

# NORMA VENEZOLANA

---

# COVENIN 3285:1997

## VINOS Y SUS DERIVADOS. DETERMINACIÓN DE AZÚCARES TOTALES.

PROLOGO

La Comisión Venezolana de Normas Técnicas (COVENIN) creada en 1978, es el organismo encargado de promover y emitir las normas técnicas de Venezuela. La COVENIN es un organismo descentralizado adscrito al Poder Ejecutivo Nacional, dependiente del Ministerio del Poder Popular para el Proceso Comunitario y el Poder Judicial. La COVENIN es el organismo encargado de promover y emitir las normas técnicas de Venezuela. La COVENIN es un organismo descentralizado adscrito al Poder Ejecutivo Nacional, dependiente del Ministerio del Poder Popular para el Proceso Comunitario y el Poder Judicial.

La presente norma es la Norma Venezolana 3285:1997, Productos Alimenticios, Vinos y sus derivados, Determinación de azúcares totales, aprobada por la COVENIN el día 17 de mayo de 1997.

En la elaboración de esta norma participaron los siguientes especialistas:  
Ministerio del Poder Popular para el Proceso Comunitario y el Poder Judicial  
Administración de Alimentos, Bebidas y Alimentos de Origen Vegetal  
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)  
Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IICyT)  
Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IICyT)  
Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IICyT)  
Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IICyT)



## PROLOGO

La Comisión Venezolana de Normas Industriales (**COVENIN**), creada en 1958, es el organismo encargado de programar y coordinar las actividades de Normalización y Calidad en el país. Para llevar a cabo el trabajo de elaboración de normas, la COVENIN constituye Comités y Comisiones Técnicas de Normalización, donde participan organizaciones gubernamentales y no gubernamentales relacionadas con un área específica.

La presente norma fue elaborada bajo los lineamientos del Comité Técnico de Normalización **CT10: Productos Alimenticios** por el Subcomité Técnico **SC12: Productos Diversos** y aprobada por la COVENIN en su reunión No. 146 de fecha **07/05/97**.

En la elaboración de esta norma participaron las siguientes entidades:

Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Instituto Nacional de Higiene, Ministerio de Hacienda, Instituto de la Uva, CAVIN (Cámara Venezolana de la Industria Vitivinícola), CIVEA (Cámara de la Industria Venezolana de Especies Alcohólicas), Bodegas POMAR, Vitivinícola del Zulia, C.A., Productora Enotria, C.A., Industrias Tres Coronas, Marquint S.A., Riunite de Venezuela, United Destiller de Venezuela Pampero, IPECA.



**NORMA VENEZOLANA**  
**VINOS Y SUS DERIVADOS.**  
**DETERMINACIÓN DE AZUCARES TOTALES**

**COVENIN**  
**3285:1997**

## 1 OBJETO

Esta Norma Venezolana contempla el método de ensayo para la determinación cuantitativa de azúcares totales en vinos y sus derivados.

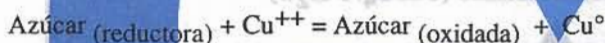
## 2 REFERENCIAS NORMATIVAS

Esta norma es completa

## 3 PRINCIPIO

El método de ensayo descrito en la presente norma se basa en el análisis del contenido de azúcar por el método de Eynon-Layne, el cual es una modificación del método de Soxhlet y éste a su vez una mejora del método establecido por Fehling.

Este método consiste en la reducción del  $\text{Cu}^{++}$  existente en solución a  $\text{Cu}^{\circ}$  y su consecuente cambio de color como indicador del fin de la reacción (de azul a rojo ladrillo). Las reacciones que ocurren podemos expresarlas de la siguiente manera:



El requisito indispensable para que se pueda realizar este ensayo es que los azúcares presentes deben ser reductores, por lo tanto la presencia de algunos polisacáridos y disacáridos como la sacarosa hace necesaria la inversión (hidrólisis) previa en medio ácido si se desea conocer el contenido total de azúcar.

## 4 APARATOS

- 4.1 Erlenmeyer de 250 ml.
- 4.2 Perlas de vidrio.
- 4.3 Planchas de calentamiento.
- 4.4 Pinzas para erlenmeyer
- 4.5 Bureta de 50 ml ( $\pm 0,1$  ml)
- 4.6 Reloj
- 4.7 Pipetas de 5 ml.

## 5 REACTIVOS

- 5.1 Soluciones Fehling A y B.

### 5.1.1 Preparación y estandarización del reactivo Fehling A:

5.1.1.1 Pesar 69,3 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  y disolver en agua destilada, llevando a un volumen de 1 l en un matraz aforado. Filtrar en caso de turbidez para su posterior estandarización. La solución así preparada debe tener una concentración aproximada de 17,36 mg de  $\text{Cu}/\text{ml}$  de solución (0,2774 mol/l).

5.1.1.2 Para la estandarización de cobre ( $\text{Cu}^{++}$ ), proceder de la siguiente manera:

5.1.1.2.1 Tomar 7,2 ml de la solución madre (concentración 0,2774 mol/l) de cobre (medidos con una bureta  $\pm 0,01$  ml) y agregar a un balón aforado de 200 ml, para así tener una solución de 0,01 M aproximadamente.

5.1.1.2.2 Tomar una alícuota de 25 ml de la solución 0,01 M de cobre y colocar en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar gota a gota solución buffer de pH 10 hasta la desaparición del aspecto lechoso que se forma y la aparición de una fuerte coloración azul. Agregar hasta completar 50 ml de solución, si el aspecto lechoso reaparece, agregar gota a gota buffer de pH 10 hasta su desaparición. (Véase nota 1)

**NOTA 1:** No debe añadirse exceso de buffer de pH 10, de lo contrario se descompone el indicador, por ser este susceptible de cambio a concentraciones apreciables de amoníaco.

5.1.1.2.3 Agregar una punta de espátula del indicador (1 % en cloruro de sodio sólido) y titular con EDTA 0,01 M (véase notas 2 y 3), hasta el punto final. El viraje del indicador es de amarillo a púrpura intenso. Calcular la concentración de la solución preparada. Esta determinación debe hacerse por triplicado y dar valores que no difieran en más de 0,05 ml de EDTA 0,01 M agregado.

**NOTA 2:** La preparación del indicador se realiza pesando  $0,1000 \pm 0,001$ g de murexida y agregando 100 g de cloruro de sodio, mezclando bien de tal forma de homogeneizar completamente. El EDTA puede prepararse por pesada directa en balanza analítica de apreciación  $\pm 0,00001$  g y restándole el peso total 0,5 % correspondiente al contenido de humedad. También puede disponerse en ampollas de 0,1000 M y diluirlas a 0,0100 M.

**NOTA 3:** Esta titulación debe hacerse lo más rápido posible, ya que con el tiempo se degenera el indicador.

**5.1.1.2.4** Realizar la determinación de la concentración, considerando las diluciones hechas previamente.

**5.1.1.2.5** Una vez determinada esta concentración, realizar los ajustes necesarios para tener 17,64 g/l de cobre ( $\text{Cu}^{++}$ ) en la solución madre.

Ejemplo de cálculo de la concentración de cobre inicial y ajuste:

Concentración de EDTA 0,01 M

La relación molar entre EDTA y  $\text{Cu}^{++}$  es 1:1

El volumen promedio de EDTA gastado para titular 25 ml de solución de  $\text{Cu}^{++}$  diluida de la solución madre = 28,5 ml.

$$V_{\text{EDTA}} \times M_{\text{EDTA}} = V_{\text{Cu}^{++}} \times M_{\text{Cu}^{++}}$$

Donde:

$V_{\text{EDTA}}$  = volumen gastado de EDTA 0,01 M

$M_{\text{EDTA}}$  = molaridad del patrón empleado.

$V_{\text{Cu}^{++}}$  = volumen de la muestra de cobre.

$$M_{\text{Cu}^{++}} = \frac{28,5 \text{ ml} \times 0,001 \text{ M}}{25,0 \text{ ml}} = 0,0114 \text{ M}$$

Concentración de cobre titulado directamente = 0,0114 M.

Cálculo de la concentración de cobre en la solución madre:

$$V_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) \times M_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) = V_{\text{Cu}^{++}} (\text{diluido}) \times M_{\text{Cu}^{++}} (\text{diluido})$$

$$M_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) = \frac{V_{\text{Cu}^{++}} (\text{diluido}) \times M_{\text{Cu}^{++}} (\text{diluido})}{V_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre})}$$

Para ajustar la concentración de la solución madre se procede de la siguiente manera:

$$M_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) = \frac{200 \text{ ml} \times 0,0114 \text{ M}}{7,2 \text{ ml}} = 0,3167 \text{ M}$$

$$M_{\text{Cu}^{++}} (\text{deseado}) \times V_{\text{Cu}^{++}} (\text{deseado}) = M_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) \times V_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre})$$

Donde:

$$M_{\text{Cu}^{++}} (\text{deseado}) = 0,2774 \text{ mol/l}$$

$$V_{\text{Cu}^{++}} (\text{deseado}) = 1,0 \text{ litro}$$

$$M_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) = 0,3167$$

$$V_{\text{Cu}^{++}} (\text{madre}) = \frac{1,01 \times 0,2774 \text{ mol/l}}{(0,3167 \text{ mol/l})} = 0,8760 \text{ l}$$

Es decir que hay que tomar 876 ml y aforar 1 litro de solución para obtener la solución de reactivo de Fehling a utilizar en el análisis.

**5.1.2 Preparación del reactivo de Fehling B:**

Preparar a partir de la solución e 346 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado y 100 g de hidróxido de sodio en agua, enfriar y aforar en una matraz de 1 litro. Dejar en reposo 2 días, filtrar y guardar en botella bien tapada.

**5.2 Solución de azul de metileno 1 %:**

Disolver 10 g de azul de metileno en 1 litro de agua destilada.

**5.3 Solución patrón de azúcar:**

El reactivo de Fehling puede adquirirse en el comercio ya preparado para su uso. Lo único que requiere es la mezcla de 5 ml de la solución (Fehling A) y 5 ml de la solución (Fehling B), segundos antes de la determinación. No obstante, el reactivo de Fehling A puede ser preparado a partir de sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ )

**5.3.1** Pesar aproximadamente 17 g de glucosa para análisis en vidrio de reloj y colocar en una estufa a 75-80 °C por 2 horas.

**5.3.2** Dejar enfriar en un desecador por 2 horas y pesar con apreciación de  $\pm 0,00001$  g.

**5.3.3** Recalentar por 15 minutos y dejar enfriar en un desecador por el mismo lapso de tiempo y volver pesar con apreciación de 0,00001 g.

**5.3.4** Repetir el paso 3 hasta que no haya variación mayor de  $\pm 0,00050$  g entre pesadas consecutivas.

**5.3.5** Pesar exactamente 10 g de glucosa seca con apreciación de  $\pm 0,0001$  g y transferir a un matraz aforado de 1 litro. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y diluir con agua, dejar por media hora y aforar. La concentración de este patrón es de 10 g/l de azúcar invertida.

**5.3.6** Estandarización de la solución del reactivo de Fehling:

**5.3.6.1** Tomar una pipeta de 5 ml de solución de Fehling A y 5 ml de solución de Fehling B en un erlenmeyer de 250 ml.

5.3.6.2 Agregar desde una bureta de apreciación  $\pm 0,1$ ; 14 ml de solución estándar de azúcar diluida 100/20 (20 ml de solución patrón, llevados a 100 ml de volumen final) y colocar perlitas de vidrias.

5.3.6.3 Calentar a ebullición por 2 minutos cuidando de que los vapores no hagan contacto con el extremo de la bureta.

5.3.6.4 Agregar 4 - 5 gotas de solución 1 % de azul de metileno y continuar la titulación poco a poco de forma que no se detenga la ebullición (véase nota 4) y hasta la desaparición del color azul del indicador (véase nota 5)

**NOTA 4:** La ebullición no debe cesar en ningún momento, ya que se podría reoxidar tanto el  $\text{Cu}^+$  existente en solución, así como el indicador dando como resultado la persistencia del color azul y por consiguiente un error en la titulación.

**NOTA 5:** El viraje del indicador de azul de metileno es de azul a incoloro. Esto sucede cuando el cobre disponible en solución esta completamente reducido (está bajo forma de  $\text{Cu}^+$ ) y el volumen adicional añadido es consumido en la reducción de azul de metileno.

5.3.6.5 Repetir la titulación como se describió, pero añadiendo 1 ml menos de lo necesario para el punto final, en lugar de los 14 ml.

5.3.6.6 Calentar a ebullición por dos minutos y agregar 4 - 5 gotas de solución 1 % de azul de metileno.

5.3.6.7 Con el volumen obtenido se calcula la cantidad de azúcar conteniendo en el patrón por la relación:

$$A = \frac{F \times d}{T}$$

Donde.

A = Concentración de azúcar (g/l de muestra)

F = Factor que se consigue en el anexo (véase Nota 6).

d = Factor de dilución (100:20 en este caso)

T = volumen en mililitros añadido de patrón o título.

**NOTA 6:** El factor F es un factor tabulado determinado por Lane y Eynon, el cual representa el peso del azúcar invertido requerido para reducir completamente una cantidad dada de cobre (en este caso son miligramos de azúcar invertida necesaria para reducir 10 ml de la solución de reactivo de Fehling).

## 6 PROCEDIMIENTO

6.1 Realizar la dilución de la muestra de acuerdo con lo indicado en la tabla 1

**Tabla 1**  
**Determinación directa de azúcares**

| Muestra (g / l azúcar)* | Alicuota    |
|-------------------------|-------------|
| 20 - 35                 | 15 ml / 200 |
| 55 - 85                 | 5 ml / 200  |
| 86 - 115                | 4 ml / 200  |

\* Cantidad de azúcar que se estima tiene la muestra.

6.2 Tomar la cantidad necesaria de muestra que indica la Tabla en un balón de 200 ml.

6.3 Agregar 50 ml aproximadamente de agua desmineralizada o destilada.

6.4 Añadir 10 ml de ácido clorhídrico 7 N.

6.5 Poner un termómetro dentro del balón (200 ml) y mantener en baño de maría entre 67 - 70 °C durante 5 minutos.

6.6 Agitar cada minuto aproximadamente (para que se complete la inversión del azúcar).

6.7 Sacar el balón del baño de maría, enfriar bajo chorro de agua y dejar reposar por media hora a temperatura ambiente.

6.8 Añadir 3 gotas de fenolftaleína y titular con hidróxido de sodio 7 N hasta viraje del indicador.

6.9 Añadir lentamente ácido clorhídrico 7N, gota a gota hasta desaparición del color rosado y dejar enfriar a temperatura ambiente.

6.10 Enrasar con agua desmineralizada

6.11 Transferir con pipetas volumétricas 5 ml de solución Fehling A y 5 ml de solución de Fehling B a una fiola de 250 ml.

6.12 Agregar 15 ml de muestra previamente tratada a la fiola de 250 ml.

6.13 Calentar a ebullición por dos minutos en una plancha de calentamiento, agregar 3 - 4 gotas de azul de metileno y titular gota a gota hasta cambio de color.

6.14 Repetir de nuevo la titulación agregando un ml menos que el necesario para alcanzar el punto final de la titulación gota a gota hasta el punto final (color amarillo).

6.15 Anotar el volumen gastado en la titulación (T).

6.16 Calcular el contenido de azúcar, utilizando la relación en 5.3.6.7

## 7 EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

El resultado se expresa como gramos de azúcar / litro de muestra.

| Muestra (g \ l azúcar)* | Alícuota    |
|-------------------------|-------------|
| 20 - 32                 | 12 ml \ 200 |
| 22 - 82                 | 2 ml \ 200  |
| 88 - 112                | 4 ml \ 200  |

El informe debe contener lo siguiente:

### 8.1 Fecha de realización del ensayo

### 8.2 Identificación completa de la muestra

### 8.3 Resultado del análisis realizado

### 8.4 Número y título de la Norma Venezolana COVENIN consultada

### 8.5 Nombre del analista

### 8.6 Observaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

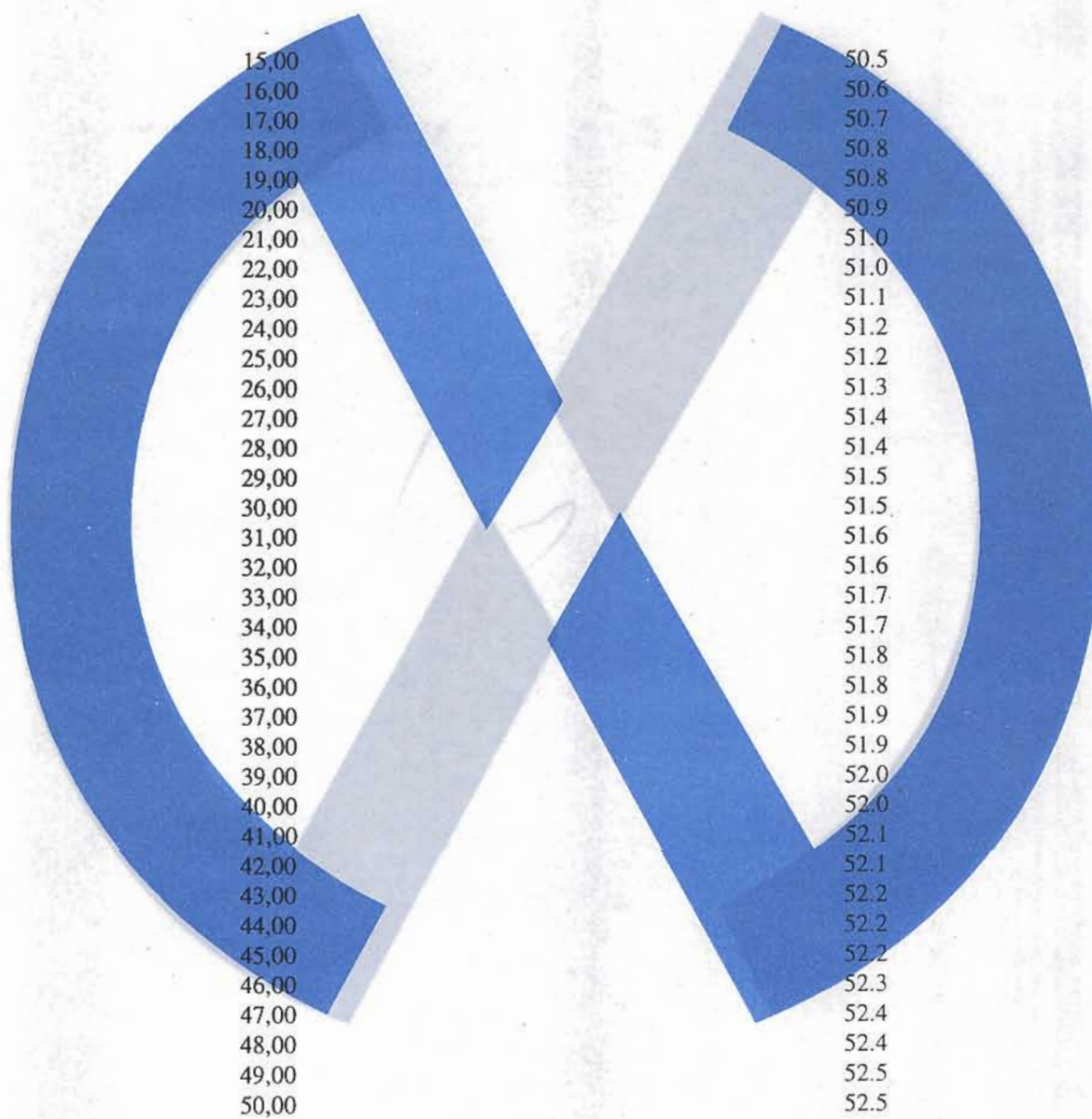
### Norma Regional Europe

$$A = \frac{F \times d}{T}$$

## PROCEDIMIENTO

## ANEXO A

Tabla de factores para determinación de azúcares por el método de Eynon- Lane ( Válido desde 22/08/69)



|       |      |
|-------|------|
| 15,00 | 50.5 |
| 16,00 | 50.6 |
| 17,00 | 50.7 |
| 18,00 | 50.8 |
| 19,00 | 50.8 |
| 20,00 | 50.9 |
| 21,00 | 51.0 |
| 22,00 | 51.0 |
| 23,00 | 51.1 |
| 24,00 | 51.2 |
| 25,00 | 51.2 |
| 26,00 | 51.3 |
| 27,00 | 51.4 |
| 28,00 | 51.4 |
| 29,00 | 51.5 |
| 30,00 | 51.5 |
| 31,00 | 51.6 |
| 32,00 | 51.6 |
| 33,00 | 51.7 |
| 34,00 | 51.7 |
| 35,00 | 51.8 |
| 36,00 | 51.8 |
| 37,00 | 51.9 |
| 38,00 | 51.9 |
| 39,00 | 52.0 |
| 40,00 | 52.0 |
| 41,00 | 52.1 |
| 42,00 | 52.1 |
| 43,00 | 52.2 |
| 44,00 | 52.2 |
| 45,00 | 52.2 |
| 46,00 | 52.3 |
| 47,00 | 52.4 |
| 48,00 | 52.4 |
| 49,00 | 52.5 |
| 50,00 | 52.5 |

**COVENIN**  
**3285:1997**

**CATEGORÍA**  
**B**

---

**COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES**  
**Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12**  
**Telf. 575.41.11 Fax: 574.13.12**  
**CARACAS**

**publicación de:**



**ICS: 67.160.10**

**RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS**

Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

**ISBN: 980-06-1850-3**

---

**Descriptores:** Vino y sus derivados, determinación de azúcares totales.