

## ÍNDICES DE MADURACIÓN 2025

### CONSEJO REGULADOR DE LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN RIBERA DEL DUERO

#### MUESTREO

La forma de realizar el muestreo será mediante una toma de muestras aleatoria en ZIG – ZAG en las líneas marcadas en las parcelas seleccionadas.

Es importante tener en consideración que la parcela será dividida en zonas adecuadas al tipo de terreno, topografía, tamaño y orientación que presente la misma.

En cuanto a la toma de muestras, se realizará tomando bayas de los diferentes racimos de la zona marcada, de forma que de un racimo se tomen bayas de su parte inferior, de su parte media y de su parte superior, (de cada zona en función de lo que aproximadamente ocupe ésta en el racimo), y tanto de la zona expuesta al sol de los racimos, como de la zona sombreada.

El resultado de la toma de muestras, que será representativa en función del tamaño de la parcela, se recogerá en bolsas perfectamente identificadas, que se conservarán en neveras portátiles a baja temperatura hasta su análisis. En cuanto a las fechas de realización de los muestreos, se realizarán a partir de la primera semana de septiembre.

#### ANÁLISIS A REALIZAR

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS
Alcohol probable	Refractometría	Escala Beaumè
pH	Electrodo de pH	Escala de pH
Acidez Total	Valoración ácido-base	(g/l) ácido tartárico
Ácido málico	Método enzimático	(g/l) ácido málico
Antocianos totales	Método Saint-Cricq	(mg/l) antocianos
Antocianos fácil. extraíbles	Método Saint-Cricq	(mg/l) antocianos
Índice de Color, (IC)	Espectrofotometría	Abs. a 420 + 520 + 620 nm
Peso de 100 bayas	Balanza	Gramos/100 bayas
Índice de Polifenoles Totales, (IPT)	Método enzimático	(mg/l) ácido gálico

## TRATAMIENTOS PREVIOS DE LAS MUESTRAS

Las muestras seguirán dos tratamientos diferentes en función de las pruebas a realizar sobre ellas, así se realizará un tratamiento para los análisis de los antocianos y otro para el resto.

### Análisis del Peso de 100 bayas

El peso de 100 bayas se realizará directamente mediante pesada de 100 bayas aleatoriamente tomadas de entre la muestra, directamente en balanza electrónica. La expresión de resultados será en gramos por cada 100 bayas.

## TRATAMIENTO I: ANÁLISIS DE ANTOCIANOS

Inicialmente se triturarán las uvas (200 aproximadamente) con una picadora (en nuestro caso empleamos el modelo “La picadora” de la marca “Moulinex”), durante dos segundos. Posteriormente escurrimos por gravedad sin presionar, el resultado con un colador metálico (durante 10 minutos), reservando el líquido para el resto de los análisis.

Tomamos 45 gramos de dicha pasta y los llevamos a un vaso de precipitados, operación que realizamos por duplicado para cada una de las muestras. Con la muestra de la pasta escurrida en los dos vasos, procedemos a añadir en uno de ellos 45 ml de solución pH = 1 compuesta por HCl (100 ml de HCl al 37 %) y agua (900 ml), y en el otro vaso seguimos igual procedimiento, pero con una solución de pH = 3,2 (esta se realiza con 4 g/l de ácido tartárico en 1.000 ml de agua, y se corrige posteriormente el pH con NaOH hasta alcanzar pH = 3,2).

Ambos vasos se dejan macerar durante 4 horas y finalmente se filtra su contenido por lana de vidrio, o bien se puede realizar una doble centrifugación (dos veces a 5.000 r.p.m. durante 5 minutos), por último, se realizará su análisis por el método que se verá posteriormente.

## TRATAMIENTO II: RESTO DE ANÁLISIS A REALIZAR

Para los demás análisis diferentes de los antocianos, se utilizará el mosto proveniente de colar la papilla resultante de molturar la uva en la picadora.

### Análisis del Grado Alcohólico Probable

Una muestra procedente del tratamiento II, se someterá a análisis directo en refractómetro digital, la expresión de los resultados se realizará en grados Beaumè.

### Análisis del pH

Con una muestra de mosto se realizará la medida del pH mediante un electrodo específico (pHmetro). La lectura directa dará el resultado.

### Análisis de la Acidez Total

La acidez total se analizará mediante valoración ácido-base del mosto centrifugado procedente del tratamiento II, empleando como valorador NaOH 0,1 N. En nuestro caso el viraje se observará mediante electrodo de pH. La expresión de los resultados se hará en gramos por litro de ácido tartárico.

### Análisis del Ácido Málico

El análisis del ácido málico, con mosto procedente del tratamiento II, previamente centrifugado (dos veces a 5.000 r.p.m. durante 5 minutos), o filtrado con lana de vidrio, se realizará mediante aplicación de kit enzimático adecuado a este análisis, midiendo la concentración de L-malato mediante la relación entre la misma y la de NADH formado en la reacción, gracias a su absorción a 340 nm. La expresión de los resultados se hará en gramos por litro de ácido málico.

### Índice Polifenoles Totales (IPT)

Para este análisis, se tomará mosto del tratamiento II, una vez centrifugado o filtrado con lana de vidrio. Los Polifenoles son un grupo de sustancias químicas que se encuentran en las plantas y en los frutos y caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Para la determinación de los Polifenoles Totales se usa el método de Folin-Ciocalteu. El método se basa en la oxidación entre los grupos fenólicos y el reactivo de Folin-Ciocalteu. La intensidad de color azul es proporcional al contenido de Polifenoles. La expresión de los resultados se hará en valor de IPT.

### Análisis del Índice de Color

Para este análisis, se tomará de nuevo mosto del tratamiento II, una vez centrifugado o filtrado con lana de vidrio, se someterá a medida directa de su absorbancia a 420, 520 y 620 nm. El resultado que se ofrecerá será la suma de las tres absorbancias:

$$I.C. = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

### Análisis de los Antocianos

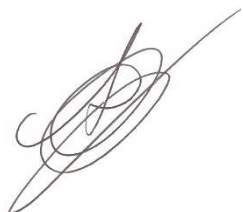
Las muestras procedentes del tratamiento I, se analizarán de igual forma, pero los resultados de antocianos totales se referirán a la muestra a la que se añadió la solución a pH = 1, mientras que para los antocianos fácilmente extraíbles se tomará la muestra a la que se adicionó la solución de pH = 3,2. En ambos casos se deberá centrifugar las muestras (dos veces a 5.000 r.p.m. durante 5 minutos), o filtrarlas con lana de vidrio.

Una vez tengamos las muestras centrifugadas, se disolverá una pequeña cantidad de muestra en una disolución ácida de etanol y agua (que se detalla más adelante), en una proporción de 1/50. La muestra se homogenizará perfectamente y se medirá la absorbancia a 520 nm, frente a un blanco (solución ácida de etanol y agua sin muestra).

Para la preparación de la solución ácida de etanol y agua, se añaden 13,5 ml de HCl al 37% a un matraz aforado de 250 ml, se enrasa con agua destilada y se homogeniza perfectamente. Se vierte el contenido del matraz a un vaso de precipitados o a otro matraz aforado de 300 ml de capacidad, y se añaden 12,5 ml de alcohol etílico (96%), por último, se homogeniza perfectamente la disolución.

La expresión de los resultados se hará en miligramos de antocianos por litro.

$$\text{Antocianos (mg/l)} = (\text{Absorbancia}_{\text{muestra}} - \text{Absorbancia}_{\text{blanco}}) \times 870$$

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Alberto Tobes Velasco", is positioned above the printed name.