

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA

DiSAAA-a

ESERCITAZIONI DI ENOLOGIA

(1) pH

pH (concentrazione idrogenionica). Il pH del vino (2.8 - 3.8) esprime l'acidità reale e misura la forza dell'insieme degli acidi presenti.

Effetti del pH sulla stabilità

pH basso (<3.2)	pH alto (>3.4)
Difficoltà di sviluppo dei batteri lattici	Facilità di sviluppo dei batteri lattici
Maggior efficacia della SO ₂	Maggior rischi di casse metalliche
Chiarificazione difficile	Maggiori precipitazioni tartariche

Determinazione del pH con metodo potenziometrico (piaccametro)

Si usa un piaccametro digitale da banco. Questo strumento risulta formato da: un elettrodo di riferimento a potenziale costante; un elettrodo di misura il cui potenziale è dovuto alla concentrazione degli ioni H⁺ della soluzione in cui è immerso; da un dispositivo, detto potenziometro, che misura la f.e.m. della cella; un display dove si legge direttamente il valore di pH misurato. Attualmente si dispone di elettrodi combinati monotubolari vetro-calomelano che funzionano contemporaneamente da elettrodo di riferimento e da elettrodo di misura. Il potenziometro può sostituire gli indicatori nella esecuzione di titolazioni fornendo risultati più precisi.

Taratura dello strumento: va ripetuta ogni volta che si inizia una serie di misurazioni. Deve essere effettuata usando soluzioni tampone a pH noto, riproducibile e stabile. Impostare la temperatura della soluzione; immergere l'elettrodo nella soluzione tampone a pH=7, attendere qualche istante, ruotare la manopola (o vite) "calibrate" per portare il valore letto sul valore di pH del tampone. Estrarre gli elettrodi risciacquarli ed asciugarli. Ripetere l'operazione utilizzando una soluzione tampone a pH=4. Ora è possibile leggere il valore di pH della soluzione in esame. Il potenziometro, in genere, è uno strumento robusto e non richiede particolari attenzioni; gli elettrodi, al contrario, sono delicati e richiedono la massima attenzione.

Il campione di vino va preventivamente decarbonicato per agitazione ed il valore va letto a stabilità raggiunta e con il campione in moderata agitazione controllando che la temperatura sia il più possibile vicina a quella del tampone.

Materiali. Spruzzetta con acqua deionizzata; carta assorbente; soluzioni tampone a pH 7, pH 4, (pH 3.57); beker (40-100); agitatore; ancorotta magnetica; pipetta graduata da 50 ml; propipetta; pipetta pasteur; tettarella; pompa ad acqua; beuta codata da vuoto.

(2) Acidità totale

Misura la quantità di acidi liberi presenti nel mosto o nel vino (tartarico, malico, citrico, lattico, succinico, acetico, et al. minori). Corrisponde alla somma degli acidi titolabili quando si neutralizza perfettamente il mosto o il vino mediante aggiunta di una soluzione alcalina titolata. Le titolazioni di acidi deboli eseguite con basi forti, come nel caso dei mosti e dei vini, presentano il punto di equivalenza spostato verso valori alcalini ($\text{pH} \cong 9$). In queste condizioni però, si possono avere interferenze da parte di altri composti, in particolare da parte dei polifenoli, che si comportano da acidi debolissimi. Per queste ragioni è stato scelto come punto di equivalenza convenzionale il $\text{pH}=7$. La CO_2 e l' SO_2 , combinata e libera, non sono comprese nell'acidità totale.

Prima della vendemmia:

- il dosaggio dell'acidità totale, associato a quello degli zuccheri, permette di controllare l'evoluzione della maturazione dell'uva.

Sul mosto e sul vino permette di:

- prevedere le possibili correzioni da fare (disacidificazione, acidificazione)
- di favorire o di impedire la fermentazione malolattica

Durante la maturazione del vino l'acidità diminuisce sotto l'effetto di:

- fermentazione malolattica
- precipitazioni tartariche (dipende dal titolo alcolometrico; dalla temperatura)

Materiali e reattivi. Beuta (100-250); agitatore; ancoretta magnetica; pipetta graduata da 10 ml; propipetta; pipetta pasteur; tettarella; buretta graduata da 25 ml con rubinetto (e/o titolatore digitale); pompa ad acqua; beuta codata da vuoto; spruzzetta con acqua deionizzata; carta assorbente; soluzione di idrossido di sodio 0.1 N; blu di bromotimolo 0.4% (indicatore) o piaccametro.

Determinazione dell'acidità totale. Si esegue per titolazione del vino mediante una soluzione alcalina a titolo noto fino a raggiungere pH=7 escludendo dalla titolazione gli acidi carbonico e solforoso. In Italia si esprime in g/l (o in meq/l) di acido tartarico. Prima di iniziare la titolazione è opportuno liberare il mosto o il vino dalla anidride carbonica. Per questo il campione (10 ml) viene tenuto in agitazione sotto vuoto a temperatura ambiente. Si aggiungono alcune gocce dell'indicatore e tenendo in moderata agitazione si titola con NaOH 0.1 N sino a netta colorazione verde-blu annotando i millilitri impiegati. Se il punto di viraggio è stato raggiunto esattamente (pH=7) con una goccia in più di alcali si osserverà comparire una netta colorazione blu. E' possibile seguire la titolazione controllando il pH con un piaccametro e rinunciando così al blu di bromotimolo.

Ac. tot. (g/l) = ml (NaOH N/10) · Peq ac.tart. (75) · ml tot.(1000) / ml vino (10) · 10000
 → (1 ml NaOH N/10 neutralizza 75/10000 g di acido tartarico).

Per una determinazione più attendibile è necessario detrarre dagli ml titolanti gli ml di alcali consumati dall'anidride solforosa libera e combinata.

(3) Acidità volatile

E' costituita essenzialmente dall'insieme di acidi appartenenti alla serie acetica (acido acetico e da piccole quantità di acido propionico, acido butirrico e acido formico) che

si trova nei vini sia allo stato libero che salificato. Sono esclusi dall'acidità volatile la CO_2 e la SO_2 libera e combinata. L'acido acetico si forma in modo del tutto normale durante la fermentazione alcolica (lieviti, batteri lattici), ma si possono avere produzioni anomale:

- deviazioni della fermentazione malolattica (batteri lattici);
- intervento dei batteri acetici in presenza di aria (acescenza).

Oltre gli 1.08 g/l per i vini bianchi e gli 1.20 g/l per i vini rossi, il vino non è più commerciabile e non può essere venduto come vino da tavola.

Determinazione dell'acidità volatile. Gli acidi volatili si separano mediante distillazione in corrente di vapore d'acqua. Si utilizzano 50 ml di vino preventivamente decarbonicato e si versano in un palloncino aggiungendo anche 25 ml di acqua e si mette in funzione il generatore di vapore. Si distilla il vino senza corrente di vapore fino a ridurre il volume di ca. la metà; a questo punto si immette la corrente di vapore e si prosegue (per ca. 45 minuti) la distillazione fino a raccogliere in una beuta 200 ml di distillato. Il distillato si titola con una soluzione di NaOH N/10 utilizzando la fenolftaleina come indicatore. L'acidità volatile si esprime in g/l di acido acetico.

$$\text{Acidità volatile (g/l)} = n \cdot 0.006 \cdot 20 = n \cdot 0.12$$

→ 1 ml di NaOH N/10 neutralizza 0.006 g di acido acetico

Strumenti. (a) Acidimetro Iozzi (Cazenave, Marescalchi, altro). Esso è fondamentalmente costituito da due palloni collegati tra loro: uno contenente l'acqua (decarbonicata) per generare il vapore, ed uno più piccolo dove viene posto il campione di vino da distillare. Il vapore attraversa un refrigerante ad acqua dove si condensa. Il distillato viene raccolto in una beuta opportunamente tarata.

(b) Distillatore Alessandrini Dual Still modello exacta. Partendo da 20 ml di campione, preventivamente privato della CO_2 , è possibile in 8-9 minuti ottenere, grazie ad un sistema di riscaldamento a vapore molto veloce, 250 ml di distillato necessari per la determinazione dell'acidità volatile. L'arresto della distillazione è automatico grazie ad

una fotocellula di livello. Alla soluzione così ottenuta si aggiungono alcune gocce di fenolftaleina (1%) e si titola con NaOH N/10.

Per convenzione l' SO_2 , libera e combinata, non partecipa alla formazione dell'acidità volatile e deve essere quindi valutata a parte e sottratta dal valore ottenuto. In pratica si osserva che con i vini normali e con contenuto di SO_2 compreso tra 30-70 mg/l l'errore è praticamente trascurabile, mentre per tenori di $\text{SO}_2 > 100$ mg/l l'errore è sensibile.

Detrazione dell'Anidride solforosa

Al distillato precedentemente analizzato aggiungere alcune gocce di acido solforico 1:3 e circa 5 ml di salda d'amido (indicatore) e 1 ml di KI al 10%, quest'ultimo per sensibilizzare il viraggio della salda d'amido, in modo da ottenere una soluzione incolore. Per ottenere l' SO_2 libera titolare ora con I_2 (N/100, N/50, N/10) fino a viraggio blu. Aggiungere poi ca. 20 ml di sodio carbonato per alcalinizzare il mezzo (viraggio della soluzione al rosa) e titolare nuovamente con I_2 fino a viraggio blu per determinare l' SO_2 combinata.

Materiali. Acqua distillata; pipetta graduata da 50, 25 e 10 ml; propipetta; beuta (250); burette graduate da 25 ml con rubinetto (e/o titolatore); pipetta pasteur; tettarella; gitatore; ancorotta magnetica; pompa ad acqua; beuta codata da vuoto; spruzzetta con acqua deionizzata; carta assorbente.

Reattivi. Idrato di sodio N/10; fenolftaleina 1% (sol. alcolica); salda d'amido al 1%; I_2 N/100; sodio carbonato; acido solforico conc.; potassio ioduro sol. al 10%.

→ Acidità volatile corretta (g/l) = $A - [(m + n/2)]$ se si è usato I_2 N/10

$A - [1/5 \cdot (m + n/2)]$ se si è usato I_2 N/50

Dove:

A = ml NaOH N/10 utilizzati per neutralizzare il distillato

m = ml I_2 (N/10, N/50) utilizzati per determinare l' SO_2 libera

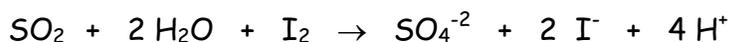
n = ml I_2 (N/10, N/50) utilizzati per determinare l' SO_2 combinata

(4) Anidride solforosa totale

PRINCIPIO DEL METODO

La determinazione della SO_2 viene effettuata mediante titolazione IODOMETRICA DIRETTA. Come indicatore si usa la salda d'amido che con lo iodio libero I_2 si colora in blu perché forma ioduro d'amido.

La reazione provocata con la titolazione è la seguente ossidoriduzione :



La titolazione è condotta a $pH < 1$:

§ Per la SO_2 libera sul vino acidificato

La titolazione avviene a pH basico per liberare l'anidride solforosa dai composti con i quali si è combinata in ambiente acido durante la prima titolazione.

PROCEDIMENTO

- Introdurre nella beuta da 250 ml 5 ml di idrossido di sodio 4 N e quindi 50 ml di vino o di mosto (prelevati dalla bottiglia appena sturata) immergendo la punta della pipetta nella soluzione alcalina per non consentire l'evaporazione dell'anidride solforosa ;
- Tappare e lasciare al buio per 10 - 15 minuti ;
- Aggiungere rapidamente 5 ml di acido solforico 1 : 5 e 2 ml di salda d'amido (5 ml se il vino è rosso) .
- Titolare subito con la soluzione di iodio I_2 0,01 N fino a colorazione blu scuro persistente per 10 - 15 s .

CALCOLI

ANIDRIDE SOLFOROSA	SO_2	TOTALE	mg/l	=	ml IODIO	I_2	0,01 N
x 6,4							

(5) ZUCCHERI RIDUTTORI

Nell'uva il dosaggio degli zuccheri permette di seguire l'evoluzione della maturazione e di determinare la data probabile di vendemmia. Nel mosto è necessario conoscere il contenuto in zuccheri allo scopo di calcolare il titolo alcolometrico del futuro vino. In questi due casi l'analisi viene condotta per via densimetrica o rifrattometrica. Nel vino il dosaggio degli zuccheri riduttori permette di rilevare la fine della fermentazione alcolica. Si considera ultimata quando il contenuto in zuccheri riduttori risulta inferiore a 2 g/l.

Quanto più ricco risulta il tenore zuccherino, maggiore è la densità della soluzione e più alto l'indice di rifrazione. I densimetri (aerometri, mostimetri, picnometri, bilancia idrostatica) si basano sul principio di Archimede e la spinta che il campione in esame riceve è tanto maggiore quanto più esso è denso. Dalla misura della densità del mosto si può risalire alla sua concentrazione zuccherina in via del tutto approssimativa, dato che sul valore della densità influiscono, insieme agli zuccheri, tutte le sostanze presenti nel mosto.

Densimetri propriamente detti o razionali: la scala sullo strumento dà direttamente la densità del liquido in esame rispetto all'acqua distillata alla temperatura di taratura (4, 15, 20° C), (aerometro di Gay-Lussac, di Oechsle, ecc.).

Densimetri a scala empirica: le divisioni dell'asta graduata hanno valori convenzionali e la densità viene dedotta indirettamente con l'impiego di apposite tabelle (aerometro Baumé, mostimetro di Babo, ecc.).

Determinazione per via densimetrica mediante mostimetro di Babo.

Strumenti. Mostimetro di Babo. E' costituito da un'asta graduata, da un cilindro di vetro con la scala del termometro e da un piccolo rigonfiamento contenente il bulbo del termometro e la zavorra. I numeri riportati sull'asta esprimono lo zucchero esistente in 100 parti in peso di mosto. Per ottenere la % in volume bisogna

moltiplicare il valore letto per la densità del mosto. Sulla densità influisce la temperatura, per cui il mostimetro di Babo deve essere tarato ad una temperatura determinata (15, 17.5, 20° C). Se la misura viene eseguita ad una temperatura diversa da quella di taratura è necessario apportare al valore una correzione in più o in meno a seconda che la temperatura del mosto sia rispettivamente maggiore o minore di quella di taratura. Immergere il mostimetro nel mosto e leggere il numero sull'asta in corrispondenza della superficie del liquido.

Note:

Determinazione per via chimica (metodo Fehling). Si basa sull'azione riducente degli zuccheri sul reattivo di Fehling.

La determinazione mediante questo metodo è la più esatta ed attendibile, ma piuttosto laboriosa e procede secondo una serie progressiva di operazioni.

Diluizione. Per ottenere determinazioni attendibili è necessario che la soluzione zuccherina oscilli tra 0.5 e 1%. Quindi si determinerà la quantità di zuccheri attraverso un mostimetro p.es. e con i dati ottenuti opereremo la dovuta diluizione. Es.: mosto con Z%in vol.=14.55 pari ad una densità (20°C) di 1.065; il campione dovrà essere diluito 20 volte ($500/25=20$) e portato a volume con acqua distillata ($14.55/20=0.73\%$).

Neutralizzazione. Il campione di mosto, o di vino, diluito viene neutralizzato impiegando idrato di potassio p.es. E' bene però che il pH del campione risulti appena inferiore a 7, per questo alla neutralizzazione si aggiungono alcune gocce di acido acetico diluito.

Defecazione. Serve ad eliminare le sostanze non zuccherine (tannini, pectine, coloranti). Si utilizzano sali di piombo (acetato basico di piombo). Per determinazioni meno precise si utilizza il carbone attivo decolorante. In questo caso si usa 1 g di carbone per ogni 50 ml di vino e 0.2-0.3 g di carbonato di calcio quale disacidificante, poi si filtra.

Si elimina l'alcol per evaporazione a bagno maria e si porta il campione a volume con acqua distillata.

Titolazione. Il campione zuccherino viene introdotto in una buretta graduata con rubinetto. In una beuta (250-300) si aggiungono 5 ml della soluzione A di Fehling, 5 ml della soluzione B di Fehling e 40 ml di acqua distillata. Si porta all'ebollizione e, durante l'ebollizione, si inizia a far gocciolare nella beuta la soluzione zuccherina sino a colorazione rosso mattone. Si attende 1 minuto e si aggiunge 1 ml di blu di metilene ed il campione diventa bluastro. Completare la titolazione cogliendo il viraggio dal bluastro al rosso mattone netto e vivace. Dal volume totale della soluzione zuccherina impiegata si detraggono 0.1 ml necessari per decolorare il blu di metilene.

$$Z (g \%) = (0.0515 \cdot 100 \cdot D) / A$$

0.0515 = quantità di zucchero necessaria per ridurre la soluzione di Fehling impiegata

D = numero di diluizioni operate

A = quantità di soluzione impiegata per ridurre i 10 ml di soluzione di Fehling

Esiste una tabella (Miconi) dove ai ml di soluzione impiegata e relativa diluizione, corrispondono i g % di zucchero invertito.

Note: utilizzare i dispositivi protettivi individuali (guanti, occhiali, camice).

Antociani:

Determinazione spettrofotometrica degli antociani totali del vino: consente di risalire al contenuto in antociani totali espressi come malvina misurando l'assorbanza nel punto di massimo assorbimento nel visibile del vino ($\lambda = 536-540$ nm), previa diluizione del vino da 20 a 50 volte con etanolo cloridrico (etanolo : acqua distillata : acido cloridrico = 70 : 30 : 1).

$$\text{Antociani totali (mg/l malvina)} = A \cdot 26,6 \cdot d$$

A = assorbanza alla lunghezza d'onda di massimo assorbimento (tra 536 e 540 nm)

d = diluizioni effettuate

Caratteristiche cromatiche dei vini rossi - Per la valutazione del colore dei vini rossi

sono state effettuate delle letture spettrofotometriche, sotto percorso di 1 mm e contro

acqua distillata, a 420 nm (giallo), 520 nm (rosso) e 620 nm (blu). Dai valori di queste

densità ottiche (O.D.) si è proceduto poi al calcolo degli indici di **intensità colorante (I.C.)**

e di **tonalità** (ricchezza in colore giallo in rapporto al contenuto in rosso porpora - fornisce

una prima informazione sul grado di evoluzione della componente colorante) secondo le

formule:

$$\text{I.C.} = \text{O.D. 420 nm} + \text{O.D. 520 nm} + \text{O.D. 620 nm}$$

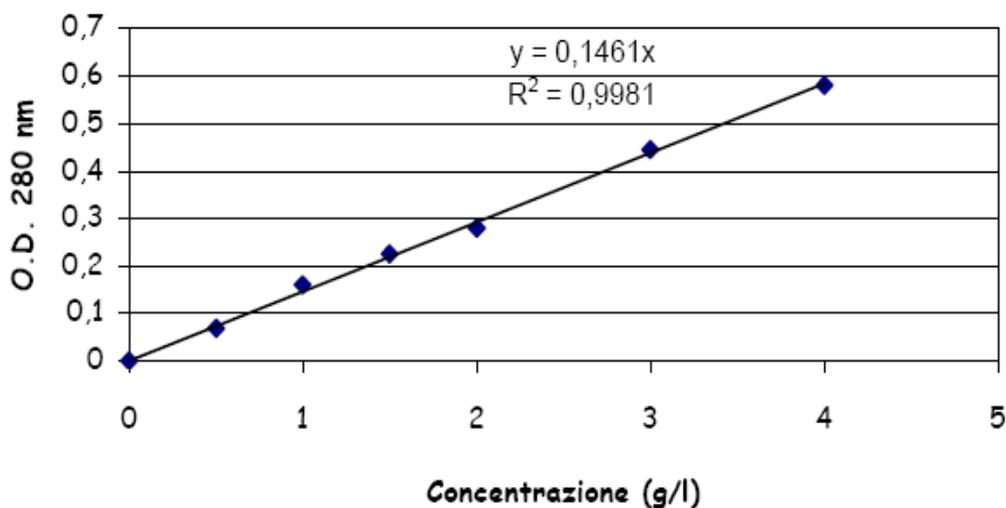
$$\text{Tonalità} = \text{O.D. 420 nm} / \text{O.D. 520 nm}$$

Polifenoli totali

Determinazione spettrofotometrica dei polifenoli totali del vino Questi composti presentano un anello aromatico ed un corrispondente picco di assorbimento a 280nm.

L'analisi consiste nel determinare la densità ottica (O.D.) a 280nm di un vino diluito 100 volte (contro acqua). Il risultato può essere espresso semplicemente come O.D.280, moltiplicando il valore letto per la diluizione utilizzata, come mg/l di acido gallico equivalente (GAE), o come mg/l di catechina idrata, previa definizione di una curva di calibrazione ottenuta utilizzando delle soluzioni a concentrazione nota in acido gallico o in catechina idrata. In quest'ultimo caso, leggendo l'assorbanza a 280nm ed in accordo con la legge di Lambert-Beer ($A = C \cdot l \cdot \epsilon$), l'andamento della funzione che interpola i valori ricavati rappresenta una retta il cui coefficiente angolare corrisponde ad ϵ ed ha un valore di 0,146:

Determinazione della curva di calibrazione utilizzando soluzioni a concentrazione nota di catechina idrata



Determinazione del grado alcolico

Si definisce **grado alcolico effettivo** il numero di mL di alcol etilico contenuti in 100 mL di vino misurati a 20°C (in pratica è la % in volume di alcol etilico).

Si definisce **grado alcolico potenziale** quello ottenibile dalla fermentazione completa degli zuccheri presenti. Si può calcolare moltiplicando i grammi zuccheri contenuti in 100 mL di vino in esame per il fattore 0,6 (resa in alcol etilico).

Si definisce **grado alcolico complessivo** la somma del grado alcolico effettivo più quello potenziale.

La determinazione del **grado alcolico effettivo** viene effettuata secondo i metodi: **densimetrico**, **ebulliometrico**.

Metodo ebulliometrico

Il principio si basa sulla determinazione della temperatura di una miscela idroalcolica che è funzione della quantità di alcol presente.

L'apparecchio basato su questo principio è l'ebullimetro di Malligand. Con questo apparecchio si fanno determinazioni di liquidi aventi un grado alcolico **non** superiore a 20°.

Si effettua l'azzeramento dello strumento, che consiste nel determinare il punto di ebollizione dell'acqua in funzione della pressione ambiente. Si versa, cioè, acqua nella caldaia fino al livello inferiore ed avvitato il coperchio, senza innestare il refrigerante, si riscalda. Quando il livello del mercurio si ferma, si sposta lo zero della scala fino a farlo coincidere con la posizione raggiunta dal menisco del mercurio. Si riempie la caldaia con il vino da analizzare fino al livello superiore, si innesta il refrigerante e si riscalda. Il mercurio salirà nuovamente e la sua escursione sarà tanto minore quanto più elevato è il grado alcolico. La posizione massima raggiunta dal mercurio ci indica direttamente il grado alcolico. La misura è approssimata anche perché l'estratto presente può influenzare la sua determinazione.

