto concentrado rectificado no deberá ser más intensa que la del testigo.

2.3. **Cálculos**

El ensayo testigo corresponde en las condiciones de funcionamiento a un contenido máximo admisible de metales pesados expresados en plomo de 2 mg/kg de mosto concentrado rectificado.

3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN PLOMO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

3.1. **Material**

3.1.1. Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado por aire y acetileno.

3.1.2. Lámpara de cátodo hueco de plomo.

3.2. **Reactivos**

3.2.1. Ácido acético diluido.

Tomar 12 g de ácido acético glacial (ρ_{20} = 1,05 g/ml) y completar hasta 100 ml con agua.

3.2.2. Solución de pirrolidinditiocarbamato de amonio $C_5H_{12}N_2S_2$ al 1 % (m/v).

3.2.3. Metilisobutilcetona $(CH_3)_2CHCH_2COCH_3$.

3.2.4. Solución de plomo de 0,010 g/l de plomo.

Diluir al 1 % (v/v) la solución de plomo de 1 g/l (2.1.8).

3.3. **Procedimiento**

3.3.1. *Solución para análisis*

Disolver 10 g de mosto concentrado rectificado en una mezcla de volúmenes iguales de ácido acético diluido (3.2.1) y agua y completar hasta 100 ml con esta mezcla.

Añadir 2 ml de solución de pirrolidinditiocarbamato de amonio (3.2.2) y 10 ml de metilisobutilcetona (3.2.3). Agitar al abrigo de la luz viva durante 30 segundos. Dejar que se separen las dos capas. Utilizar la capa de metilisobutilcetona.

3.3.2. *Soluciones de referencia*

Preparar 3 soluciones de referencia que contengan, además de los 10 g de mosto concentrado rectificado, 1, 2 y 3 ml de la solución de plomo de 0,010 g/l (3.2.4), respectivamente. Seguir el mismo procedimiento que con la solución para análisis.

3.3.3. *Testigo*

Preparar un testigo siguiendo los mismos pasos que en el apartado 3.3.1 con la solución para análisis, pero sin añadir mosto concentrado rectificado.

3.3.4. *Determinación*

Seleccionar la longitud de onda 283,3 nm.

Pulverizar en la llama la metilisobutilcetona procedente del ensayo testigo y regular la absorbancia a cero.

Operando sobre sus solventes de extracción respectivos, determinar las absorbancias correspondientes a la solución para análisis y a las soluciones de referencia.

3.4. **Expresión de los resultados**

Expresar el contenido en plomo en miligramos por kilogramo de mosto concentrado rectificado con 1 decimal.

3.4.1. *Cálculos*

Trazar una curva que represente la variación de las absorbancias en función de la concentración del plomo añadido a las soluciones de referencia, correspondiendo la concentración cero a la solución para análisis.

Extrapolar la recta que une los puntos hasta que alcance el eje de las concentraciones de la parte negativa. La distancia entre este punto y el origen representa la concentración en plomo de la solución para análisis.

e) DETERMINACIÓN QUÍMICA DEL ETANOL

Este método de análisis se utiliza para determinar el grado alcohólico de líquidos con poco contenido de alcohol, como el mosto, el mosto concentrado y el mosto concentrado rectificado.

1. FUNDAMENTO

Destilación simple del líquido. Oxidación del etanol del destilado mediante el dicromato de potasio. Valoración del exceso de dicromato mediante una solución de hierro II.

2. MATERIAL

2.1. Utilizar el aparato de destilación que se describe en el apartado 3.2 del capítulo «Grado alcohólico».

3. REACTIVOS

3.1. **Solución de dicromato de potasio**

Disolver 33,600 g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 litro a 20 °C.

Un mililitro de esta solución oxida 7,8924 mg de alcohol.

3.2. **Solución de sulfato de hierro II y amonio**

Disolver 135 g de sulfato de hierro II y de amonio, $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ en una cantidad suficiente de agua, añadir 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, H_2SO_4 (ρ = 1,84 g/ml) y enrasar a 1 litro. Esta solución se oxida lentamente. Cuando está recientemente preparada, un volumen de esta solución corresponde a medio volumen de la solución de dicromato potásico.

3.3. **Solución de permanganato de potasio**

Disolver 1,088 g de permanganato de potasio, $KMnO_4$, en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 litro.

3.4. **Ácido sulfúrico diluido al 1/2 (v/v)**

Añadir a 500 ml de agua, lentamente y agitando, 500 ml de ácido sulfúrico, H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml).

3.5. **Reactivo de ortofenantrolina ferrosa**

Disolver 0,695 g de sulfato ferroso, $FeSO_4$, 7 H_2O en 100 ml de agua, añadir 1,485 g de monohidrato de ortofenantrolina $C_{12}H_8N_2$, H_2O. Calentar para favorecer la solución. Esta disolución es de color rojo intenso y se conserva muy bien.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. **Destilación**

Introducir en el matraz de destilación 100 g de mosto concentrado rectificado y 100 ml de agua. Recoger el destilado en un matraz aforado de 100 ml y enrasar con agua.

4.2. **Oxidación**

En un frasco de 300 ml con tapón esmerilado, cuyo cuello termine en una parte ensanchada, la cual permite lavar el cuello sin que se produzcan pérdidas, introducir 20 ml de solución valorada de dicromato de potasio y 20 ml de ácido sulfúrico diluido al 1/2 (v/v) (3.4) y agitar. Añadir 20 ml de destilado. Tapar el frasco, agitar y esperar al menos 30 minutos agitando de vez en cuando (frasco «muestra»).

Valorar la solución de sulfato de hierro II y amonio (3.2) en relación con la solución de dicromato de potasio introduciendo en un frasco idéntico las mismas cantidades de reactivos, pero sustituyendo los 20 ml de destilado por 20 ml de agua destilada (frasco «testigo»).

4.3. **Valoración**

Añadir 4 gotas de reactivo de ortofenantrolina (3.5) al contenido del frasco «muestra». Valorar el exceso de dicromato introduciendo la solución de sulfato de hierro II (3.2) y amonio. Dejar de añadir solución ferrosa cuando el medio pase de color azul-verdoso a marrón.

A fin de precisar el viraje, pasar del marrón al azul-verdoso con la solución de permanganato de potasio (3.3). Restar la décima parte del volumen empleado de esta solución del volumen de solución de sulfato de hierro II vertido, sea n esta diferencia.

Seguir el mismo procedimiento con el frasco «testigo». Sea n' la diferencia.

5. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

El etanol se expresa en gramos por kilo de azúcares totales con 1 decimal.

5.1. **Método de cálculo**

n' ml de solución ferrosa reducen 20 ml de solución de dicromato, que oxidan 57,85 mg de etanol puro.

Un mililitro de solución de hierro II tiene el mismo poder reductor que:

$$\frac{157{,}85}{n'} \text{ mg de etanol}$$

n' − n ml de solución de hierro II tienen el mismo poder reductor que:

$$157{,}85 \cdot \frac{n' - n}{n'} \text{ mg de etanol}$$

Etanol en g/kg de mosto concentrado rectificado:

$$7{,}892 \cdot \frac{n' - n}{n'}$$

Etanol en g/kg de azúcares totales:

$$789{,}2 \cdot \frac{n' - n}{n' \cdot P}$$

siendo P = contenido % (m/m) en azúcares totales.

f) MESO-INOSITOL, SCYLO-INOSITOL Y SACAROSA

1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Cromatografía en fase gaseosa de derivados silanizados

2. REACTIVOS

2.1. Patrón interno: xilitol (solución acuosa aproximadamente de 10 g/l adicionada de una punta de espátula de azida sódica)

2.2. Bistrimetilsililtrifluoroacetamida — BST*FA* — ($C_8H_{18}F_3NOSi_2$)

2.3. Trimetilclorosilano (C_3H_9 Cl Si)

2.4. Piridina p. a. (C_5H_5N)

2.5. Meso-inositol ($C_6H_{12}O_6$)

3. MATERIAL

3.1. **Cromatógrafo de gases, equipado con:**

3.2. Columna capilar (por ejemplo, sílice fundida, OV 1, espesor de 0,15 µ, longitud 25 m, diámetro interior 0,3 mm)

Condiciones operatorias:

— gas portador: hidrógeno y helio,

— caudal del gas portador: 2 ml/minuto aproximadamente,

— temperatura del inyector y del detector: 300° C,

— programación de temperatura: 1 minuto a 160° C, 4° C/minuto hasta 260° C, isoterma a 260° C durante 15 minutos,

— relación de split: 1 a 20.

3.3. Integrador

3.4. Microjeringa de 10 µl

3.5. Micropipetas de 50, 100 y 200 µl

3.6. Viales de 2 ml con tapón de teflón

3.7. Estufa

4. PROCEDIMIENTO

Poner alrededor de 5 g de MCR (mosto concentrado rectificado), pesado exactamente, en un matraz de 50 ml, añadir 1 ml de solución patrón de xilitol y enrasar con agua. Después de homogeneizar la muestra, tomar 100 µl de solución e introducir en un vial, secar con una ligera corriente de aire después de haber añadido 100 µl de etanol absoluto para facilitar la evaporación. Disolver cuidadosamente el residuo en 100 µl de piridina (2.4) añadir 100 µl de bistrimetilsililtrifluoroacetamida (2.2) y 10 µl de trimetilclorosilano (2.3), cerrar el vial con el tapón de teflón y colocar en estufa a 60° C durante una hora. Tomar 0,5 µl de líquido claro inyectando con «aguja vacía y caliente» según la relación de split antes mencionada.

5. CÁLCULO DE LOS FACTORES DE RESPUESTA

5.1. **Preparar una solución que contenga:**

60 g/l de glucosa, 60 g/l de fructosa, 1 g/l de meso-inositol y 1 g/l de sacarosa.

Pesar 5 g de esta solución y proceder según el punto 4. A partir del cromatograma obtenido, calcular los factores de respuesta del meso-inositol y de la sacarosa en relación al xilitol.

Para el scylo-inositol, que no se comercializa y cuyo tiempo de retención está comprendido entre el último pico de las formas anoméricas de la glucosa y del mesro-inositol (véase figura adjunta), utilizar el mismo factor de respuesta que del meso-inositol.

6. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

6.1. El meso-inositol y el scylo-inositol se expresan en miligramos por kilogramo de azúcares totales. La sacarosa se expresa en gramos por kilogramo de mosto.

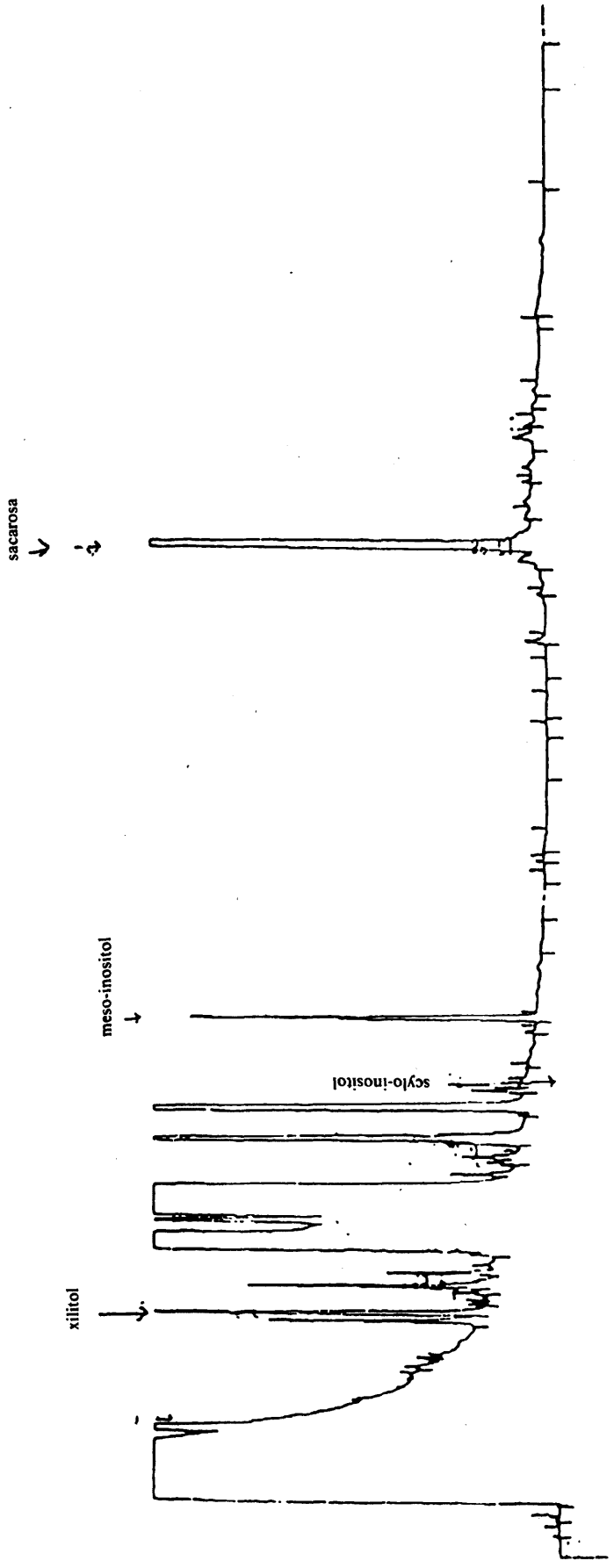


Figura: Cromatograma del meso-inositol, del scylo-inositol y de la sacarosa por cromatografía gaseosa.