



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



**ROBSON MOTA DE JESUS**

**Desenvolvimento de método analítico para a  
determinação de cádmio em vinho e estudo  
preliminar de especiação de cádmio, ferro,  
manganês, zinco e cobre em vinho**

Salvador-BA  
2009

**ROBSON MOTA DE JESUS**

**Desenvolvimento de método analítico para a  
determinação de cádmio em vinho e estudo  
preliminar de especiação de cádmio, ferro,  
manganês, zinco e cobre em vinho**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Química Analítica.

Orientador: **Dr. Sérgio Luis C. Ferreira**

Co-orientador: **Dr. Geraldo Domingues Matos**

Salvador-BA  
2009

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Jesus, Robson Mota de  
Desenvolvimento de método analítico para a determinação de cádmio em vinho e estudo preliminar de especiação de cádmio, ferro, manganês, zinco e cobre em vinho. / Robson Mota de Jesus. - 2011.  
104 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira.  
Co-Orientador: Prof. Dr. Geraldo Domingues Matos  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2009.

1. Vinho e vinificação - Análise. 2. Vinho e vinificação - Metais. 3. Vinho e vinificação - Extração (Química). 4. Análise espectral. I. Ferreira, Sérgio Luis Costa. II. Matos, Geraldo Domingues. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. IV. Título.


CDD – 641.22  
CDU – 543.62:663.2

TERMO DE APROVAÇÃO

**ROBSON MOTA DE JESUS**

Desenvolvimento de método analítico para a determinação de cádmio em vinho e estudo preliminar de especiação de cádmio, ferro, manganês, zinco e cobre em vinho

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Geraldo Domingues Matos - Co-Orientador   
Doutorado em Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)  
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dra. Márcia Messias Silva   
Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira – Orientador   
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, (PUC-RJ)  
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Federal da Bahia

Salvador, 27 de março de 2009.

*A*

*minha querida mãe Maria Mota  
de Jesus, por fazer parte da minha  
história e da minha vida, aos meus  
irmãos que são muitos e queridos.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter permitido alcançar mais um objetivo na minha vida.

Ao Professor Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira, por todo conhecimento transmitido, pela valiosa orientação, confiança, compreensão, paciência e amizade.

Ao meu co-orientador Dr. Geraldo Domingues Matos, pela grandiosa contribuição para a realização deste trabalho.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação pelos conhecimentos transmitidos durante todo o curso.

A professora Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale, pelas valiosas contribuições.

Ao professor Dr. Walter Ney.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram e incentivaram em todos os momentos, em especial a minha mãe Maria Mota de Jesus, meus irmãos e meus sobrinhos João Pedro e Maria Clara.

Ao meu irmão Raildo Mota, que sempre me incentivou a seguir seus passos.

Ao Prof. Dr. Rennan Geovanny, pela colaboração nas correções finais deste trabalho.

Ao meu grande amigo Reginaldo Senna.

Aos amigos do laboratório 408: João, Cleber, Lindomar, Daniel, Samuel, Erik, Giovani, Geovane, Juracy, Pedro, Profa. Ana Pinto, Profa. Neyla, Prof. Fábio Alan, Prof. Anderson, Fernanda, Laiana, Márcio, Edmagnó, Vitor, Fabrício, Valdinei, Hadla, Adriana, Dannuza, Daniela, pelo apoio e pelos momentos de descontração.

Aos amigos do laboratório 409: Elane, Daniele, Andréa, Thiago, Mauro e Gabriel.

Aos funcionários do Instituto de Química, especialmente à Alice, Cristovão e Paulo que estão sempre dispostas a nos ajudar quando são solicitados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao macro projeto MCT/CNPq/FAPESB No. 003/2003 - PRONEX; "NÚCLEO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA DA BAHIA, intitulado "Química para a segurança e agregação de valor a alimentos", pelo suporte financeiro para o desenvolvimento desta dissertação.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização desse trabalho.

## RESUMO

O vinho é um produto da fermentação de açúcares naturais presente em suco de uva. É uma bebida amplamente consumida em muitas partes do mundo por milhares de anos, com elevado valor comercial e importância social. Esta dissertação apresenta o desenvolvimento de dois métodos para determinação de metais em vinho. O primeiro descreve a otimização e validação de um método para determinação direta de cádmio em amostras de vinho por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS). A otimização foi realizada empregando um planejamento fatorial completo de dois níveis, incluindo os fatores: tempo (10 s) e temperatura de pirólise (600 °C), temperatura de atomização (1300 °C) e massa de modificador (15 µg). Sob as condições otimizadas, foi encontrada uma massa característica de 0,7 pg, limite de detecção e quantificação de 0,030 e 0,100 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente, para um volume de amostra de 20 µL. A precisão foi de 0,30, 0,37 e 0,49% (RSD) para amostras de vinho com concentrações de cádmio 1,286, 0,266 e 0,356 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A exatidão do método de determinação direta empregando ET AAS foi avaliada por comparação usando um método de digestão ácida e determinação também por ET AAS para cinco amostras de vinho. O método foi aplicado para determinação de cádmio em 30 amostras de vinhos Brasileiros. A concentração de cádmio variou de 0,146 a 1,563 µg L<sup>-1</sup>, cujos valores estão abaixo do nível máximo permitido pela Organização Internacional de vinha e vinho (OIV) e pela legislação Brasileira, 10 µg L<sup>-1</sup>. No segundo método foram avaliados processos de extração em fase sólida de Cu, Fe, Zn, e Mn em amostras de vinhos, utilizando carvão ativo e resina de troca iônica como adsorventes. As quantificações foram realizadas por FAAS. Com base nos resultados pode-se observar que o carvão ativo demonstrou ser bastante eficiente na extração de Cu, Fe, Zn e Mn em vinho, e que o Cu, Fe e Zn estão na forma de organocomplexos. Já, o Mn presente nas soluções residuais da extração apresentou-se predominantemente na forma iônica. A resina de troca catiônica apresentou uma alta capacidade de sorção para todos os metais avaliados. Entretanto, a resina aniônica apresentou certa afinidade de sorção pelos metais Cu, Fe e Zn. Os limites de detecção para Cu, Fe, Zn e Mn foram 0,02, 0,04, 0,02 e 0,02 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os limites de quantificação para Cu, Fe, Zn e Mn foram 0,08, 0,13, 0,06 e 0,06 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A precisão foi expressa como desvio padrão relativo (%RSD), variando de 1,78 a 6,78%, para amostra de vinho com concentrações de 0,13, 3,33, 0,36 e 1,52 para Cu, Fe, Zn e Mn, respectivamente. Esta avaliação foi feita para seis amostras de vinhos brasileiros.

**Palavras-chave:** ET AAS, FAAS, Metais, Vinho Brasileiro, Extração em fase sólida.

## ABSTRACT

Wine, a product of yeast fermentation of natural sugars present in grape juice, is a widely consumed beverage in many parts of the world for thousands of years with very obvious commercial value and social importance. This dissertation presents the development of two methods for determination of the metals in wine. The first method describes the optimization and validation of a direct method employing electrothermal atomic absorption spectrometry (ET AAS) for the determination of cadmium in wine. The optimization step was carried out using a two-level full factorial design, involving the followings factors: pyrolysis time (10 s) and temperature (600 °C), atomization temperature (1300 °C) and modifier mass (15 µg). Under the optimized conditions, it was obtained a characteristic mass of 0.7 pg, and limits of detection and quantification of 0.030 and 0.100 µg L<sup>-1</sup>, respectively, using a sample volume of 20 µL. The precision expressed as relative standard deviation (RSD %) was 0.30, 0.37 and 0.49% for wines with cadmium concentrations of 1.286, 0.266 and 0.356 µg L<sup>-1</sup>, respectively. The accuracy of the direct determination methodology by ET AAS was assessed by comparison with a sample acid digestion methodology by ET AAS using five wine samples. The proposed method was applied for the determination of cadmium in 30 Brazilian wine samples. The cadmium content varied from 0.146 to 1.563 µg L<sup>-1</sup>, values lower than the permissible maximum level stipulated by the International Organization of Vine and Wine (OIV) and also by the Brazilian legislation, which is 10 µg L<sup>-1</sup>. The second method describes the process of extraction of Cu, Fe, Zn and Mn in wine, employing solid phase extraction (activated carbon and ion exchange resin). The concentrations were measured employing FAAS. Based on the results can be observed that the activated carbon demonstrated to be efficient in the extraction of Cu, Fe, Zn and Mn in wine, wich the Cu, Fe and Zn are as organo-complexes. The Mn present in the residual solutions of the extraction are predominantly in the ionic form. The cationic exchange resin presented a hight sorption capacity for all the metals studied. However, the anionic exchange resin presented affinity by the metals Cu, Fe and Zn. The detection limits for Cu, Fe, Zn and Mn were 0.02, 0.04, 0.02 and 0.02 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The quantification limits for Cu, Fe, Zn and Mn were 0.08, 0.13, 0.06 and 0.06 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The precision expressed as relative standard deviation (RSD%), varying from 1.78 to 6.78% for wine sample with concentrations of 0.13, 3.33, 0.36 and 1.52 for Cu, Fe, Zn and Mn, respectively. This evaluation was made for six Brazilian wine samples.

**Keywords:** ET AAS, FAAS, Metals, Brazilian wine, Solid Phase Extraction.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Abs</b>	Absôrvancia
<b>A<sub>int</sub></b>	Absôrvancia integrada
<b>Amberlite</b>	Marca registrada pela empresa Rohm & Raas Co. para resina
<b>XAD</b>	polimérica.
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>Br-PADAP</b>	2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino)-fenol
<b>BTAC</b>	2-(2-Benzotioazolilazo)-p-Cresol
<b>CV</b>	Coeficiente de variação
<b>DOWEX</b>	Marca registra pela empresa Dow Chemical Co. para resina catiônica: o poliestireno-divinilbenzeno sulfonada
<b>Embrapa</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>ET AAS</b>	Espectrometria de Absorção com Atomização Eletrotérmica
<b>FAAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama
<b>HCL</b>	Lâmpada de cátodo oco
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IBRAVIN</b>	Instituto Brasileiro do Vinho
<b>IGP</b>	Plataforma de grafite integrada
<b>IUPAC</b>	International Union of Pure and Applied Chemistry
<b>LOD</b>	Limite de detecção
<b>LOQ</b>	Limite de quantificação
<b>MDIC</b>	Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
<b>MERCOSUL</b>	Mercado Comum do Sul
<b>m<sub>o</sub></b>	Massa característica
<b>OIV</b>	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
<b>PIN</b>	Plataforma integrada
<b>RSD</b>	Desvio padrão relativo
<b>SPE</b>	Extração em fase sólida
<b>STPF</b>	Stabilized Temperature Platform Furnace
<b>THGA</b>	Tubo atomizador de grafite com aquecimento transversal
<b>UVIBRA</b>	União Brasileira de Vitivinicultura

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais regiões produtoras de vinho no Brasil .....	18
Figura 2 - Mapa das regiões de pequenos pólos vinícolas do Brasil .....	24
Figura 3 - Diagrama de Pareto para os fatores (1) temperatura de pirólise; (2) tempo de pirólise; (3) temperatura de atomização; (4) massa do modificador, obtidos com um volume fixo 20 $\mu$ L de amostra de vinho para determinação de Cd .....	57
Figura 4 - Curvas de temperaturas para 20 $\mu$ L de vinho Cabernet Sauvignon: Pirólise ( $T_a = 1200\text{ }^\circ\text{C}$ ) e Atomização (600 $^\circ\text{C}$ ), usando 15 $\mu$ g do modificador químico Pd e tempo de atomização 10 s .....	59
Figura 5 - Histograma do teor de cádmio em amostras de vinho brasileiro .....	68
Figura 6 - Resina de troca iônica .....	77
Figura 7 - Percentuais de sorção dos metais empregando carvão ativo como fase sólida .....	88
Figura 8 - Percentuais de sorção dos metais empregando resina catiônica como fase sólida .....	90
Figura 9 - Percentuais de sorção dos metais empregando resina aniônica como fase sólida .....	91

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Produção de Uvas no Brasil, em toneladas, no período de 2005-2007.....	19
Tabela 2 -	Produção de vinhos do Rio Grande do Sul, em litros, no período de 2004-2007.....	20
Tabela 3 -	Exportação brasileira de vinhos, em litros, no período de 2003-2007.....	21
Tabela 4 -	Participação das importações de vinhos comercializados no Brasil, em 1000 litros, no período de 2003-2007.....	22
Tabela 5 -	Importação brasileira de vinhos no período de 2003-2007.....	23
Tabela 6 -	Limites máximos de metais em vinho, em mg L <sup>-1</sup> , estabelecidos pela OIV, Legislação Brasileira e Mercosul .....	30
Tabela 7 -	Requisitos instrumentais e operacionais necessários para atender as condições STPF, e os resultados obtidos .....	38
Tabela 8 -	Programa de temperatura para determinação de Cd usando tubo de grafite com aquecimento transversal e plataforma integrada (PIN) ....	50
Tabela 9 -	Valores reais (entre parênteses) e codificados das variáveis experimentais utilizadas no experimento .....	54
Tabela 10 -	Matriz do planejamento fatorial em dois níveis (2 <sup>4</sup> ) .....	56
Tabela 11 -	Comparação dos resultados obtidos para determinação de Cd por ET AAS, através de determinação direta e por digestão ácida .....	64
Tabela 12 -	Figuras de mérito do método para determinação direta de Cd em amostras de vinho por ET AAS .....	66

Tabela 13 -	Descrição das amostras e as concentrações de Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) encontradas em amostras de vinho brasileiro, obtidas através do método de determinação direta. Utilizou-se 15 $\mu\text{g}$ de modificador químico Pd, temperatura de pirólise de 600 $^{\circ}\text{C}$ , temperatura de atomização de 1300 $^{\circ}\text{C}$ .....	67
Tabela 14	Concentrações Cd presentes nas soluções residuais e o percentual de Cd após a extração empregando carvão ativo e quantificação por ET AAS .....	70
Tabela 15 -	Parâmetros operacionais do FAAS .....	79
Tabela 16 -	Condições experimentais otimizadas .....	84
Tabela 17 -	Concentrações totais de Cu, Fe, Zn, e Mn, determinadas após digestão ácida empregando FAAS .....	85
Tabela 18 -	Figuras de mérito do método para determinação Cu, Fe, Zn e Mn em amostras de vinho empregando FAAS .....	86
Tabela 19 -	Concentrações Cu, Fe, Zn e Mn, presentes nas soluções residuais após a extração empregando carvão ativo e quantificação por FAAS.....	87
Tabela 20 -	Concentrações Cu, Fe, Zn e Mn, presentes nas soluções residuais após a extração empregando a resina catiônica e quantificação por FAAS .....	89
Tabela 21 -	Concentrações Cu, Fe, Zn e Mn, presentes nas soluções residuais após a extração empregando a resina catiônica e quantificação por FAAS .....	91

# SUMÁRIO

## CAPITULO I

1 <b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
1.1 A VITIVINICULTURA NO BRASIL .....	15
1.2 REGIÕES PRODUTORAS DE VINHO NO BRASIL .....	18
1.3 FONTES DE METAIS EM VINHO .....	25
1.4 COMPOSIÇÃO MINERAL DO VINHO .....	27
1.5 NÍVEIS DE METAIS EM VINHO .....	29
1.6 ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO .....	30

## CAPITULO II

### Otimização multivariada e validação de um método analítico para determinação de cádmio em vinhos empregando ET AAS

1 <b>INTRODUÇÃO</b> .....	35
1.1 CÁDMIO E SUA TOXICIDADE .....	36
1.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA (ET AAS) .....	37
1.2.1 <b>Absorbância integrada</b> .....	39
1.2.2 <b>Modificadores químicos</b> .....	40
1.2.3 <b>Corretor da radiação de fundo – Corretor Zeeman</b> .....	43
1.3 PLANEJAMENTO FATORIAL .....	44
1.3.1 <b>Planejamento fatorial e a otimização multivariada</b> .....	45
1.3.1.1 Modelos lineares e quadráticos .....	46
2 <b>OBJETIVOS</b> .....	48
2.1 OBJETIVO GERAL .....	48
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	48
3 <b>MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	49
3.1 INSTRUMENTAÇÃO .....	49
3.2 REAGENTES E SOLUÇÕES .....	50
3.3 LIMPEZA DO MATERIAL .....	51
3.4 AMOSTRAS .....	51
3.4.1 <b>Análise direta</b> .....	52
3.4.2 <b>Digestão das amostras</b> .....	52
3.4.3 <b>Procedimento do estudo preliminar de especiação de cádmio</b> .....	53
3.5 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS .....	53
4 <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	55
4.1 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS .....	55
4.2 CURVA ANALÍTICA .....	59
4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO .....	61
4.3.1 <b>Limites de detecção e de quantificação</b> .....	61
4.3.2 <b>Massa característica</b> .....	62
4.3.3 <b>Precisão</b> .....	63
4.3.4 <b>Exatidão</b> .....	64

4.3.5	<b>Resumo das figuras de mérito</b> .....	65
4.4	<b>ANÁLISE DE AMOSTRA DE VINHO</b> .....	66
4.5	<b>ESTUDO DA FORMA FÍSICO-QUÍMICA DO CÁDMIO</b> .....	70
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	71

### **CAPITULO III**

#### **Caracterização e determinação de Cu, Fe, Zn e Mn em amostras de vinho empregando extração em fase sólida e FAAS**

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	74
1.1	<b>EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA</b> .....	75
1.1.1	<b>Carvão ativado</b> .....	76
1.1.1.1	Propriedades do carvão ativado .....	76
1.1.2	<b>Resina de Troca iônica</b> .....	76
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	78
2.1	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	78
2.2	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	78
3	<b>MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	79
3.1	<b>INSTRUMENTAÇÃO E ACESSÓRIOS</b> .....	79
3.1.1	<b>Outros equipamentos utilizados</b> .....	80
3.2	<b>REAGENTES E SOLUÇÕES</b> .....	80
3.3	<b>LIMPEZA DO MATERIAL</b> .....	81
3.4	<b>AMOSTRAS</b> .....	81
3.5	<b>METODOLOGIA</b> .....	81
3.5.1	<b>Fase sólida</b> .....	81
3.5.2	<b>Procedimentos para adsorção de metais</b> .....	82
3.5.3	<b>Digestão parcial usando placa de aquecimento</b> .....	82
3.5.4	<b>Digestão em bloco digestor</b> .....	83
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	84
4.1	<b>ESTUDO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS</b> .....	84
4.2	<b>CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE Cu, Fe, Zn e Mn</b> .....	84
4.3	<b>DETERMINAÇÃO DOS METAIS Cu, Fe, Zn E Mn EM VINHO</b> .....	85
4.4	<b>VALIDAÇÃO DO MÉTODO</b> .....	86
4.5	<b>CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE Cu, Fe, Zn E Mn EM VINHO</b> .....	87
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	93
6	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	94

---

# CAPITULO I

---

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 A VITIVINICULTURA NO BRASIL

A história do vinho no Brasil inicia-se com o descobrimento, em 1500, pelo navegador português Pedro Álvares Cabral. Relatos indicam que as treze caravelas que partiram de Portugal carregavam pelo menos 65 mil litros de vinho, para consumo dos marinheiros [1, 2].

A plantação de uva no País para produção de vinho tem início no século XVI pelos portugueses. A vinícola brasileira remonta ao século XVI, mais precisamente em 1532, quando Don Martin Afonso de Souza, emissário do rei Português, Don Juan III, plantou as primeiras videiras em Santos – São Paulo. O fundador da cidade de Santos, Brás Cubas, foi o primeiro a tentar cultivar videiras de forma mais ordenada, ele é, reconhecidamente, o primeiro a cultivar a vinha em nossas terras. As cultivares, que posteriormente se espalharam por outras regiões do Brasil, era da qualidade *Vitis vinifera* (ou seja, adequadas para a produção de vinho), oriundas de Portugal e da Espanha. Os portugueses também levaram videiras para o nordeste do Brasil e venderam o vinho para o Duque que controlou aquele território na ocasião [3].

Em 1626, as videiras chegaram à região do Rio Grande do Sul, trazida pelo jesuíta Roque Gonzáles que plantou videiras européias em São Nicolau, nos Sete Povos das Missões. Havia a necessidade da produção de vinho para utilização em missas, mas, a dificuldade de adaptação de variedades viníferas em nossas terras dificultou a princípio disseminação da vitivinicultura no Brasil. O renascimento da vitivinicultura rio-grandense ocorre em 1742, com a chegada de sessenta casais açorianos e madeirenses radicados em Porto Alegre no Rio Grande do Sul. No ano de 1813, D. João VI reconheceu oficialmente a primazia de Manoel de Macedo Brum da Silveira no plantio de videiras e produção de vinho nesta região [4].



A fabricação de vinho para comercialização só aconteceu por volta de 1870, junto com a imigração italiana na região sul do país [5].

A partir de 1875 despontou o crescimento da vitivinicultura gaúcha, graças á chegada da colonização italiana, pois os italianos traziam na bagagem além das cepas de uva européias da região de Vêneto, o hábito do consumo do vinho como um alimento, e o ainda chamado epírito vitivinícola. As cepas com o passar do tempo começaram a morrer por causas de doenças fúngicas, mas a força italiana e a vontade de manter sua tradição permitiram aos imigrantes que encontrasse uma cultivar que se adaptasse a região [4].

Assim, os imigrantes decidiram apostar nas variedades americanas como: Alexander, Isabella, Catawba, Concord e Delaware que são todas das variedades *Vitis labrusca*. Essas cultivares também eram suscetíveis a doenças, mas os resultados desta experiência demonstraram que, devido a sua resistência e rusticidade, essas variedades se adaptaram muito bem ao clima da região. Já as variedades viníferas não se adaptaram bem ao clima da região gaúcha, sendo dizimadas por doenças fungicas [3].

As videiras de origem americana chamada de Isabella (*vitis labrusca*) foram encontradas na região no vale do rio dos sinos, onde os imigrantes levaram para a encosta superior do Nordeste, sendo que essa cultivar se adaptou muito bem aquelas condições, e permitiu a continuidade da produção de uvas e vinho [1].

Há algumas décadas a preocupação com a melhoria de qualidade e as melhorias das técnicas agronômicas fizeram com que, novamente, se iniciasse o plantio de variedades *Vitis viníferas* como: Merlot, Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Gamay, Pinot Noir, Barbera, Riesling italico, Chardonnay, Moscato, Semillon, Trebbiano, e Sauvignon Blanc e a partir de 1970, vinícolas multinacionais, como a Moët & Chandon, a Martini & Rossi e a Heublein, estabeleceram-se na Serra Gaúcha trazendo equipamentos de alta tecnologia e técnicas viticulturais modernas. Essas empresas implementaram, também, junto aos novos produtores da Serra gaúcha, um programa de estímulo à modificação

do sistema de plantio, passando da latada à espaldeira. Estimularam, igualmente, a produção de cepas viníferas. Essas medidas tiveram como consequência um grande salto qualitativo no vinho brasileiro que hoje, a despeito das dificuldades de solo e clima, ostenta padrão internacional de qualidade [4].

O potencial do Brasil como um país produtor de vinho pode ser demonstrado por muitas companhias estrangeiras como Moët & Chandon, Mumm, Remy Martin, Martini & Rosso, Domeq, e Seagram. Segundo Callec, o Brasil tende a tornar-se, em breve, um dos maiores produtores vinícolas da América do Sul [3].

Apenas cerca de vinte por cento das uvas do Brasil são das melhores variedades, *Vitis vinifera*, enquanto as outras são híbridas e variedades norte-americanas, que são utilizados para a indústria vinícola. As uvas mais aceitas para produção de vinhos de qualidade são as *Vitis vinifera* de variedades como Merlot, Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Gamay, Pinot Noir, Barbera, Riesling italiano, Chardonnay, Moscato, Semillon, Trebbiano, e Sauvignon Blanc [3].

Somente a partir da década de 1990 que vinhos de melhor qualidade passaram a ser produzidos, com crescente profissionalização e a adaptação de uvas finas (*Vitis vinifera*) ao clima peculiar da Serra Gaúcha. A região produz hoje vinhos de qualidade bastante satisfatória e crescente [6].

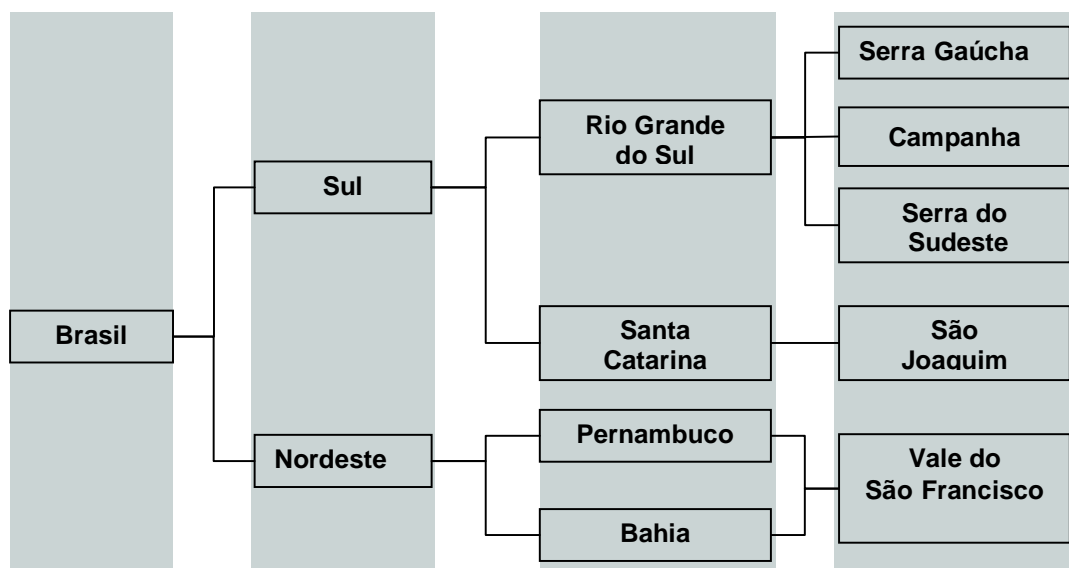
O Vale do São Francisco, situado nos estados de Pernambuco e Bahia é outra região em crescente desenvolvimento como produtora de vinhos de qualidade. Tal desenvolvimento deve-se à utilização da irrigação e às características edafo-climáticas. Esta região é a única do mundo a produzir vinhos de qualidade oriundos de três colheitas por ano [1].

Embora ainda não apareça nas estatísticas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a viticultura está sendo implementada em vários estados brasileiros como Mato Grosso do Sul, Goiás, Espírito Santo e Ceará.

## 1.2 REGIÕES PRODUTORAS DE VINHO NO BRASIL

No Brasil, a vitivinicultura ocupa uma área de aproximadamente 71 mil hectares, com vinhedos estabelecidos desde o extremo sul do País, em latitude de 31° Sul, até regiões situadas muito próximas ao equador, em latitude de 5° Sul. Em função da diversidade ambiental, existem no País pólos vitícolas típicos de regiões temperadas, caracterizadas por um período de repouso hibernar; pólos em áreas subtropicais, onde a videira é cultivada com dois ciclos anuais, definidos em função de um período de temperaturas mais baixas, nos quais há risco de geadas; e pólos de viticultura tropical, onde é possível a realização de podas sucessivas, com a realização de dois a três ciclos vegetativos por ano [7].

As principais regiões produtoras de vinho no Brasil estão sumarizadas na Figura 1.



Fonte: [8]

Figura 1 - Principais regiões produtoras de vinho no Brasil.

A vitivinicultura brasileira evoluiu de maneira extraordinária nas duas últimas décadas, e o Brasil produz hoje vinhos de boa qualidade e a partir de setembro de 1995 o Brasil passou a ser membro da Organisation International de la Vigne et du Vin (OIV), organismo que regula as normas internacionais de

produção do vinho, cujo cumprimento resulta, obrigatoriamente, em elevação do padrão de nossos vinhos [3].

Nos últimos anos, as estatísticas oficiais registram uma produção de uvas que varia em torno de 1,2 milhões de toneladas por ano. Deste volume, cerca de 45% foi destinado ao processamento para a elaboração de vinhos, sucos e outros derivados, e 55% comercializado para o consumo *in natura* no mercado interno e exportação. Relativamente ao segmento agroindustrial, a vitivinicultura brasileira tem a sua história intimamente ligada à Região Sul do País, que detém praticamente a exclusividade da produção e abastecimento do mercado interno brasileiro de vinhos, suco e outros derivados da uva e do vinho [1].

A produção de uvas no Brasil em 2007 foi de 1.354.960 toneladas, 11,04% superior ao ano de 2006 (Tabela 1). Houve redução na produção de uvas nos estados de São Paulo (-1,19%), e em Minas Gerais (-2,62%). Nos demais estados ocorreu aumento na produção. O maior acréscimo da produção ocorreu no estado da Bahia, 34,45%, seguido pelos estados de Santa Catarina (14,16%) e Rio Grande do Sul (13,04%) [9].

Tabela 1 - Produção de uvas no Brasil, em toneladas, no período de 2005-2007.

<b>Estado</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>
Pernambuco	155.783	170.326	150.827
Bahia	90.988	89.738	120.654
Minas Gerais	14.389	12.318	11.995
São Paulo	231.680	195.357	193.023
Paraná	99.253	95.357	99.180
Santa Catarina	47.971	47.787	54.554
Rio Grande do Sul	611.868	623.847	705.228
<b>Brasil (Total)</b>	<b>1.246.976</b>	<b>1.220.187</b>	<b>1.354.960</b>

Fonte: [9]

Do total de uvas produzidas no Brasil, 47,02% foi destinada à elaboração de vinhos, sucos e outros derivados, em 2007. As condições climáticas favoráveis para a produção de uvas no Rio Grande do Sul, principal pólo de produção de vinhos, foram as principais razões deste aumento [9].

O Rio Grande do Sul, principal produtor, possui uma área de 48.474 hectares, o que representa 54,43% da área total do país. A produção de uvas destinadas ao vinho está localizada, principalmente, na região das Serras Gaúchas.

Segundo dados do ministério da agricultura 90% do vinho brasileiro é produzido no Rio Grande do Sul, com predominância do tinto, ou seja, 77,4%. A produção do rosado é de 15,25% e a de vinho branco, de 7,3% [9]. Como não se dispõe de estatísticas sobre a produção e comercialização nacional de vinhos, no entanto pode-se utilizar dados referentes ao Rio Grande do Sul para representar o Vinho Nacional. A Tabela 2 apresenta a comercialização dessa produção no Rio Grande do Sul no período de 2004 a 2007 [4,10].

Tabela 2 - Produção de vinhos do Rio Grande do Sul, em litros, no período de 2004-2007.

<b>PRODUÇÃO</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>
<b>Vinho de mesa</b>	<b>312.549.281</b>	<b>226.080.432</b>	<b>185.100.887</b>	<b>275.287.908</b>
Tinto	252.979.739	180.698.666	149.527.555	228.156.220
Branco	51.497.025	39.212.146	31.738.390	42.118.552
Rosado	8.072.517	6.169.620	3.809.942	5.013.136
<b>Vinho Fino</b>	<b>43.084.644</b>	<b>45.453.898</b>	<b>32.168.976</b>	<b>43.176.484</b>
Tinto	23.160.118	25.409.805	18.868.108	24.786.071
Branco	19.887.747	20.012.363	13.249.969	17.598.428
Rosado	36.779	31.730	50.900	791.985
<b>Total</b>	<b>355.633.925</b>	<b>271.534.330</b>	<b>217.269.863</b>	<b>318.464.392</b>

Fonte: [9]

Com base nos dados contidos na Tabela 2, pode-se observar que grande parte do vinho consumido no país é de mesa, fato este que justifica a alta produtividade desse tipo de vinho.

Porém, para alcançar uma fatia do exigente mercado internacional do vinho que até então está reservado aos países de tradição produtora como, Itália e França é necessário aumentar a produção nacional de vinhos finos que hoje soma apenas 15% de todo vinho produzido no país. Mesmo com esforço do estado do Rio Grande do Sul, com a criação do Consórcio de Exportação (Wines for Brazil), o desempenho das exportações em 2007, situou-se abaixo do esperado. Foram exportados 3,28 milhões de litros de vinho representando redução de 3,92 %, em relação ao ano anterior, conforme mostrado na Tabela 3 [11].

Tabela 3 - Exportação brasileira de vinhos, em litros, no período de 2003-2007.

Produto	Ano				
	2003	2004	2005	2006	2007
Vinhos Finos	1.380.000	2.802.000	3.529.789	3.415.316	3.281.000
Vinhos Espumantes	76.000	198.000	111.405	160.493	51.000

Fonte: [11]

A Tabela 4 apresenta uma síntese do mercado de vinhos finos no país, considerando os vinhos nacionais e os importados. Em 2007, foram importados 57,63 milhões de litros de vinhos finos, o que representa 71,36% do vinho fino comercializado no Brasil. Enquanto a quantidade de vinhos finos nacionais comercializados no país, em 2007, situou-se nos mesmos patamares de 2003, os importados cresceram 115%. O aumento na comercialização de vinho no cenário internacional em decorrência da globalização, provavelmente decorrente da acirrada concorrência internacional e da taxa de câmbio, que desfavorece as importações, tem colocado o setor de vinhos finos brasileiros em condições desfavoráveis, apresentando assim redução nas importações. Nesse cenário, o

setor está investindo no aumento da qualidade dos vinhos e na promoção de indicações geográficas buscando a valorização do produto pelos valores territoriais e culturais [11].

Tabela 4 - Participação das importações de vinhos comercializados no Brasil, em 1000 litros, no período de 2003-2007.

Produto	Ano				
	2003	2004	2005	2006	2007
<b>NACIONAL</b>	23.211	21.2864	24.843	25.085	23.130
<b>IMPORTADO</b>	26.799	36.070	37.495	46.371	57.629
<b>PARTICIP.IMP/TOTAL (%)</b>	53,6	62,3	60,15	64,89	71,36

Fonte: [11]

Com o processo de abertura da economia brasileira, o segmento de vinhos finos tem enfrentado, no mercado interno, uma forte concorrência registrando-se taxas significativas de crescimento das importações de vinhos finos, no período de 2003-2007. A Tabela 5 demonstra a participação dos vinhos importados no mercado brasileiro de vinhos finos que passou de 46,5% para 71,7% [12].

A produção de vinho no Brasil situa-se na 17ª posição, o que representa 1,2% do volume da produção mundial. Apesar de a vitivinicultura brasileira presenciar um momento de expansão, a demanda de vinho no mercado interno ainda continua baixa. No *ranking* mundial, o Brasil ocupa o 53º lugar em consumo, com 1,8 litros por habitantes por ano. Em países vizinhos como Uruguai, Chile e Argentina a média situa-se na faixa de 28 litros por habitantes por ano [13].

Outras regiões têm se destacado na vinicultura brasileira (Figura 2), a exemplo das regiões de Andrada, Caldas, Poços de Caldas e Santa Rita de Caldas, em Minas Gerais; Jundiá e São Roque, em São Paulo; Marialva e Maringá, Rolândia, Bandeirantes e Rosário do Ivaí, no Paraná; São Joaquim, Pinheiro Preto e Tangará, em Santa Catarina; Casa Nova, Juazeiro, Petrolina e

Lagoa Grande, no vale do sub-médio São Francisco. Mais recentemente surgiram duas novas localidades com atividade vitivinícola no Brasil, são Santa Helena de Goiás em Goiás e Nova Mutum no Mato Grosso [14, 15].

Tabela 5 - Importação brasileira de vinhos, no período de 2003-2007.

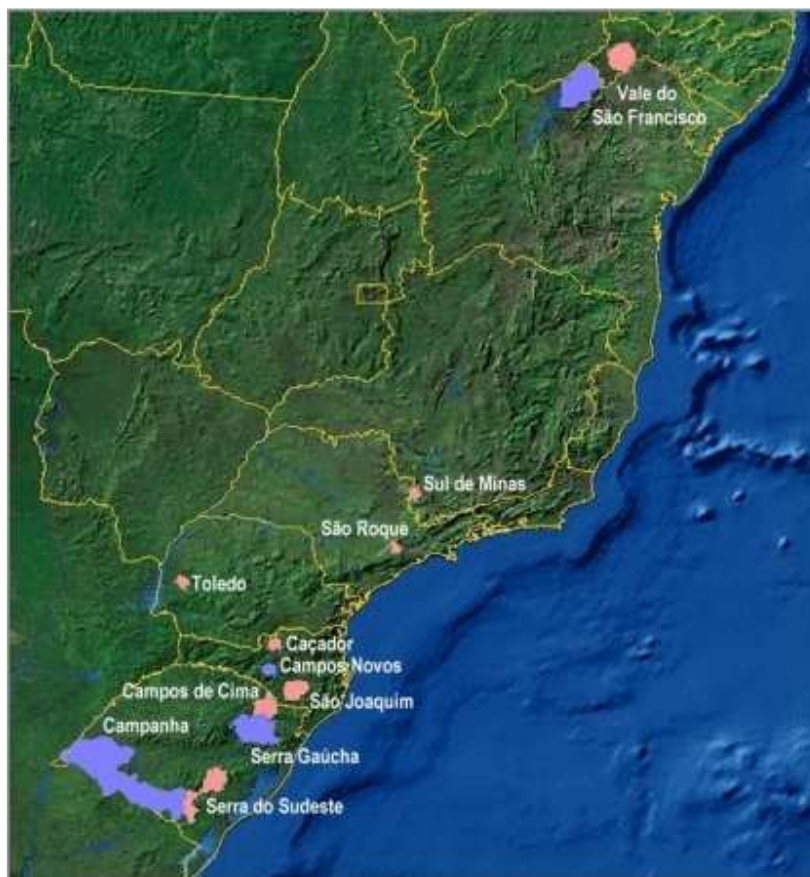
Países	Ano									
	2003		2004		2005		2006		2007	
	Litros	%	Litros	%	Litros	%	Litros	%	Litros	%
<b>Chile</b>	7.955.549	29,7	11.134.141	30,9	11.647.128	31,1	15.194.205	32,8	13.563.667	35,5
<b>Argentina</b>	5.720.024	21,3	10.202.602	28,3	10.845.213	28,9	11.939.727	25,7	9.693.801	25,4
<b>Itália</b>	5.237.027	19,5	6.190.395	17,2	5.994.200	16,0	7.983.641	17,2	5.305.385	13,9
<b>Portugal</b>	3.344.190	12,5	4.151.101	11,5	5.182.827	13,8	5.936.299	12,8	4.623.253	12,1
<b>França</b>	1.958.362	7,3	2.092.261	5,8	1.671.209	4,5	2.561.966	5,5	1.686.503	4,4
<b>Uruguai</b>	1.096.094	4,1	660.522	1,8	512.973	1,4	715.474	1,5	1.969.884	5,2
<b>Espanha</b>	410.133	1,5	603.666	1,7	508.494	1,4	971.869	2,1	525.799	1,4
<b>Alemanha</b>	573.198	2,1	420.075	1,2	253.685	0,7	314.749	0,7	197.960	0,5
<b>África do Sul</b>	157.239	0,6	303.409	0,8	407.413	1,1	358.870	0,8	276.122	0,7
<b>Estados Unidos</b>	173.327	0,6	79.531	0,2	53.043	0,1	61.283	0,1	46.530	0,1
<b>TOTAL</b>	26.789.940	46,5	36.070.461	64,6	37.478.767	63,1	46.371.521	67,4	38.180.762	71,7

Fonte: [12]

Apesar do Brasil possuir vários pequenos pólos produtores de vinhos, como é mostrado na Figura 2, apenas na região Sul e no vale do sub-médio São Francisco situados entre os estados da Bahia e Pernambuco são produzidos vinhos finos, ou seja, vinhos provenientes de uvas nobres da espécie *Vitis vinífera*. No Brasil, a proporção atual da produção dessas uvas é de aproximadamente 30 a 40%, enquanto na França, Chile e Argentina é de quase 100%. Grande parte da produção nacional de vinhos, que corresponde a



aproximadamente 80%, trata-se do vinho de mesa, elaborados com uvas americanas (*Vitis labrusca* e *Vitis bourquina*) e híbridas [7].



Fonte: [12]

Figura 2 - Mapa das regiões de pequenos pólos vinícolas do Brasil.

Nesse sentido o país tem investido bastante na tecnologia vitivinícola, apostando no plantio de uvas finas, no sentido de aumentar a qualidade dos vinhos e buscando a valorização do produto pelos valores territoriais e culturais [11].

### 1.3 FONTES DE METAIS EM VINHO

A presença de metais no vinho está diretamente relacionada com o desenvolvimento da atividade industrial e com a poluição gerada. Ao longo do processo tecnológico, podem ocorrer contaminações de origem diversas: atmosférica, práticas culturais, aditivos e auxiliares tecnológicos, equipamentos utilizados na vinificação, estabilização e conservação (tendo em vista seu caráter ácido sendo susceptível a dissolver cátions metálicos) [16].

Aspectos como a origem, níveis de ocorrência, evolução ao longo dos processos tecnológicos, fontes de contaminação, estabilidade físico-química, distribuição sob diferentes formas químicas, toxicidade, entre outros, variam consideravelmente com o metal em consideração [17].

A concentração total de metais presentes nos vinhos é proveniente de duas grandes fontes, a primeira delas, é a fonte natural, que corresponde a transferência dos metais existente no solo para o fruto através das raízes. A segunda é a fonte antropogênica que pode ser dividida em três subgrupos. O primeiro compreende o uso de fertilizantes inorgânicos e orgânicos e de pesticidas utilizados na prática agrícola, o segundo está associado à poluição ambiental e trata-se da deposição do material particulado presente no ar sobre as uvas, e por fim a contaminação resultante do processo de vinificação [18].

Os elementos minerais presentes no vinho provêm, em grande parte das plantas via absorção radicular, verificando-se um constante enriquecimento durante a formação e maturação do fruto [19]. A transferência dos metais do solo para o fruto depende de fatores como a maturidade das uvas, assim como sua variedade, tipo de solo e condições climáticas.

À semelhança de grande parte das plantas, a videira tem a capacidade de absorver quantidades relativamente elevadas de elementos tóxicos, sem que se

verifique manifestação de toxicidade, uma vez que os metais são complexados e integrados em moléculas biológicas num mecanismo de autodefesa da planta [17].

Parte do ferro encontrado nos vinhos provém do solo, mas sua grande maioria origina-se de contaminações durante a etapa de colheita, de equipamentos utilizados na vinificação, estabilização e conservação do vinho [20].

O ferro em altas concentrações induz a formação da turbidez e sedimentação. A adição de ferrocianeto de potássio elimina parte da concentração de ferro e diminui significativamente a concentração dos outros metais que também participa do processo de turbidez dos vinhos brancos. O uso deste agente complexante apresenta risco de uma possível transformação de algum excesso em cianeto, um composto altamente tóxico [21].

O manganês presente nos vinhos é oriundo do solo, dos tratamentos fitossanitários empregados na videira e das sementes, que possuem altos conteúdos deste elemento [22]. A natureza exógena deste elemento é associada à utilização de produtos contendo sais de Mn, sendo empregados na conservação, alguns tipos de aço inoxidável, bentonites e enzimas pectolíticas. A deficiência de Mn no organismo humano, bem como seu excesso, pode afetar o metabolismo cerebral [23].

A presença de cobre no vinho pode ser atribuída a três fontes: aplicação de fungicidas nos vinhedos, através das pulverizações com produtos à base de cobre no controle de pragas e doenças do vinhedo e, principalmente pelo contato do mosto com utensílios e equipamentos que apresentam este metal como componente. Altas concentrações de cobre (II) favorecem a turbidez e sedimentação, bem como a deterioração do flavor do vinho [24]. O fenômeno da turbidez ocorre particularmente em vinhos brancos, e constitui um dos principais problemas enológicos.

Os teores de zinco normalmente encontrados no vinho são demasiado reduzidos para provocar intoxicações, este metal é reconhecido pelo seu potencial

tóxico sobre o organismo humano. Pequenas quantidades, quando presentes em vinho, normalmente são oriundas das pulverizações dos vinhedos com fungicidas. Altos teores de zinco podem ocorrer no vinho devido ao uso de utensílios e equipamentos, usados na vinificação, estabilização e conservação do vinho que contenham este metal como componente [25].

A presença de cádmio em vinho está diretamente associada à poluição atmosférica e a utilização de produtos fitossanitários [17]. Vinícolas situadas próximas a estradas ou áreas industriais, onde as emissões e descargas veiculares são intensas, são susceptíveis a contaminações por parte desse elemento [26].

#### 1.4 COMPOSIÇÃO MINERAL DO VINHO

A composição mineral do vinho reflete a sua origem e percursos particulares, sendo por isso singular e identificadora, contribuindo de forma substancial para as características sensoriais. Os metais Cu, Fe e Zn afetam as características organolépticas do vinho, incluindo sabor, aroma, cor e frescor, principalmente devido à formação de precipitados ou através da turvação durante as etapas do processo de vinificação, fermentação, maturação ou estocagem [27].

Alguns constituintes inorgânicos podem afetar todo o processo de produção do vinho principalmente devido à influência que exercem sobre as propriedades organolépticas da bebida. Elementos como Ca, K, Al, Cu, Mg e Na, influenciam a estabilidade, a cor e a limpidez do vinho [28].

Segundo Mozaz, metais como cobre, ferro e manganês são responsáveis por alterações na estabilidade de vinhos envelhecidos e modificações da qualidade sensorial dos vinho, ocasionando efeitos depreciativos. Este fenômeno

é conhecido pelo termo inglês “*Browning*”, que envolve uma série de reações oxidativas dos compostos orgânicos contidos nos vinhos, ocasionando a perda do aroma e frescor e o aparecimento de precipitados tanínicos. Mas esses metais apresentam um importante papel na atividade fermentativa durante o processo de produção de vinho [29].

Metais como Fe, Zn, Mn e Cu são também indispensáveis no desenvolvimento de leveduras e bactérias lácticas, eles são importantes porque auxiliam na manutenção de processos biológicos. As leveduras absorvem metais através da sua membrana celular diminuindo assim os níveis de metais no vinho [30].

Íons metálicos desempenham um papel importante na dieta humana, ou seja, pelo caráter de essencialidade. Muitos estudos revelam que o vinho é uma importante fonte de ferro e que a razão potássio/sódio desperta interesse para investigar o efeito do vinho na dieta em casos de hipertensão [28].

Mas, numa perspectiva global, apesar da sua negligenciável importância nutricional e da sua contribuição fundamental para as características organolépticas do vinho, muita das pesquisas, estão voltadas fundamentalmente para os potenciais efeitos negativos que esses íons metálicos podem proporcionar [17].

Alguns elementos adquiriram uma prioridade de estudos superior a outros eventualmente por se encontrarem em concentrações que podem substancializar problemas de ordem toxicológica. Por essa razão, vários tratamentos têm sido propostos para tentar reduzir a concentração metálica em vinhos e com isso atingir maior estabilidade.

## 1.5 NÍVEIS DE METAIS EM VINHO

A determinação de metais em vinhos é de grande importância para o controle da qualidade e da autenticidade dos vinhos, e para conhecer o grau de biodisponibilidade e toxicidade dos metais. A presença de metais em vinho pode influenciar o processo de fabricação ou pode mudar o sabor e a qualidade do produto final [31].

Metais também têm um efeito positivo sobre a saúde. O consumo moderado de vinho contribui diariamente para suprir as exigências diárias de muitos elementos essenciais, como cálcio, cobalto, cromo, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, molibdênio, níquel e zinco. Entretanto, deve ser observado que o efeito nutricional e a biodisponibilidade metálica estão relacionadas à forma físico-química que eles estão presentes. Para prevenir a ingestão excessiva de metais e conseqüentemente uma possível intoxicação, a concentração de metais em vinho é regulada. Níveis aceitáveis devem ser respeitados e controlados durante a vinificação e no produto final.

Os níveis máximos de metais em vinho são estabelecidos por órgãos fiscalizadores. Um dos mais importantes órgãos a nível mundial, OIV, regula a produção e comercialização de vinho no mundo [32]. No Brasil, os limites para concentração dos elementos, tanto macros como traços, no vinho são estabelecidos através do Decreto Federal nº. 99.066 de 08 de março de 1990, que regulamenta a Lei 7.678/88 do ministério da agricultura [33]. O mercado comum do sul (MERCOSUL), importante grupo econômico dos países da América do Sul também estabelece limites para concentrações de metais em vinhos comercializados entre os países que pertencem ao grupo [34]. A Tabela 6 apresenta os teores máximos aceitáveis de metais em vinho pela OIV, Legislação Brasileira e Mercosul.

Tabela 6 - Limites máximos, em mg L<sup>-1</sup>, de metais em vinho estabelecidos pela OIV, Legislação Brasileira e Mercosul.

Metais	OIV	Brasil	Mercosul
	(mg L <sup>-1</sup> )		
Arsênio (As)	0,2	0,2	0,2
Cádmio (Cd)	0,01	0,01	0,01
Chumbo (Pb)	0,15	0,3	0,3
Cobre (Cu)	1,0	1,0	1,0
Zinco (Zn)	5,0	5,0	5,0

Fonte: [32–34]

## 1.6 ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO

A análise de especiação química tornou-se uma ferramenta essencial para o conhecimento das diferentes formas que um elemento pode ser encontrado em uma amostra [35]. Assim, é reconhecido de fato que em química ambiental, saúde ocupacional, nutrição, medicina, bioquímica, entre outras áreas, as propriedades químicas, biológicas e toxicológicas da espécie de interesse são extremamente dependentes da forma como a espécie ocorre na amostra, onde há um crescente interesse em diversas áreas, incluindo a Química Analítica no que se refere à análise de especiação.

A “International Union for Pure and Applied Chemistry” (IUPAC), estabeleceu recomendações sobre o uso de terminologia comum em química, para facilitar a comunicação entre cientistas de diferentes campos e evitar interpretação errônea devido à terminologia ambígua [36]. Assim, a IUPAC, definiu a especiação como a análise que possibilitar a separação, identificação e determinação dos diferentes estados de oxidação e/ou das distintas formas

químicas nas quais se encontra uma determinada espécie química em uma amostra [37].

Atualmente, sabe-se que a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, especialmente sobre o seu comportamento no meio ambiente e os danos que pode causar à saúde. As propriedades físicas, químicas e biológicas são dependentes da forma química em que o elemento está presente [38].

A essencialidade e a toxicidade de uma espécie química dependem da quantidade que é ingerida e, principalmente, da forma físico-química e/ou do estado de oxidação da espécie presente na amostra. Em geral, a separação, identificação e a determinação das diversas espécies químicas sob as quais o elemento de interesse pode estar presente em uma amostra, permite gerar informações capazes de compreender melhor as reações químicas e bioquímicas dos elementos nos organismos vivos [39, 40].

A análise de especiação em vinho é de grande importância, para a caracterização da autenticidade e controle de qualidade destes. Sendo assim, a avaliação da contaminação de um metal tóxico em amostra de vinho requer um estudo de especiação para caracterizar a forma química e/ou o estado de oxidação presente na amostra. As demandas pela análise de especiação são crescentes, vindas de outras áreas, como as indústrias vinícolas que também realizam estudos de especiação química considerando que a precipitação de substâncias indesejáveis durante a produção de vinho estar diretamente ligada ao estado de oxidação de algumas espécies metálicas presentes.

Numa matriz complexa como a do vinho, alguns elementos traço ocorrem como íons livres, outros como complexos de baixo peso molecular, ou como complexos macromoleculares. Assim, a especiação de metais associado à ligantes biológicos também é um assunto de interesse crescente, tendo em vista



que a complexação pode reduzir sua toxicidade e biodisponibilidade. Desta forma, apenas o metal que é capaz de superar a barreira intestinal é considerado potencialmente biodisponível.

Kardjova e colaboradores desenvolveram um procedimento analítico para o fracionamento e determinação de cobre, ferro e zinco em diferentes frações do vinho. Utilizaram a resina Amberlite XAD-8, para separação do Cu, Fe e Zn complexados com polifenóis, proteínas e polissacarídeos e a Dowex 50x8 condicionada com  $\text{HNO}_3$  para promover a sorção das espécies lábeis Cu, Zn e Fe (II) e Fe (III) e condicionada com ácido tartárico para a sorção das espécies carregadas negativamente. Neste trabalho, também foi empregado a 1,10-phenantroline para promover a complexação da espécie de Fe (II) livre em solução. Segundo os mesmos, os resultados demonstraram que 30 % do ferro está complexados com polifenóis e proteínas contidas no vinho e 5% apresenta-se associado a polissacarídeos. 50 % do cobre está presente na forma de espécie lábil, mas também o cobre encontra-se ligado a complexos orgânicos como polifenóis, proteínas e 4-5 % complexados a polissacarídeos. Em relação ao Zn, mais de 60 % encontra-se na forma lábil carregada positivamente e 15 % está ligado a complexos como o polifenóis [41].

Ferreira e colaboradores criaram um método para especificação de ferro inorgânico em vinho. O método consistiu na determinação espectrofotométrica do complexo de Fe (II) com 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino)-fenol (Br-PADAP). O ácido ascórbico foi empregado como reagente redutor para determinação de Fe total. A exatidão do método foi comparada através dos resultados obtidos da digestão ácida das amostras determinada por FAAS [42].

Lemos e colaboradores desenvolveram um sistema de pré-concentração em linha usando mini-coluna de espuma de poliuretano impregnada com o reagente BTAC, que foi utilizado para quantificação de chumbo livre e total em vinhos. Todas as amostras analisadas demonstraram que o teor de chumbo livre

foi abaixo do limite de quantificação do método. Este estudo evidenciou que os vinhos contêm compostos orgânicos com grande capacidade de complexação de íons chumbo (II) [43].

Mckinnon e Scollary propuseram um método para adequação da ultrafiltração para a análise da distribuição de metais em diferentes frações de tamanho de partículas. Os metais em estudo foram aqueles associados aos processos de deterioração do vinho ou os considerados potencialmente tóxicos. Os resultados demonstraram que há certa limitação na capacidade de estabelecer padrões para o fracionamento do alumínio, cálcio, cobre e ferro no vinho branco. Esta limitação é consequência da ação mecânica da ultrafiltração, devido alterar facilmente a cinética da reação particularmente do cálcio e cobre, onde há indícios que estes metais existem associados fracamente a complexos em solução [44].

Pohl utilizou duas resinas de troca iônica (Amberlite XAD-7 hidrofóbica e Dowex 50x4 catiônica) para confecção de duas colunas onde foram conectadas em série para retenção de espécies Mn e Zn em bebida, avaliando a sorção e dessorção dos cátions Mn (II) e Zn (II). A distribuição de Mn e Zn entre espécies de classes química definidas, ou seja, hidrofóbicas espécies de alto peso molecular complexos de metais com compostos como polifenóis e flavonoídes, e a soma cátions metálicos livres e complexos metálicos catiônico estável com espécies de baixo peso molecular e finalmente espécies metálicas residual, sendo mais provável metais aniônico e neutro associação de ligantes de metais com baixa massa molecular [45].

---

## **CAPITULO II**

---

## **Otimização multivariada e validação de um método analítico para determinação de cádmio em vinhos empregando ET AAS**

### **1 INTRODUÇÃO**

Grande parte do cádmio presente na dieta humana provém de produtos agrícolas. Sendo assim, as plantas apresentam uma grande capacidade de absorção por desse elemento, quando cultivadas em solos ácidos.

As concentrações de cádmio em diferentes alimentos variam muito de acordo com a sua origem, com a concentração do metal presente no solo e a sua disponibilidade no meio, em condições de ser absorvida pela planta [46].

A presença de cádmio em alimentos são provenientes da contaminação do solo, que por sua vez pode ser contaminado pelas águas de irrigação, deposição originária da poluição atmosférica e de adubações, por fertilizantes fosfatados ou fertilizantes de origem de esgotos. Assim, diversas legislações têm sido aprovadas no mundo para controlar a contaminação humana, principalmente através dos mais diversos tipos de alimentos consumidos pelo mesmo [47].

Muitas pesquisas voltadas à área de alimentos têm focado que o cádmio apresenta um caráter cumulativo ao longo da cadeia biológica, da qual o homem faz parte, passando a ocorrer o fenômeno de bioacumulação. Assim, espécies presentes no ambiente apresentam certa toxicidade, podendo atingir níveis mais elevados nos elos finais da cadeia trófica [48].

## 1.1 CÁDMIO E SUA TOXICIDADE

O cádmio é um elemento químico de símbolo **Cd**, número atômico 48, massa atômica 112,4 u e possui ponto de ebulição igual a 765 °C. Está situado no grupo 12 (2B) da Classificação Periódica dos Elementos Químicos. O metal encontra-se em estado sólido à temperatura ambiente.

Esse elemento é encontrado naturalmente em vegetais, água, solo, e na atmosfera. Uma das principais causas de contaminação está relacionada a sua aplicação tecnológica (fabricação de pigmentos, baterias, células fotovoltaicas, lâmpadas, etc), e pode estar disponível em concentrações mais altas em centros industrializados [49, 50].

O cádmio é considerado um elemento tóxico de lenta excreção pelo organismo humano e por acumular-se no organismo, em órgãos como o fígado e rins, onde, interage efetivamente com enzimas metalotioneína, pode provocar sintomas específicos, ou, um quadro clínico agudo [51].

Esse metal é potencialmente tóxico, mesmo em baixas concentrações, e sua toxicidade está relacionada a diferentes síndromes: os efeitos incluem insuficiência renal, hipertensão arterial, lesão hepática, danos pulmonares (após exposições e inalação), e efeitos ósseos [52].

Diversas técnicas analíticas têm sido empregadas na determinação de Cd em vinho, com destaque especial para as técnicas espectrométricas. Em geral a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) é a mais utilizada por se tratar de uma técnica analítica que apresenta boa precisão e exatidão, alta sensibilidade, baixos limites de detecção na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{ng L}^{-1}$  e a sua capacidade para determinações diretas.

## 1.2 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA (ET AAS)

A ET AAS recebeu contribuições importantes ao longo do seu processo de desenvolvimento. Comparativamente a outras técnicas, a ET AAS sofreu os maiores aprimoramentos desde a sua proposta inicial feita por Boris V, L'vov [53], como a utilização de tubos de grafite (atomizadores) revestidos pirolíticamente com platina e aquecimento transversal, modificadores químicos, correção do sinal de fundo baseada no efeito Zeeman e, os detectores com resposta rápida para registro dos sinais transientes. Essas inovações instrumentais e outras experimentais foram consolidadas por Walter Slavin e colaboradores em 1981 [54], resultando no conceito das condições no forno com platina com temperatura estabilizada, do inglês Stabilized Temperature Platform Furnace (STPF). As condições STPF são um conjunto de requisitos instrumentais e operacionais que asseguram uma condição analítica adequada, permitindo obter métodos mais sensíveis e com mínima interferência utilizando a ET AAS [54, 55]. A Tabela 7 apresenta os requisitos instrumentais e operacionais necessários para atender as condições STPF [56].

Todos os parâmetros devem ser usados em conjunto para obter inteiramente as vantagens do conceito STPF. Se uma ou mais condições forem omitidas, não há melhorias ou somente uma pequena melhora sobre resultados prévios [54, 55].

A ET AAS ocupa uma posição de destaque, dentre as técnicas espectroanalíticas, devido à elevada sensibilidade, seletividade, e a pequena quantidade de amostra requerida para realização da análise, bem como a possibilidade de tratamento térmico da amostra durante o programa de aquecimento, o que possibilita a introdução de amostras na forma sólida ou de suspensões [57, 58].

Devido ao maior tempo de residência do analito no volume de absorção e a maior eficiência de atomização da amostra introduzida no tubo de grafite, com a técnica de ET AAS é possível obter limites de detecção de 2-3 ordens de grandeza melhores que a FAAS, o que possibilita a determinação de elementos traço em níveis de  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{ng L}^{-1}$  [59, 60].

Tabela 7 - Requisitos instrumentais e operacionais necessários para atender as condições STPF, e os resultados obtidos.

<b>Condições STPF</b>	<b>Resultados Obtidos</b>
Tubo de grafite com plataforma de L'vov.	Estabelecimentos de um ambiente quase isotérmico durante a atomização.
Sinais de absorbância registrados em área.	Minimização dos efeitos das variações cinéticas do processo de atomização.
Atomizador construído com grafite pirolítico.	Redução de perdas por difusão através da parede do atomizador.
Aquecimento transversal do tubo de grafite.	Estabelecimento de um ambiente espacialmente isotérmico.
Correção da radiação de fundo por efeito Zeeman.	Correção das interferências espectrais.
Utilização de modificador químico.	Aumento da eficiência do tratamento térmico durante a pirólise.
Interrupção do fluxo de gás durante a atomização.	Aumento do tempo de residência da nuvem atômica na zona de observação.
Elevada taxa de aquecimento do tubo de grafite.	Redução de interferência na fase vapor e formação de uma densa nuvem atômica.
Eletrônica adequada para permitir a integração do sinal transiente.	Obtenção do registro dos sinais de absorbância em tempo real.

A utilização dessas condições reduz substancialmente interferências de matriz e, na maioria dos casos, torna possível fazer análise por simples calibração com soluções padrões contendo apenas o analito e o modificador, quando o mesmo for necessário.

Como desvantagens a técnica tem: longos programas de aquecimento do tubo de grafite (1 a 3 minutos), característica mono-elementar, o que confere baixa frequência analítica à técnica e os altos custos dos materiais de consumo, como os tubos de grafite e os reagentes de alta pureza [61].

### 1.2.1 Absorvância integrada

A leitura do sinal de absorção atômica é feita, preferencialmente, com integração da área do pico ao invés da altura. Usando-se instrumentos com eletrônica rápida (tempo < 50 ms), pode-se obter o sinal real integrado. Tendo em vista que na atomização eletrotérmica se utiliza um volume discreto de amostra, para a qual a absorvância varia com o tempo durante a etapa de atomização, o sinal característico é transiente. Se a amostra é totalmente atomizada, a integral da absorvância em relação ao tempo é proporcional ao número de átomos no volume de observação. Sob condições adequadas, os efeitos cinéticos que ocorrem durante a atomização, e que causam mudanças na forma e na altura do pico, deixam de ser relevantes nas medidas de absorção atômica integrando-se a área do sinal de absorvância [59].



### 1.2.2 Modificadores químicos

O emprego de modificadores químicos é uma prática comum em ET AAS. A proposta de utilização de uma substância química, co-injetada com as soluções analíticas e amostras, capaz de aumentar a estabilidade térmica do analito ou a volatilidade dos concomitantes presentes na matriz, foi proposta por Richard D. Ediger em 1974 tendo recebido o nome controverso de modificador de matriz. Logo o uso de modificadores químicos para reduzir as interferências espectrais e não espectrais representou um importante fator para o sucesso do conceito STPF [62].

A IUPAC recomenda a seguinte conceituação de modificadores químicos: “são reagentes que tem a finalidade de influenciar os processos que ocorrem no atomizador, os quais quando adicionados ajudam a reter o analito a temperaturas mais elevadas durante a etapa de pirólise, com finalidade de remover os concomitantes indesejáveis presente na matriz ou melhorar na eficiência na atomização”.

O uso de modificadores químicos torna possível o controle de alterações e combinações das propriedades físicas e químicas da amostra. Assim, a formação de compostos estáveis do analito ou dos concomitantes pode ser realçada ou reprimida [63].

A sua principal função é diminuir, ou até mesmo eliminar, interferências provocadas pela matriz ou concomitantes presentes na amostra, por meio do aumento da eficiência da etapa de pirólise. O principal objetivo da utilização dos modificadores químicos é permitir altas temperaturas na etapa de pirólise, sem a perda do analito. Com uma temperatura de pirólise mais elevada, é viável a eliminação dos concomitantes, sem com isso, afetar a atomização do analito. O modificador químico converte o analito a uma forma menos volátil, permitindo maiores temperaturas de pirólise e/ou converte os concomitantes a uma forma mais volátil promovendo a separação analito-matriz [59, 64].

As principais e desejáveis características destes reagentes estão listadas a seguir [65 -67]:

- O analito deve ser estabilizado até uma temperatura de pirólise relativamente alta. Esta propriedade permite a volatilização dos concomitantes;
- O modificador deve ser aplicável a um grande número de analitos, contribuindo para maior simplicidade e dinamismo nas determinações;
- O modificador deve ser encontrado em uma forma altamente pura, e não deve conter concentrações mensuráveis do analito;
- Preferencialmente, o modificador não deve reduzir a vida útil do tubo de grafite;
- O modificador não deve contribuir para absorção de fundo, próximo ao comprimento de onda do elemento a ser determinado;
- Em muitos casos é desejável que a espécie seja refratária e/ou forme compostos refratários;
- Não deve influenciar no limite de detecção;
- Não deve ser um dos elementos que compõem a lista dos analitos a serem determinados.

A seleção do modificador químico ótimo é um parâmetro crítico para as determinações em ET AAS e atualmente a modificação química esta dividida em dois grupos:

- modificadores químicos convencionais
- modificadores permanentes

Os modificadores químicos convencionais compreendem várias substâncias entre as quais, as mais utilizadas são: o nitrato de paládio ( $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ) e nitrato de magnésio ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ) e a mistura de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  e  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , a qual ficou conhecida como “modificador universal” por apresentar um bom desempenho para um grande número de elementos determinados por ET AAS. Sua aplicação é simples e ocorre quando concentrações da solução de modificador químico, de alta

pureza, são acrescentadas às amostras e aos materiais de referências, com auxílio do amostrador ou de uma micropipeta [59, 68].

Os modificadores permanentes são modificadores químicos que são introduzidos no tubo de grafite e sofrem um tratamento térmico adequado ou uma eletrodeposição, promovendo a modificação da superfície gráfica antes da introdução das amostras a serem analisadas [59].

Neste caso, o modificador e a amostra não são injetadas juntas, uma vez que o modificador já encontra-se depositado no tubo de grafite de forma permanente. Assim, este mesmo tubo pode ser usado para determinações em diversas alíquotas da amostra. Conseqüentemente favorece no aumento da freqüência analítica.

O número de elementos que têm potencial para serem utilizados como modificadores químicos permanentes, é de aproximadamente 16 elementos, dentre eles metais nobres de elevado ponto de ebulição (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru), elementos refratários (Hf, Mo, Nb, Re, Ta, Ti, V, W, Zr) ou formadores de carbetos (B, Si). As vantagens reconhecidas ao uso de modificadores permanentes são: simplicidade, menor custo, menor tempo para a determinação por ET AAS, menor risco de contaminação e baixos valores de absorbância em brancos, com conseqüente melhora nos limites de detecção [59, 69].

Em relação à modificação química convencional, a modificação química permanente apresenta as seguintes vantagens [59-7071]:

- Fácil e rápida obtenção da camada de modificador sobre a plataforma ou paredes do forno de grafite;
- Aumenta a velocidade da análise, pois elimina o tempo de secagem do modificador e a etapa de pipetagem do mesmo;
- Não necessita ser um sal de elevada pureza, pois ocorre limpeza *in situ* durante a obtenção da camada, acarretando em um menor custo da análise;

- Atua como catalisador (para halogenetos, ácidos, álcoois e outros sais) em matrizes complexas, permitindo a análise de algumas matrizes diretamente sem nenhuma ou com mínima digestão prévia;
- Geralmente, aumenta consideravelmente a vida útil do forno;
- Permite que o ET AAS se transforme em um Digestor Analisador Sequencial utilizados como modificadores químicos [72].

### 1.2.3 Corretor da radiação de fundo – Corretor Zeeman

O efeito da aplicação de um campo magnético a átomos que estão emitindo ou absorvendo, como o conseqüente desdobramento das linhas, foi descoberto em 1897 por Zeeman. Esse efeito é utilizado em espectrômetros de absorção atômica para a correção do fundo. No caso mais simples, chamado de efeito Zeeman normal, a linha se subdivide em três componentes: a componente  $\pi$  com 50 % de intensidade e duas componentes  $\sigma$  ( $\sigma^+$  e  $\sigma^-$ ) de maior e menor energia respectivamente, com 25 % da intensidade cada uma delas [59,73].

O campo magnético pode ser aplicado na nuvem atômica formada na fonte de radiação ou na nuvem atômica formada no atomizador. O primeiro caso é chamado de efeito Zeeman direto e não é empregado nos espectrômetros modernos. Quando o campo é aplicado no atomizador, denomina-se efeito Zeeman inverso [59].

### 1.3 PLANEJAMENTO FATORIAL

A utilização de ferramentas quimiométricas em Química Analítica, ou em outras áreas da Química, tornou-se uma atividade rotineira, devido principalmente a quantidade de informações geradas [74, 75] e a necessidade de otimização de determinada condição analítica [76] e o desenvolvimento de novas técnicas e instrumentação que permitem uma resposta de forma mais rápida [77]. Neste contexto, a aplicação de ferramentas estatísticas é de fundamental importância, principalmente para explorar e entender uma gama crescente de dados e informações originadas de um sistema [78].

A observação dos efeitos das variáveis e interações entre elas é de extrema importância para entender os processos que estão sendo monitorados em um determinado sistema [79, 80].

Existem dois métodos para otimização de métodos analíticos: a clássica, que utiliza o método univariado, no qual uma variável é otimizada por vez, enquanto que as demais são mantidas constantes; e a contemporânea, que utiliza métodos multivariados nos quais todas as variáveis são otimizadas simultaneamente [81].

O método univariado possui uma interpretação simples dos resultados, mas requer um maior gasto de reagentes, demanda de tempo, e não considera as interações entre os fatores [82]. Quando é empregada uma otimização univariada, não é possível detectar interações entre as variáveis estudadas [81].

Os métodos multivariados de otimização embora sejam de interpretação complexa tem a vantagem de serem mais rápidos, econômicos e efetivos. Apesar das vantagens que os métodos multivariados apresentam sobre o método univariado, a sua utilização na otimização de procedimentos analíticos popularizou-se somente nas últimas décadas.

### 1.3.1 Planejamento fatorial e a otimização multivariada

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística importante e simples. Planejamento fatorial em dois níveis é utilizado quando se deseja estudar os efeitos principais, e os efeitos das interações entre as variáveis em estudo sobre uma determinada resposta. Quando o efeito de uma variável depende do nível das outras variáveis, diz-se que há interação dessas variáveis. Nesse tipo de planejamento fatorial, as variáveis são denominadas fatores e cada fator varia em dois níveis, sendo o número de experimentos calculado pela expressão  $n^k$ , em que  $n$  é o número de níveis, e  $k$  o número de fatores, que é denominado planejamento fatorial  $2^k$  [83, 84].

Desta forma, um planejamento fatorial completo em dois níveis para quatro variáveis ( $2^4$ ) terá dezesseis experimentos mais pontos centrais. A Tabela gerada com as variáveis e os experimentos são conhecidos como matriz de planejamento, cujos sinais (+) e (-) correspondem aos valores codificados que representam o nível superior e o nível inferior de cada variável, respectivamente.

Recomenda-se a inserção de pontos centrais (0), no qual todas as variáveis assumem valores médios, onde, devem ser incluídos no intuito de obter uma estimativa de como erros aleatórios pode afetar os resultados e também para avaliar a curvatura [85].

Esse tipo de planejamento fatorial foi designado em 1978 por G. E. Box [79, 86] e é usado normalmente nos estágios iniciais de otimização de uma determinada pesquisa, permitindo o estudo de diversos fatores com um número reduzido de experimentos, onde, torna-se possível avaliar quais variáveis e suas possíveis interações, afetam sobre resposta, bem como, o grau de significância das mesmas.

A significância dos efeitos das variáveis e das possíveis interações entre elas podem ser avaliada através da aplicação da análise de variância (ANOVA) [87, 88], como também através do diagrama de Pareto, que se apresenta sob a

forma de um gráfico de barras horizontais, onde, representa os valores absolutos dos efeitos estimados, cortados por uma linha vertical correspondente a um intervalo de confiança de 95%. O valor de  $p$  (probabilidade estatística) indica quando o efeito é estatisticamente significativo ( $p > 0,05$ ).

Um efeito que excede esta linha de referência deve ser considerado como um efeito significativo sobre a resposta analítica. O efeito principal pode ser expresso como a diferença entre a resposta média no nível superior e a resposta média no nível inferior, podendo assumir valores positivos, indicando aumento da resposta analítica quando há deslocamento do nível inferior para o superior, ou negativo, indicando diminuição para a resposta analítica quando há deslocamento do nível superior para o inferior [89].

Apesar da eficiência dos planejamentos fatoriais completos, é importante salientar que quando o número de variáveis selecionadas para execução do planejamento for muito grande, o planejamento se tornará inviável devido ao grande número de experimentos a serem realizados.

#### 1.3.1.1 Modelos lineares e quadráticos

Como comentado no item 1.3 deste capítulo, o planejamento fatorial de dois níveis indica apenas quais variáveis e/ou interações influenciam o sistema, isto porque a relação funcional entre a resposta e os fatores estudados é uma equação de primeira ordem (**Equação 1**), que descreve um plano. Entretanto, para que se possa conhecer o ponto ótimo é necessário que a função polinomial possua termos quadráticos, ou seja, gere uma equação de segunda ordem (**Equação 2**).

$$Y = a + bA + cB + dAB \quad (\text{Equação 1})$$

$$Y = a + bA + cB + dA^2 + eB^2 + fAB \quad (\text{Equação 2})$$

Onde  $Y$  é a resposta experimental e  $A$  e  $B$  representam as variáveis a serem otimizadas. Na equação 1,  $a$  é um termo independente,  $b$  e  $c$  representam

coeficientes dos termos lineares e  $d$  o termo da interação entre **A** e **B**. Na equação 2,  $a$  é um termo independente,  $b$  e  $c$  representam coeficientes dos termos lineares  $d$  e  $e$  são os coeficientes dos termos quadráticos e  $f$  é o coeficiente do termo da interação.

Para se obter equações de segunda ordem utilizam-se planejamentos, dentre os mais comuns estão: desenho composto central, desenho Doehlert e desenho Box-Behnken [90]. Estes planejamentos são empregados após a realização do planejamento preliminar, onde apenas as variáveis significativas são consideradas.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal desta parte do trabalho é a otimização e validação de um método analítico para determinação de cádmio em vinhos brasileiros empregando a ET AAS.

### 2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimização multivariada dos parâmetros envolvidos no procedimento.
- Determinação direta de Cd em amostras de vinhos brasileiros.
- Avaliar preliminarmente os teores de Cd em amostras de vinhos brasileiros.
- Avaliar a forma físico-química de cádmio em vinho.

### 3 MATERIAIS E MÉTODO

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Durante todo o trabalho, o instrumento utilizado foi um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), Modelo AAS ZEE nit 600 (Analytik Jena AG, Jena Germany), equipado com um tubo atomizador de grafite com aquecimento transversal (THGA), com plataforma de grafite integrada (IGP) e correção de fundo (background) efeito Zeeman e amostrador automático Modelo MPE60 (Analytik Jena AG, Jena Germany), usado para introdução das soluções padrão e amostras, onde o espectrômetro compacto é controlado por um micro-computador. O espectrômetro apresenta uma configuração com aquecimento transversal e um microprocessador-modulado com campo magnético bipolar com três modos de correção.

O tubo de grafite utilizado possui uma plataforma integrada (PIN) recoberta com grafite pirolítico, conectada em um único ponto, proporcionando um contato mínimo com tubo e um aquecimento mais uniforme.

As medidas experimentais foram executadas utilizando uma lâmpada de cátodo oco (HCL) de cádmio (Varian, Austrália), usada como fonte de radiação com uma corrente de intensidade 3 mA e operando no comprimento de onda de 228,8 nm e largura da fenda espectral de 1,2 nm. Argônio com pureza de 99,997% (White Martins, Salvador, Brasil), foi empregado como gás de purga com taxa de fluxo de 2 L min<sup>-1</sup> durante todas as etapas, exceto na etapa de atomização do analito, onde o fluxo é interrompido.

Absorvância integrada (Absorvância integrada / s), baseada exclusivamente em área de pico foi usada exclusivamente para a evolução e quantificação do sinal analítico.

Os parâmetros de otimização do programa de temperatura do forno de grafite usado para todas as determinações estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Programa de temperatura para determinação de Cd usando tubo de grafite com aquecimento transversal e plataforma integrada (PIN).

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (°C s <sup>-1</sup> )	Tempo de permanência (s)
Secagem 1	110	15	10
Secagem 2	120	10	15
Secagem 3	140	5	10
Pirólise	-	100	20
Atomização	-	FP*	8
Limpeza	2300	FP*	6

\*FP = Potência Máxima.

### 3.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes e padrões utilizados foram de grau analítico (*Merck, Alemanha*):

- *Ácido Nítrico 60% (v/v) de grau Ultrapuro*, foi utilizado para a preparação de soluções ácidas em diferentes concentrações, as quais foram empregadas para a preparação das soluções padrão e as soluções de modificadores químicos.
- *Peróxido de hidrogênio 30% (v/v)*.
- Solução padrão de Cd e Pd (1000 mg L<sup>-1</sup>).

Para preparação das soluções padrão, foi utilizada água desionizada com a resistência específica de 18,2 MΩ cm<sup>-1</sup>, de um sistema de purificação de água de

um Milli-Q, (Milipore, Berford, MA, USA), acoplado a um destilador de água de vidro modelo 534 (Fisatom, Brasil).

As soluções padrão de trabalho foram preparadas por diluições consecutivas da solução padrão de Cd em ácido nítrico 0,1%.

Solução estoque do modificador paládio  $10,0 \pm 0,2 \text{ mg L}^{-1}$  Pd em ácido nítrico 15 % (v/v); a solução de modificador paládio adicionada às amostras e aos padrões foi preparada diluindo-se 0,5 mL da solução estoque ( $10,00 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ ) de paládio em balão volumétrico de 10 mL com água desionizada, resultando em uma concentração ácida final igual a 0,75 % (v/v).

### 3.3 LIMPEZA DO MATERIAL

Todas as vidrarias utilizadas no preparo das soluções, os copos do amostrador e as ponteiras das micropipetas foram previamente descontaminadas em um banho contendo solução de ácido  $\text{HNO}_3$  10 % (v/v), por no mínimo 24 h e depois lavadas com água desionizada antes da sua utilização.

### 3.4 AMOSTRAS

Trinta amostras de vinhos brasileiros tinto (suave e seco) e branco (suave e seco), de diversas regiões produtoras do Brasil, foram coletadas para análise. Todas as amostras foram adquiridas em um supermercado na cidade de Salvador-Bahia, no período de janeiro a outubro de 2008.

### 3.4.1 Análise direta

As amostras foram conservadas em local ventilado, somente no momento da análise as amostras foram homogeneizadas e abertas, em seguida foram transferidas para os copos do amostrador do equipamento, onde foram injetadas diretamente 20  $\mu$ L da amostra no tubo atomizador do ET AAS. A determinação de cádmio em amostras de vinhos não requereu preparo de amostras, uma vez que a matriz pode ser eliminada com sucesso na etapa de pirólise.

### 3.4.2 Digestão das amostras

O procedimento para pré-tratamento das amostras de vinho consistiu em digestão via úmida. Foram digeridas cinco amostras de vinho (em triplicata) mediante a utilização de um sistema composto de bloco de aquecimento, tubo digestor e “dedo frio”, o qual viabiliza um refluxo durante a digestão ácida das amostras. Foram utilizados no processo de digestão 5 mL de amostra, 600  $\mu$ L de ácido nítrico concentrado e 1200  $\mu$ L de peróxido de hidrogênio, sendo submetidos a uma temperatura de 150  $^{\circ}$ C, onde o processo de digestão foi conduzido em capela durante 1 hora e 30 minutos. Os digeridos obtidos foram transferidos para balões volumétricos de 10 mL e foram avolumados com ácido nítrico 0,1 %, para serem analisados no ET AAS.

As amostras foram digeridas para comparação com os resultados obtidos a partir da determinação direta das amostras de vinho.

### 3.4.3 Procedimento do estudo preliminar de especificação de cádmio

O procedimento foi realizado através do processo de batelada, onde, alíquotas de 10 mL da amostra de vinho foram adicionadas em recipientes hermeticamente fechados contendo a fase sólida (500 mg de carvão ativo) evitando assim, possível contaminação. O sistema foi submetido à agitação mecânica durante 15 minutos sob temperatura ambiente (25°C). Logo após, as amostras passaram por um processo de centrifugação, com objetivo de separar a fase sólida da solução residual, em seguida, a solução residual foi pipetada e transferida para o copo do amostrador, onde, foram realizadas as medidas empregando ET AAS.

## 3.5 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS

Um planejamento fatorial de dois níveis foi empregado com o objetivo de diminuir os números de experimentos relativos aos estudos das temperaturas de pirólise e atomização em ET AAS, baseando-se principalmente, no estudo prévio das principais variáveis que podem influenciar na determinação de cádmio em amostras de vinho por ET AAS. Estas variáveis incluíram: tempo e temperatura de pirólise, temperatura de atomização e massa do modificador químico.

Todas essas variáveis em estudo foram otimizadas de forma multivariada. Inicialmente, foi realizado um planejamento fatorial completo em dois níveis para quatro variáveis experimentais ( $2^4$ ) mais o ponto central (5 réplicas), e as variáveis selecionadas em seus níveis, superior (+1), ponto médio (0) e inferior (-1), representando os valores codificados. A Tabela 9 apresenta os valores reais e codificados das variáveis experimentais utilizados no experimento.

Tabela 9 - Valores reais (entre parênteses) e codificados das variáveis experimentais utilizadas no experimento.

Temperatura de Pirólise (°C)	Tempo de Pirólise (s)	Temperatura de Atomização (°C)	Massa do Modificador Pd (µg)
<b>-1</b> (600)	<b>-1</b> (10)	<b>-1</b> (1300)	<b>-1</b> (5)
<b>0</b> (700)	<b>0</b> (20)	<b>0</b> (1400)	<b>0</b> (10)
<b>1</b> (800)	<b>1</b> (30)	<b>1</b> (1500)	<b>1</b> (15)

Os níveis das variáveis para determinação de Cd em vinho foram baseados em trabalhos já publicados na literatura, livros didáticos e no “*cookbook*” do instrumento.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS

A aplicação de planejamento fatorial juntamente com emprego da técnica ET AAS baseia-se principalmente, no estudo prévio das principais variáveis que podem influenciar na determinação de cádmio em amostras de vinho por ET AAS. Na otimização das temperaturas de pirólise e atomização em ET AAS, é comum, inicialmente, fixar a temperatura de pirólise, variando-se somente a temperatura de atomização. Em seguida, depois de encontrar a melhor temperatura de pirólise, a temperatura de atomização é variada. Neste tipo de procedimento, alguns resultados e interpretações incompletas podem ocorrer, devido ao fato de que os efeitos de interação entre as variáveis não são explorados.

Desta forma, a escolha das melhores condições experimentais foi realizada empregando planejamento fatorial no intuito de diminuir os números de experimentos relativos aos estudos das temperaturas de pirólise e atomização em ET AAS, baseando principalmente no estudo prévio das principais variáveis que podem influenciar na determinação de cádmio em amostras de vinho por ET AAS, tais como: tempo e temperatura de pirólise, temperatura de atomização, massa do modificador químico.

Todas essas variáveis em estudo foram otimizadas de forma multivariada. Inicialmente foi realizado um planejamento fatorial completo em dois níveis para quatro variáveis experimentais ( $2^4$ ) mais ponto central (5 réplicas), e as variáveis selecionadas em seus níveis, superior (+1) e inferior (-1), significando os valores codificados os quais estão apresentados na Tabela 10.

Na execução do planejamento fatorial é importante ressaltar que os experimentos foram executados em ordem aleatória, para evitar a ocorrência de erros sistemáticos. Os resultados foram obtidos em medidas de absorvância



integrada em área de pico, para o sinal de cádmio na amostra de vinho, onde encontram-se presente na Tabela 10.

Tabela 10 - Matriz do planejamento fatorial em dois níveis ( $2^4$ ).

Experimento	Temperatura de Pirólise (°C)	Tempo de Pirólise (s)	Temperatura de Atomização (°C)	Massa do Modificador Pd (µg)	Absorvância Integrada / s
1	-1 (600)	-1 (10)	-1 (1300)	-1 (5)	0,07677
2	1 (800)	-1 (10)	-1 (1300)	-1 (5)	0,05289
3	-1 (600)	1 (30)	-1 (1300)	-1 (5)	0,07436
4	1 (800)	1 (30)	-1 (1300)	-1 (5)	0,03625
5	-1 (600)	-1 (10)	1 (1500)	-1 (5)	0,06372
6	1 (800)	-1 (10)	1 (1500)	-1 (5)	0,04699
7	-1 (600)	1 (30)	1 (1500)	-1 (5)	0,06137
8	1 (800)	1 (30)	1 (1500)	-1 (5)	0,03924
9	-1 (600)	-1 (10)	-1 (1300)	1 (15)	0,07714
10	1 (800)	-1 (10)	-1 (1300)	1 (15)	0,06716
11	-1 (600)	1 (30)	-1 (1300)	1 (15)	0,07568
12	1 (800)	1 (30)	-1 (1300)	1 (15)	0,06244
13	-1 (600)	-1 (10)	1 (1500)	1 (15)	0,06401
14	1 (800)	-1 (10)	1 (1500)	1 (15)	0,05838
15	-1 (600)	1 (30)	1 (1500)	1 (15)	0,06150
16	1 (800)	1 (30)	1 (1500)	1 (15)	0,04464
17	0 (700)	0 (20)	0 (1400)	0 (10)	0,06723
18	0 (700)	0 (20)	0 (1400)	0 (10)	0,06759
19	0 (700)	0 (20)	0 (1400)	0 (10)	0,06647
20	0 (700)	0 (20)	0 (1400)	0 (10)	0,06854
21	0 (700)	0 (20)	0 (1400)	0 (10)	0,06812

Os valores entre parêntesis representam os valores reais.

Os dados obtidos foram tratados empregando o programa STATÍSTICA 6.0. Desta forma são obtidas operações matemáticas muito simples para os cálculos dos efeitos, conforme mostram os resultados presentes no diagrama de Pareto, ilustrado na Figura 3.

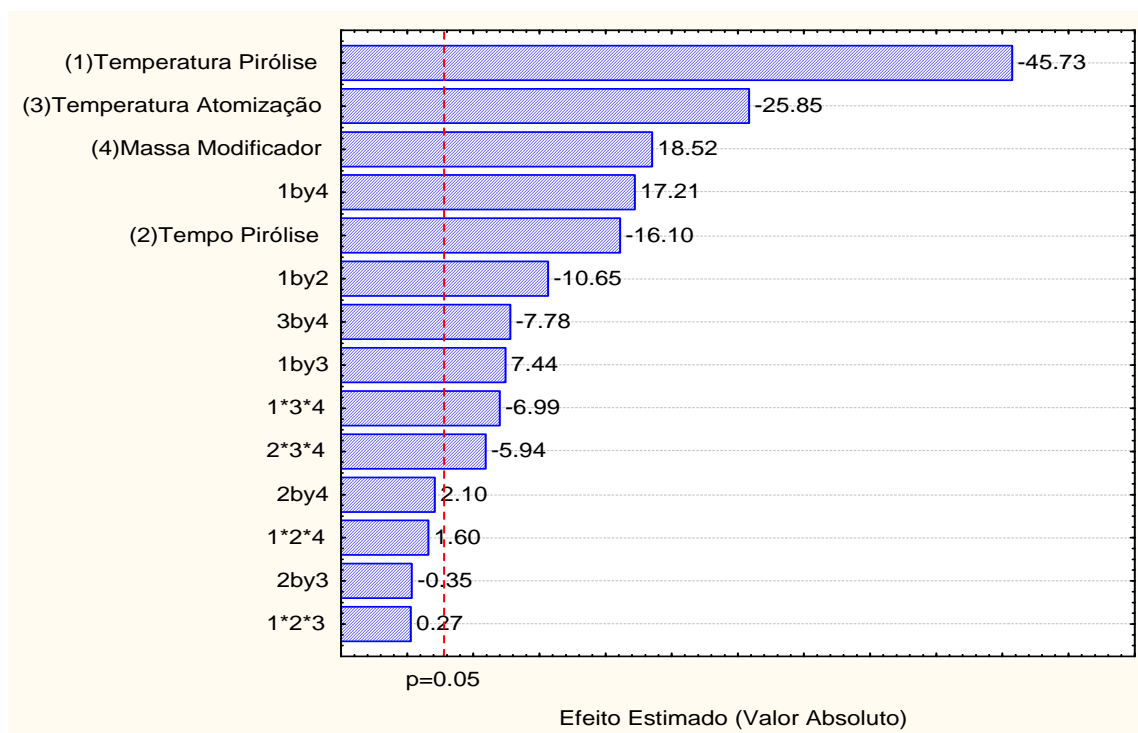


Figura 3 - Diagrama de Pareto para os fatores (1) temperatura de pirólise; (2) tempo de pirólise; (3) temperatura de atomização; (4) massa do modificador, obtidos com um volume fixo 20 µL de amostra de vinho para determinação de Cd.

Assim, torna-se possível conhecer qual a influência que essas variáveis e suas interações possuem sobre a resposta analítica. Adicionalmente, obtêm-se informações mais conclusivas sobre os dados obtidos.

A linha vertical (pontilhada em vermelho) apresentada na Figura 3 é conhecida como linha de referência. Efeitos que excedem esta linha de referência

devem ser considerados como significativos sobre a resposta, com um intervalo de confiança de 95% ( $p > 0,05$ ).

Sendo assim, todas as variáveis estudadas apresentaram efeitos significativos para a determinação de Cd em amostras de vinhos (Figura 3). As variáveis temperatura de pirólise, temperatura de atomização e tempo de pirólise apresentaram efeito estimado negativo, ou seja, quanto menor as temperaturas de pirólise e de atomização, e o tempo de pirólise, melhor a resposta obtida dentro do domínio experimental. Já com relação à variável massa do modificador o efeito estimado foi positivo, ou seja, quanto maior a massa do modificador, melhor a resposta obtida dentro do intervalo estudado.

O diagrama de Pareto indica que as melhores respostas em termo de absorvância integrada são obtidas quando são utilizadas em seu nível inferior as variáveis: temperatura de pirólise  $T_p = 600 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura de atomização  $T_a = 1300 \text{ }^\circ\text{C}$  e tempo de pirólise 10 s. Já a massa do modificador químico Pd em seu nível superior, 15  $\mu\text{g}$ . Todas essas condições previamente otimizadas foram empregadas nos experimentos futuro, na determinação direta de cádmio em amostras de vinho.

Os dados são concordantes com os resultados obtidos pelo método convencional (univariado) das curvas de temperatura de pirólise e atomização, quando são utilizados massa do modificador 15  $\mu\text{g}$  e tempo de pirólise 10 s, conforme mostrado na Figura 4.

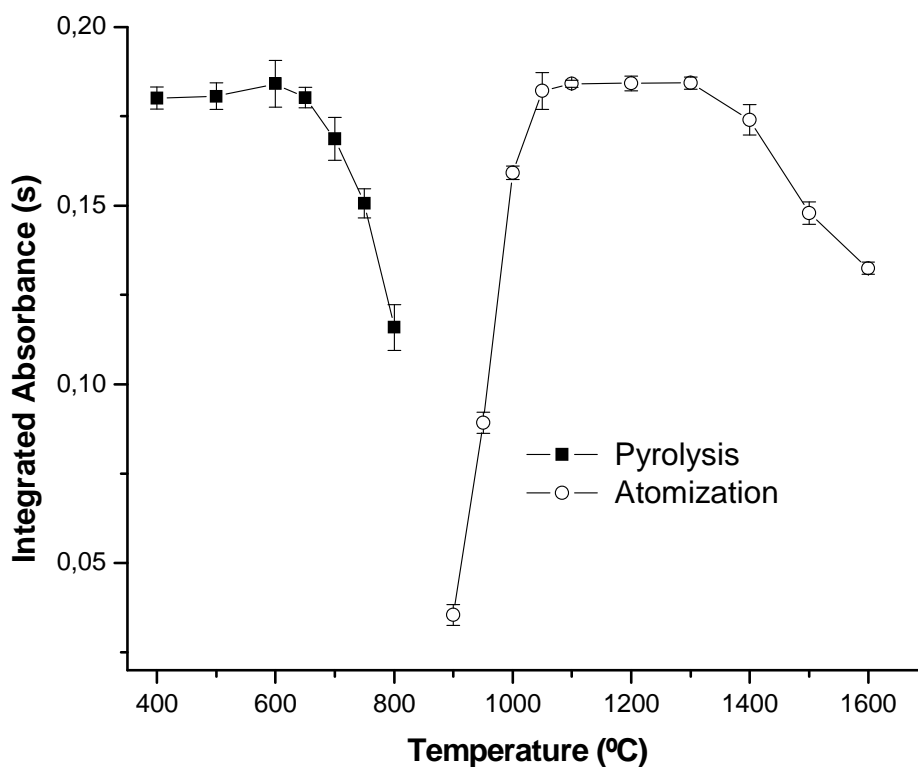


Figura 4 - Curvas de temperaturas para 20 $\mu$ L de vinho Cabernet Sauvignon: Pirólise ( $T_a = 1200\text{ }^\circ\text{C}$ ) e Atomização ( $T_p = 600\text{ }^\circ\text{C}$ ), usando 1 5  $\mu\text{g}$  do modificador químico Pd e tempo de atomização 10 s.

## 4.2 CURVA ANALÍTICA

A inclinação da curva analítica estabelecida com padrões aquosos ( $0,084 \pm 0,002$ ,  $n = 3$ )  $\text{L } \mu\text{g}^{-1}$ , foi sempre menor do que o obtido para amostras de vinho usando a técnica de calibração com adição do analito, apesar do mesmo modificador ter sido utilizado em todos os casos. Por esta razão, a inclinação da curva de adição foram determinada para seis amostras de vinho, e os valores foram de 0,130; 0,121; 0,114; 0,115; 0,123 e 0,123  $\text{L } \mu\text{g}^{-1}$ . Todas as outras amostras de vinhos foram analisadas utilizando a inclinação média de ( $0,121 \pm$

0,006,  $n = 6$ )  $L \mu g^{-1}$ , calculado para as seis amostras selecionadas, onde foram empregadas nos experimentos futuros para a quantificação de cádmio nas diferentes amostras de vinho.

Para a determinação de cádmio em vinho, foram obtidas curvas de calibração empregando a técnica de adição do analito no intuito de eliminar o efeito de matriz, por se tratar de uma amostra complexa como a matriz do vinho. A inclinação média da curva de calibração obtida pela técnica de adição de analito é aproximadamente 45% maior que a inclinação das curvas de calibração com padrões aquosos.

A menor sensibilidade da curva de calibração com padrão aquoso pode ser explicada pela condensação ou perdas do analito na etapa de pirólise, já que um menor número de átomos do analito, na forma de vapor, é encontrado no volume de absorção. Sendo assim, através dos resultados obtidos pode-se supor que o vinho também atua como modificador químico, durante a determinação de cádmio em amostra de vinho.

Cabe ressaltar que, tanto as curvas de calibração com padrões aquosos quanto às curvas de calibração envolvendo a técnica de adição do analito foram construídas na presença do modificador químico paládio e conforme programa de temperatura previamente otimizada (Tabela 8).

As curvas de calibração com a técnica de adição do analito foram construídas a partir das adições padrão de cádmio na amostra de vinho (volume fixo da amostra 20  $\mu L$ ), variando a concentração de cádmio 0,5 a 2,5  $\mu g L^{-1}$ , sendo obtidas a partir das medidas em triplicatas, os valores de absorvâncias integradas para as diferentes concentrações de cádmio.

### 4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

#### 4.3.1 Limites de detecção e de quantificação

Uma característica importante de um método ou uma técnica analítica é o limite de detecção (LOD), uma designação alternativa recomendada pela IUPAC a qual significa o valor mínimo detectável. O limite de detecção é estimado por 3 vezes a razão entre o desvio padrão da resposta de um branco e a inclinação da curva analítica. [59, 91].

O LOD é normalmente, determinado através da medida de 10 brancos da amostra, onde pode ser representado pela equação:

$$\text{LOD} = 3\sigma/s$$

onde,  $\sigma$  é o desvio padrão calculado através dos sinais analíticos obtido pelo branco, ou o desvio padrão da intersecção da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e, o  $s$  é a inclinação ("slope") ou coeficiente angular da curva de calibração, também conhecido como sensibilidade [91,92].

Para fazer o cálculo do limite de detecção, foram realizadas injeções da solução do branco na plataforma do tubo de grafite, juntamente com o modificador químico, assim o valor obtido foi igual a  $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $n=10$ ). O valor encontrado é concordante com dados reportados na literatura [59].

O limite de quantificação (LOQ) pode ser definido como a menor massa ou concentração do analito que pode ser determinada quantitativamente, com um risco de erro de 5%, É matematicamente expressa pela razão entre o desvio padrão do sinal do analítico do branco (obtidos por no mínimo 10 medidas), multiplicado pelo um fator de dez, dividido pela inclinação da curva analítica [91,92], onde pode ser expressa pela equação:

$$\text{LOQ} = 10\sigma/s$$

em que,  $\sigma$  é o desvio padrão da resposta do branco e  $s$  é o coeficiente angular da curva analítica de calibração. O limite de quantificação obtido foi igual a  $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $n=10$ ).

#### 4.3.2 Massa característica

Na atomização eletrotérmica, um volume definido da amostra é dispensado dentro do atomizador e a temperatura vai sendo aumentada para remover o solvente e a maioria dos concomitantes antes da atomização. A alíquota introduzida dentro do tubo de grafite é atomizada em um tempo muito curto (tipicamente 1 s) e um sinal transiente é estabelecido, cuja área (absorvância integrada) é proporcional à massa do analito na solução medida. Tendo em vista que o sinal observado em ET AAS depende da massa do analito, o termo “massa característica” é usado como uma medida da sensibilidade do forno para um dado analito. A massa característica de um analito é definida como a massa do analito necessária para produzir um sinal, absorvância versus tempo, com área integrada de 0,0044 s, ou seja, 1 % de absorção [59]. A massa característica é calculada de acordo com a seguinte equação:

$$m_o = \frac{\text{Volume de padrão injetado } (\mu\text{L}) \times \text{Concentração do analito } (\mu\text{g L}^{-1}) \times 0,0044}{\text{Abs média}}$$

onde,  $m_o$ , é a massa característica, e **Abs medida** é o sinal de absorvância integrada medido para o padrão empregado. O valor da massa característica encontrada foi de 0,70 pg.

### 4.3.3 Precisão

A precisão mede o grau de incerteza de um método analítico, originada da dispersão das respostas instrumentais e da execução dos procedimentos. A precisão é um termo geral para avaliar a proximidades dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma amostra. Os três modos de expressa-lá são por meio da repetitividade (precisão intra-corrída), precisão intermediária (precisão inter-corrídas) e a reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial) [59, 93, 94]. A precisão de um método analítico usualmente é expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (%RSD), ou ainda pelo coeficiente de variação (CV) de uma série de medidas. O RSD pode ser calculado conforme a equação abaixo:

$$\text{RSD} = \frac{\sigma}{\text{CMD}} 100\%$$

em que,  $\sigma$ , é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada para uma série de medidas analíticas.

A precisão neste trabalho foi expressa como o desvio padrão relativo (%RSD), baseada em sete determinações repetitivas ( $n=7$ ), sendo avaliada três amostras de vinho onde, a concentração de cádmio presente nas amostras eram 1,29, 0,27 e 0,36  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A precisão obtida foi de 0,30%, 0,37% e 0,49%, respectivamente. O valor obtido está de acordo com o esperado para a análise direta. O RSD encontrado para as amostras em estudo pode ser considerado excelente, quando se trata em determinação direta de elemento traço em amostras complexas como o vinho.



#### 4.3.4 Exatidão

A exatidão de um método analítico é confirmada pela proximidade dos resultados individuais encontrados em um determinado método, em relação a um valor verdadeiro de referência, ou a um valor aceito como o mais provável. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de métodos, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico são: uso de materiais de referência certificados, materiais de referência, participação em comparações interlaboratoriais, comparação de métodos, ensaio de adição/recuperação [59, 93].

Para a obtenção de resultados analíticos confiáveis para determinação de cádmio em amostras de vinho por ET AAS, a exatidão desse método foi avaliada através da comparação dos resultados obtidos entre o método de determinação direta e por meio da digestão ácida. Os resultados obtidos por ambos os métodos estão mostrados na Tabela 11.

Tabela 11 - Comparação dos resultados obtidos para determinação de Cd por ET AAS, através de determinação direta e por digestão ácida.

Amostra	Concentração de Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	
	Introdução direta	Digestão ácida
Cabernet Sauvignon	1,286 $\pm$ 0,001	1,428 $\pm$ 0,008
Chardonnay	0,615 $\pm$ 0,003	0,681 $\pm$ 0,001
Tannat	0,706 $\pm$ 0,003	0,713 $\pm$ 0,006
Sauvignon Blanc e Chardonnay	0,766 $\pm$ 0,001	0,759 $\pm$ 0,001
Merlot	0,598 $\pm$ 0,002	0,563 $\pm$ 0,008

O método de regressão linear foi usado para comparar os resultados obtidos entre dois métodos e a equação expressa com intervalos de confiança foi:

$$\text{[Método de digestão]} = 1,20 \pm 0,27 \text{ [Método direto]} - 0,12 \pm 0,22, r = 0,9926$$

Estes resultados demonstram que a inclinação e o intercepto calculado não diferem significativamente a partir do “ideal” valores de 1 e 0 respectivamente, ficou evidenciando que não há uma diferença sistemática entre os dois métodos para determinação de cádmio em vinho.

Os resultados obtidos foram comparados através da análise estatística aplicando-se o teste *t-student* pareado com múltiplas amostras, com nível de confiança de 95%, onde  $t_{\text{calculado}} = 0,11$  apresentou-se menor que o  $t_{\text{tabelado}} = 2,78$ , para as amostras de vinho analisadas. Assim, a comparação estatística mostrou que não houve diferença significativa entre os dois métodos desenvolvidos.

#### 4.3.5 Resumo das figuras de méritos obtidos para o método proposto

O desenvolvimento do método para determinação direta de Cd em amostras de vinho por ET AAS apresentou boa precisão e exatidão, baixo limite de detecção e quantificação, massa característica concordante com a estabelecida pela literatura, com o empregado de 15 µg paládio como modificador químico.

Na Tabela 12 estão apresentadas as principais figuras de mérito obtido para o método proposto.

Tabela 12 - Figuras de mérito do método para determinação direta de Cd em amostras de vinho por ET AAS.

Figuras de mérito	
LOD	0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$
LOQ	0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$
$m_0$	0,7 pg
Precisão (% RSD) <sup>a</sup>	0,30 <sup>b</sup> ; 0,37 <sup>c</sup> e 0,49 <sup>d</sup>
Coeficiente de determinação ( $R^2$ )	0,9992
Inclinação da curva	$A = 0,121C_{\text{Cd}}$

a - Desvio padrão relativo (N=7). b, c e d – RSD calculado em amostras de vinho com concentração de 1,29; 0,27 e 0,36  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

#### 4.4 ANÁLISE DE AMOSTRAS DE VINHO

Foram realizadas as quantificações de cádmio em 30 diferentes amostras de vinhos brasileiros, utilizando a inclinação média da curva de calibração com adição do analito “ $A_{\text{int}} = 0,121C_{\text{Cd}}$ ”. Os resultados das quantificações estão apresentados na Tabela 13.

Observou-se que a matriz do vinho, promove um ganho significativo no sinal da absorvância integrada do cádmio e, também, na inclinação das curvas de calibração. Este efeito é significativamente diferente entre o vinho não digerido (injetado diretamente sem nenhum tratamento), e aqueles submetidos à digestão ácida, e foi muito semelhante para todas as amostras de vinhos investigadas no estudo.

Tabela 13 - Descrição das amostras e as concentrações de Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) para amostras de vinhos brasileiros obtidos através do método de determinação direta utilizando 15  $\mu\text{g}$  de modificador químico Pd, temperatura de pirólise 600  $^{\circ}\text{C}$ , temperatura de atomização 1300  $^{\circ}\text{C}$ .

Amostra	Vinho	Origem	Tipo da uva	Concentração de Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
1	T. seco	São Francisco	Cabernet Sauvignon	1,286 $\pm$ 0,001
2	T. seco	São Francisco	Cabernet Sauvignon	1,563 $\pm$ 0,001
3	T. seco	São Francisco	Shirah	0,356 $\pm$ 0,001
4	T. seco	São Francisco	Cabernet Sauvignon	0,266 $\pm$ 0,002
5	T. seco	São Francisco	Tannat	0,546 $\pm$ 0,004
6	T. seco	Bento Gonçalves	Cabernet Sauvignon	0,556 $\pm$ 0,002
7	T. suave	São Francisco	Cabernet Sauvignon e Shirah	0,485 $\pm$ 0,002
8	T. suave	Caxias do Sul		0,377 $\pm$ 0,004
9	T. suave	Caxias do Sul		0,356 $\pm$ 0,001
10	B. seco	Bento Gonçalves	Chardonnay	0,615 $\pm$ 0,003
11	B. seco	Bento Gonçalves		0,468 $\pm$ 0,002
12	B. suave	Bento Gonçalves		0,706 $\pm$ 0,003
13	B. suave	São Francisco	Sauvignon Blanc e Chardonnay	0,766 $\pm$ 0,001
14	B. suave	Caxias do Sul		0,333 $\pm$ 0,001
15	B. suave	Caxias do Sul		0,364 $\pm$ 0,001
16	B. suave	São Francisco	Moscato Canelli	0,308 $\pm$ 0,006
17	B. seco	São Francisco	Chenin Blanc	0,306 $\pm$ 0,003
18	B. seco	Campanha	Sauvignon Blac	0,197 $\pm$ 0,001
19	T. seco	Santana do Livramento	Cabernet Franc	0,414 $\pm$ 0,001
20	T. seco	Caxias do Sul	Merlot	0,461 $\pm$ 0,002
21	T. seco	Caxias do Sul	Tannat	0,462 $\pm$ 0,002
22	T. seco	Bento Gonçalves	Gamay	< 0,100
23	T. seco	Bento Gonçalves	Merlot	0,598 $\pm$ 0,002
24	B. seco	Bento Gonçalves	Chardonnay	0,307 $\pm$ 0,001
25	B. seco	Campanha	Riesling	0,338 $\pm$ 0,001
26	T. seco	Caxias do Sul	Cabernet Sauvignon	0,209 $\pm$ 0,002
27	T. seco	S. Bernardo do Campos	Cabernet Franc	0,221 $\pm$ 0,001
28	T. suave	Bento Gonçalves	Cabernet Franc	0,507 $\pm$ 0,001
29	T. seco	Santana do Livramento	Merlot	0,289 $\pm$ 0,002
30	T. seco	Bento Gonçalves	C abernet Sauvignon, Merlot e Pinot Noir	0,146 $\pm$ 0,001

\*Desvio padrão (n = 3); T = tinto; B = branco

Conseqüentemente foi possível corrigir este efeito usando a técnica de adição do analito, ou seja, usando a inclinação média da curva de calibração com adição do analito para algumas amostras de vinho selecionadas. O problema causado pela interferência não-espectral depende da natureza da amostra, ou seja, da constituição da matriz, sendo assim, o problema pode ser reduzido pela simples diluição da amostra.

A concentração de cádmio nas amostras analisadas variou de 0,146 a 1,56  $\mu\text{g L}^{-1}$ , conforme os resultados mostrados na Tabela 13.

A concentração média de cádmio nas amostras de vinho analisada, são expressas com intervalo de confiança ( $n=3$ ), com nível de 95 % de confiabilidade conforme demonstra o histograma (Figura 5), uma distribuição uniforme dos resultados segundo uma distribuição normal, cuja média dos valores é  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$

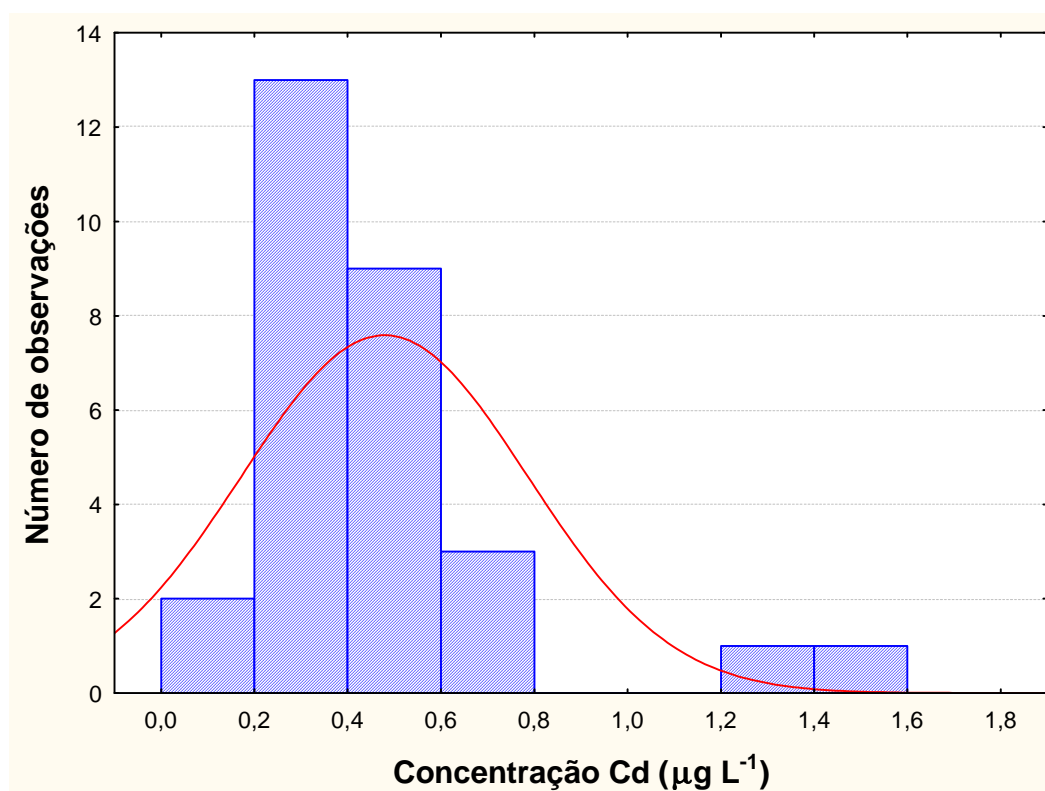


Figura 5 - Histograma do teor de cádmio em amostras de vinho brasileiro.

A concentração de cádmio encontrada nos vinhos brasileiro foi sempre inferior ao valor máximo permitido pela OIV e também pela legislação brasileira, que é de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .

A determinação direta da amostra foi empregada neste trabalho por apresentar vantagens como: amostra é injetada diretamente no tubo atomizador, menor risco de contaminação, um pequeno volume de amostra é requerida (apenas  $20 \mu\text{L}$ ), sensibilidade (2-3 ordens de grandeza melhor comparada com determinação usando a espectrometria de absorção atômica com chama).

#### 4.5 ESTUDO DA FORMA FÍSICO-QUÍMICA DO CÁDMIO

As concentrações de Cd nas amostras analisadas foram previamente determinadas através do método proposto. O percentual de sorção foi calculado tomando-se como base a concentração inicial de Cd presente nas amostras. Com base nos resultados obtidos, pode-se observar que as concentrações de Cd, nas soluções residuais do processo de extração com carvão ativo, sofreram uma redução de mais de 90 %, conforme demonstra a Tabela 14.

Tabela 14 - Concentrações de Cd presentes nas soluções residuais e o percentual de Cd após a extração empregando carvão ativo e quantificação por ET AAS.

Amostra	Concentração de Cd	Concentração de Cd	Percentual de Cd
	( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	(%)
	Método proposto	Solução residual	Carvão Ativo
Vinho Tinto A	1,286 $\pm$ 0,001	0,104 $\pm$ 0,002	92
Vinho Tinto B	1,563 $\pm$ 0,001	0,112 $\pm$ 0,005	93
Vinho Branco A	0,615 $\pm$ 0,003	< 0,10 <sup>*</sup>	100
Vinho Branco B	0,706 $\pm$ 0,003	< 0,10	100
Vinho Branco C	0,766 $\pm$ 0,001	< 0,10	100

\* < LOQ 0,10.

O Cd em vinho encontra-se provavelmente na forma de organometálico, fato este observado que supostamente o Cd encontra-se associado a moléculas orgânicas, que por sua vez foram completamente sorvidos pelo carvão ativo, isso é uma boa indicação, pois a complexação tende a reduzir a toxicidade deste metal.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A determinação de cádmio em vinho é de fundamental importância por se tratar de um elemento tóxico mesmo em baixa concentração, sendo de grande importância para o controle da qualidade e da autenticidade dos vinhos.

A determinação direta não envolve etapa de preparo de amostra, evitando assim contaminações, além de ser uma etapa laboriosa.

As condições experimentais estabelecidas para o planejamento fatorial em dois níveis para determinação de cádmio empregando ET AAS são muito semelhantes às condições obtidas usando a metodologia convencional univariada para curvas de temperatura de pirólise e de atomização. Entretanto, a otimização usando planejamento fatorial possibilita fazer a determinação de condições experimentais com poucos experimentos, obtendo informações para todos os quatro fatores envolvidos no processo.

Os métodos multivariados de otimização, apesar de ser de interpretação complexa, são mais rápidos, econômicos e efetivos, pois proporciona melhor otimização de todas as variáveis com o menor número de experimentos.

A ET AAS mostrou ser uma técnica adequada para a determinação de Cd em amostras de vinho, devido à sua simplicidade, seletividade, alta sensibilidade, tolerância a matrizes complexas e conseqüentemente a introdução direta da amostra.

Foi possível corrigir a interferência da matriz empregando a técnica de calibração com adição do analito.

A concentração média de Cd em amostras de vinhos brasileiro foi  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ .



A concentração de cádmio encontrada nos vinhos brasileiro foi sempre inferior ao limite máximo fixado pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) e, também, pela Legislação Brasileira que é de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .

---

## **CAPITULO III**

---

## **CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE Cu, Fe, Zn e Mn EM AMOSTRAS DE VINHO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E QUANTIFICAÇÃO POR FAAS**

### **1 INTRODUÇÃO**

A determinação de metais traço em vinho é de grande importância devido à sua toxicidade e a biodisponibilidade dos mesmos. Alguns constituintes inorgânicos podem afetar todo o processo de produção do vinho e influenciar nas propriedades organolépticas e na qualidade do produto final [31].

Assim, a investigação da presença de metais contaminantes em vinhos, no que diz respeito aos níveis de ocorrência, evolução ao longo do processo tecnológico, identificação de fontes de contaminação e ao próprio desenvolvimento de métodos de análise apropriados ao seu doseamento, tem beneficiado enormemente a desenvolvimento de técnicas analíticas cada vez mais poderosas. Esses estudos, interpretação e significado dos seus resultados apresentam, além do inegável interesse acadêmico, relevância sob o ponto de vista tecnológico, nutricional e especialmente segurança alimentar [17].

Métodos analíticos envolvendo a utilização de resinas de troca iônica são considerados procedimento efetivo na remoção de metais em vinho, sem produzir alterações significativas nas características organolépticas e na qualidade do produto final [95]. Carvão ativo também é bastante empregado no processo de extração como adsorvente, devido suas características analíticas, em especial devido sua elevada capacidade adsortiva.

Benítez e colaboradores desenvolveram um método alternativo, para redução do conteúdo total de metais em vinho branco, sem alterar suas características organolépticas, utilizando duas resinas de troca iônica: uma com o grupo ativo iminodiacetato e outra de troca catiônica ácida, a dowex. Essas resinas demonstraram ser eficiente na redução do teor de Fe, Cu e Mn em vinho

branco. Os vinhos tratados exibiram uma redução suscetível ao efeito “*browning*”. Entretanto, em ambos os casos, não foram observadas perdas nas características organolépticas dos vinhos tratados [95].

Kern e colaboradores estudaram os principais fatores que afetam na remoção de metais em vinho, usando uma resina de troca iônica com grupo ativo iminodiacético. A aplicação dessa resina na remoção de metais em vinho mostrou uma efetiva redução nos níveis de ferro, cobre e zinco em bebidas [96].

Segundo Minhua e colaboradores, ultimamente as resinas quelantes tem sido bastante empregadas em muitos trabalhos, por apresentar alta seletividade por íons ferro, promovendo assim, redução efetiva do conteúdo de mais de 99,5% em vinho [97].

## 1.1 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

Diversas técnicas de separação têm sido aplicadas no pré-tratamento de amostras, dentre elas destacam-se a extração em fase sólida, extração líquido-líquido, coprecipitação, etc. A utilização da extração em fase sólida (SPE) tem sido amplamente difundida nas mais diversas atividades de pesquisa [98,99]. A separação seletiva e a pré-concentração de metais traço nos mais diversos tipos de amostras têm sido extensivamente investigadas com um grande número de suporte sólidos.

O carvão ativo e as resinas de troca iônica podem ser considerados os primeiros suportes sólidos utilizados em propósitos analíticos, constituindo o primeiro grupo de suportes sólidos, que revolucionou a utilização de método de SPE e rapidamente se tornou um dos materiais mais utilizados para diversos tipos de aplicações [100].

O conhecimento das propriedades adsorptivas das superfícies sólidas como o carvão ativo, revela que este material é indicado para uma grande variedade de

compostos com diversa polaridade, possuindo elevada capacidade de retenção [100].

### 1.1.1 Carvão ativado

Carvões ativados são materiais carbonáceos porosos que apresentam uma forma microcristalina, não grafítica, que sofreram um processamento para aumentar a porosidade interna e conseqüentemente aumentar seu poder de sorção [101].

#### 1.1.1.1 Propriedades do carvão ativado

Uma vez ativado, o carvão apresenta uma porosidade interna comparável a uma rede de túneis que se bifurcam em canais menores e assim sucessivamente. Essa porosidade é classificada segundo o diâmetro médio dos poros: macro, meso e microporosidade. Todos os carvões ativados contêm micro, meso e macroporos em sua estrutura, mas a proporção relativa varia consideravelmente de acordo com o precursor e processo de fabricação utilizado. Esses materiais são adsorventes únicos e versáteis devido à alta porosidade desenvolvida, o que lhe confere área superficial elevada [102, 103].

### 1.1.2 Resina de troca iônica

A troca iônica pode ser definida como um processo reversível no qual íons de mesmo sinal são permutados entre uma solução e um corpo sólido. A resina de troca iônica (Figura 6) é um polímero orgânico insolúvel em água, ao qual estão ligados um grande número de grupamentos ativos capazes de permutarem seus próprios íons com íons de carga semelhante da solução com a qual está em

contato, sem que sofra mudança na sua estrutura. As resinas catiônicas possuem grupamentos ativos ácidos do tipo R-COOH e R-SO<sub>3</sub>H e tem a capacidade de intercambiar o H<sup>+</sup> por cátions. Já, as resinas aniônicas possuem grupamentos ativos do tipo R-NH<sub>2</sub>, e tem a capacidade de receber um próton formando R-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> e assim atrair anions eletrostaticamente [104].

O número de grupamentos ativos presentes na resina irá determinar a capacidade trocadora da resina. Em geral, esta capacidade é expressa em milimoles de metal trocado por grama da resina seca ou por mililitro da resina completamente embebida. As resinas de troca iônica são disponíveis comercialmente na forma de partículas de dimensões pequenas, de modo a proporcionar grande superfície de contato, variando o diâmetro das partículas entre 0 a 50 mesh ou 100 a 200 mesh, são satisfatório [60]. A troca iônica pode ser efetuada através de operação em batelada.



Figura 6. Resina de troca iônica.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal desse estudo foi à caracterização e determinação de Cu, Fe, Zn e Mn em amostras de vinho empregando extração em fase sólida.

### 2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação do carvão ativo e resinas de troca iônica como fase sólida na extração de Cu, Fe, Zn e Mn em amostras de vinho.
- Quantificação de íons Cu, Fe, Zn e Mn em amostras de vinhos, após o processo de extração destes utilizando carvão ativo e resinas de troca iônica, empregando FAAS.

### 3 MATERIAIS E MÉTODO

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO E ACESSÓRIOS

As determinações de Cu, Fe, Zn e Mn, foram efetuadas em um espectrômetro de absorção atômica em chama, modelo SpectrAA 220FS Varian (Mulgrave, Victória, Austrália). Esse equipamento possui uma lâmpada de Deutério para correção de sinais de fundo. Equipado com queimador de pré-mistura, nebulizador concêntrico e sistema de nebulização pneumática. O Espectrômetro utiliza lâmpadas de cátodo oco (HCL), como fonte de radiação. As lâmpadas utilizadas foram multielementar contendo os elementos Cu, Fe, e Mn e outra monoelementar de Zn, marca Varian (Mulgrave), onde foram utilizadas nos comprimentos de selecionados, Cu 324,8 nm, Fe 248,3 nm, Zn 213,9 nm e Mn 279,5 nm e resoluções espectrais de 0,5 nm, 0,2 nm, 1,0 nm e 0,2 nm, respectivamente. As condições operacionais do espectrômetro foram empregadas segundo recomendações do fabricante estão apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 - Parâmetros operacionais do FAAS.

Parâmetros	Condições
Corrente da lâmpada (mA)	10
Altura do queimador (mm)	13,5
Vazão do acetileno (L <sup>-1</sup> , min)	2,0
Vazão de ar (L <sup>-1</sup> , min)	13,5
Taxa de aspiração (mL <sup>-1</sup> , min)	5,5



### 3.1.1 Outros equipamentos utilizados

- Bloco digestor (Tecnal, Modelo TE-040/25 com capacidade para 40 tubos digestores);
- Placa de aquecimento QUIMIS Q 313/22 (Diadema, São Paulo, Brasil);
- Centrífuga Eppendorf, modelo 5410;
- Balança analítica Sartorius Ag (Gottingen, Alemanha);
- Agitador mecânico vortex (shaker) modelo 37600 Mixer (Thermolyne, EUA);

### 3.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Água desionizada com a resistência específica de  $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ , de um sistema de purificação de água de um Milli-Q, (Milipore, Bedford, MA, USA), acoplado a um destilador de água de vidro modelo 534 (Fisatom, Brasil), foi utilizada para preparação das soluções padrões.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico:

- *Ácido nítrico 60% (v/v) de grau Ultrapuro (Merck, Alemanha). A solução de ácido nítrico  $2 \text{ mol L}^{-1}$ , foi preparado a partir da diluição direta de ácido nítrico 60% (v/v) com água ultrapura.*
- *Peróxido de hidrogênio 30% (v/v), (Merck, Alemanha).*
- *Soluções padrão de Cu, Fe, Zn e Mn  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  em ácido nítrico  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , (Merck, Alemanha).*

A solução estoque multielementar de cobre  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , ferro  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , Zn  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , e Mn  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , foi preparada a partir de diluições consecutivas das soluções padrões de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (Merck) de cada elemento com ácido nítrico  $2 \text{ mol L}^{-1}$  (m/v).

### 3.3 LIMPEZA DO MATERIAL

Todas as vidrarias utilizadas foram previamente descontaminadas em um banho contendo solução de ácido  $\text{HNO}_3$  10 % (v/v), por um período mínimo de 24 h. A seguir as vidrarias foram retiradas do banho ácido e lavadas com água desionizada antes da sua utilização.

### 3.4 AMOSTRAS

Seis amostras de vinho, três de vinho tinto e três de vinho branco foram utilizadas para análise. Todas as amostras foram adquiridas em um supermercado na cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

### 3.5 METODOLOGIA

#### 3.5.1 Fase sólida

Para a realização do processo de extração foram utilizadas as seguintes fases sólidas:

- Carvão ativo (Sigma Aldrich, Brasil)
- Resina de troca iônica:
  - Resina catiônica Ionenaustaucher I (Merck, Alemanha).
  - Resina aniônica Ionenaustaucher III (Merck, Alemanha).

As massa das fases sólidas (carvão ativo e resinas de troca iônica), assim como o volume da amostra e tempo de agitação utilizado no experimento foram otimizadas de forma univariada.

### **3.6.1 Procedimento para sorção dos metais**

A sorção dos íons metálicos foi realizada através do processo de batelada, onde 10 mL de amostras de vinho foram colocadas em contato com as diferentes fases sólidas (500 mg de carvão ativo ou 300 mg de resina de troca iônica) em frascos hermeticamente fechados para evitar contaminação da amostra, sob agitação mecânica durante 15 minutos, em temperatura ambiente 25 °C. Logo após as amostras passaram por um processo de centrifugação, com objetivo de separar a fase sólida da solução residual. Em seguida, a solução residual foi submetida a uma digestão parcial em placa de aquecimento.

### **3.6.2 Digestão parcial usando placa de aquecimento**

Dez mililitros da solução residual foram introduzidos em um erlenmeyer, aquecido em chapa de aquecimento, e a solução evaporada até quase a secura. Tal procedimento foi realizado com o intuito de promover a evaporação do teor alcoólico e eliminação da matriz orgânica presente na amostra. Após o aquecimento, a solução residual foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com solução de ácido nítrico 2 mol L<sup>-1</sup>. As determinações foram realizadas utilizando o FAAS.

### 3.6.3 Digestão em bloco digestor

Foram digeridas seis amostras de vinho (em triplicata) mediante a utilização de um sistema composto de bloco de aquecimento e tubos digestores, sendo utilizados no processo 10 mL de amostra, 3 mL de ácido nítrico concentrado e 5 mL de peróxido de hidrogênio. O sistema foi submetido à temperatura de 150 °C, durante 4 h. Os digeridos obtidos foram transferidos para balões volumétricos de 10 mL e avolumados com ácido nítrico 2 mol L<sup>-1</sup> e posteriormente analisados em FAAS.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ESTUDO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Visando estudar as potencialidades de sorção dos metais Cu, Fe, Zn e Mn em vinhos, foram otimizados de forma univariada os seguintes parâmetros experimentais: volume da amostra, massa da fase sólida e tempo de agitação. Os parâmetros previamente otimizados foram empregados nos experimentos futuros estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Condições experimentais otimizadas.

Volume da amostra	10 mL
Massa de fase sólida	500 mg (carvão ativo) 300 mg (resina de troca iônica)
Tempo de agitação	15 minutos

### 4.3 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE Cu, Fe, Zn E Mn EM VINHO

Para a determinação de Cu, Fe, Zn e Mn em vinho, foram obtidas curvas de calibração com solução padrão aquoso em diferentes concentrações dos metais Cu, Fe, Zn e Mn. As curvas de calibração foram construídas a partir da adição de alíquotas da solução estoque multielementar (em ácido clorídrico 2 mol L<sup>-1</sup>), para volume final de 10 mL, variando a concentração de 0 a 2,0 mg L<sup>-1</sup> para Cu e Zn, 0 a 6,0 mg L<sup>-1</sup> para Fe e 0 a 5,0 mg L<sup>-1</sup> para Mn. Os valores de absôrvancias para as diferentes concentrações dos metais correspondem a valores médios, referente a triplicatas.

#### 4.3 DETERMINAÇÃO DOS METAIS Cu, Fe, Zn e Mn EM VINHO

As concentrações totais de Cu, Fe, Zn, e Mn foram determinadas empregando FAAS após digestão ácida das amostras de vinho (Tabela 17).

As concentrações de Cu e Zn, nas amostras de vinhos analisadas foram sempre inferiores ao limite máximo fixado pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) [30] e pela legislação brasileira [31], para Cu 1,0 mg L<sup>-1</sup> e Zn 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Exceto para uma amostra que apresentou o teor de Cu acima do limite máximo estabelecido.

Tabela 17 - Concentrações totais de Cu, Fe, Zn, e Mn, determinadas após digestão ácida empregando FAAS.

Amostra	Cu	Fe	Zn	Mn
	mg L <sup>-1</sup>			
Vinho Tinto Seco Fino	1,12 ± 0,15	2,48 ± 0,11	0,48 ± 0,03	3,02 ± 0,17
Vinho Tino Suave	0,14 ± 0,01	4,69 ± 0,12	0,57 ± 0,01	2,07 ± 0,09
Vinho Tinto Suave	0,15 ± 0,01	6,63 ± 0,03	0,47 ± 0,01	2,25 ± 0,10
Vinho Branco Seco Fino	0,27 ± 0,07	2,13 ± 0,10	0,29 ± 0,03	0,93 ± 0,08
Vinho Branco Suave	0,22 ± 0,02	2,72 ± 0,21	0,31 ± 0,04	1,51 ± 0,07
Vinho Branco Suave	0,13 ± 0,03	3,33 ± 0,14	0,36 ± 0,02	1,52 ± 0,04

#### 4.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Os limites de detecção e de quantificação para esse método foram calculados conforme descrito no item 4.3.1 do capítulo II. A precisão do método desenvolvido foi expresso como desvio padrão relativo (% RSD), obtido a partir de dez replicatas de uma amostra de vinho com concentração de 0,13; 3,33; 0,36 e 1,52 mg L<sup>-1</sup> para, Cu, Fe, Zn e Mn, respectivamente. As mais importantes figuras de méritos para o método proposto encontram-se resumidas na Tabela 18.

Tabela 18 - Figuras de mérito do método para determinação Cu, Fe, Zn e Mn em amostras de vinho empregando FAAS.

<b>Analito</b>	<b>LOD</b> (mg L <sup>-1</sup> )	<b>LOQ</b> (mg L <sup>-1</sup> )	<b>RSD</b> (%)*	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Equação de regressão linear</b>
<b>Cu</b>	0,02	0,08	1,78	0,9996	A = 0,1416 C <sub>Cu</sub> + 0,0002
<b>Fe</b>	0,04	0,13	6,78	0,9992	A = 0,0816 C <sub>Fe</sub> + 0,0002
<b>Zn</b>	0,02	0,06	4,57	0,9992	A = 0,3629 C <sub>Zn</sub> + 0,0028
<b>Mn</b>	0,02	0,06	2,38	0,9994	A = 0,2137 C <sub>Mn</sub> + 0,0017

\* Desvio padrão relativo (n=10).

#### 4.5 CARACTERIZAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE Cu, Fe, Zn e Mn EM AMOSTRAS DE VINHO

Com base nos resultados obtidos na Tabela 19, pode-se observar que as concentrações de Cu, Fe, Zn nas soluções residuais do processo de extração com carvão ativo, foram sempre inferiores aos limites de quantificação da técnica. Assim, é possível concluir que, nos vinhos analisados provavelmente esses íons estão presentes na forma de organocomplexos e foram sorvidos pelo carvão ativo. As reduções desses metais nas amostras de vinho atingiram 100 %. Já com relação ao manganês, a capacidade de sorção frente à fase sólida carvão ativo foi menor, apresentando-se provavelmente na forma iônica, aproximadamente 50 %.

Tabela 19 - Concentrações Cu, Fe, Zn e Mn, presentes nas soluções residuais após a extração empregando carvão ativo e quantificação por FAAS.

Amostra	Cu	Fe	Zn	Mn
	(mg L <sup>-1</sup> )			
Vinho Tinto Seco Fino	* < 0,08	< 0,13	< 0,06	1,67 ± 0,06
Vinho Tino Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	1,09 ± 0,07
Vinho Tinto Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	1,18 ± 0,05
Vinho Branco Seco Fino	< 0,08	< 0,13	< 0,06	0,52 ± 0,08
Vinho Branco Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	0,87 ± 0,07
Vinho Branco Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	0,78 ± 0,09

\* < LOQ.



Muitos metais existem em vinho, como íons livres, ou associados a complexos, como ácidos orgânicos bem como as espécies com alto peso molecular como polissacarídeos, peptídeos ou proteínas, polifenóis e normalmente a taninos condensados. Karadjova e colaboradores, em um dos seus trabalhos, afirmam, que o Cu, Fe e Zn em vinho, apresentam-se complexados com aminoácidos, oligopeptídeos e polipeptídeos [105]. A complexação desses metais com moléculas orgânicas, promove uma redução da biodisponibilidade dos mesmos em vinho. Assim, a biodisponibilidade dos metais é dependente da forma físico-química ao qual se encontra, apenas o metal que supera a barreira intestinal é pontencialmente biodisponível.

O percentual de sorção foi calculado tomando-se como base a concentração dos analitos obtidas após digestão ácida.

A Figura 7 apresenta os percentuais de sorção dos metais em amostras de vinho empregando fase sólida o carvão ativo.

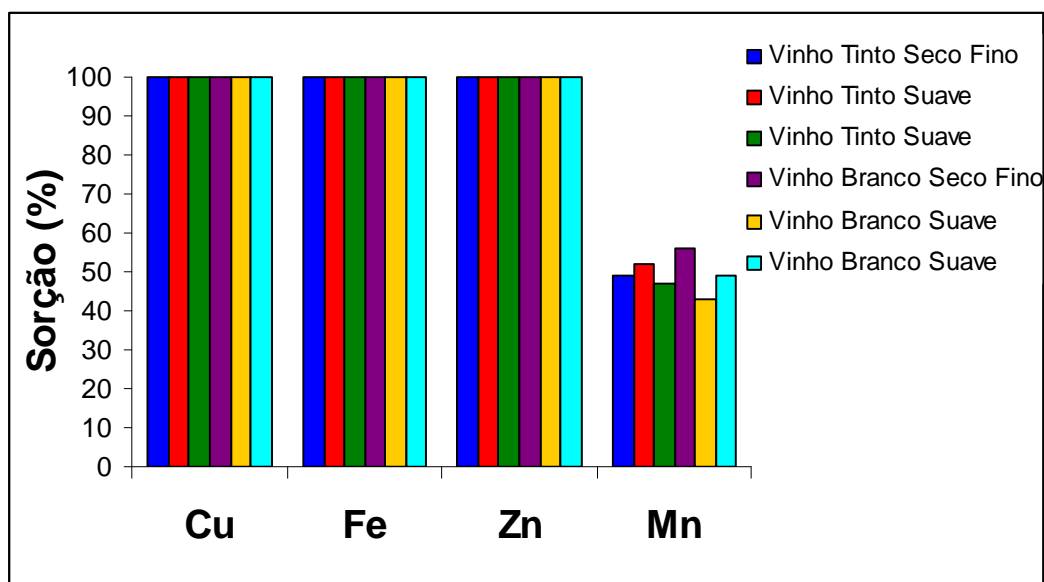


Figura 7 - Percentuais de sorção dos metais empregando carvão ativo como fase sólida.

Resinas de troca iônica também foram avaliadas nos processos de sorção desses metais em amostras de vinho. As resinas de troca iônica testadas demonstraram sua capacidade de redução desses metais em vinho.

A resina catiônica utilizada apresentou alta capacidade de sorção para todos os íons metálicos avaliados, as reduções desses metais nas soluções residuais atingiram 100 % da concentração inicial presente nas amostras, onde as concentrações nas soluções residuais apresentaram-se abaixo do limite de quantificação do método, conforme mostrado na Tabela 20.

Tabela 20 - Concentrações Cu, Fe, Zn e Mn, presentes nas soluções residuais após a extração empregando a resina catiônica e quantificação por FAAS.

Amostra	Cu	Fe	Zn	Mn
	mg L <sup>-1</sup>			
Vinho Tinto Seco Fino	* < 0,08	< 0,13	< 0,06	< 0,06
Vinho Tino Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	< 0,06
Vinho Tinto Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	< 0,06
Vinho Branco Seco Fino	< 0,08	< 0,13	< 0,06	< 0,06
Vinho Branco Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	< 0,06
Vinho Branco Suave	< 0,08	< 0,13	< 0,06	< 0,06

\* < LOQ.

Desta forma, pode-se concluir que os mesmos apresentam-se provavelmente na forma catiônica, conforme demonstra a Figura 8, os percentuais de sorção da resina catiônica.

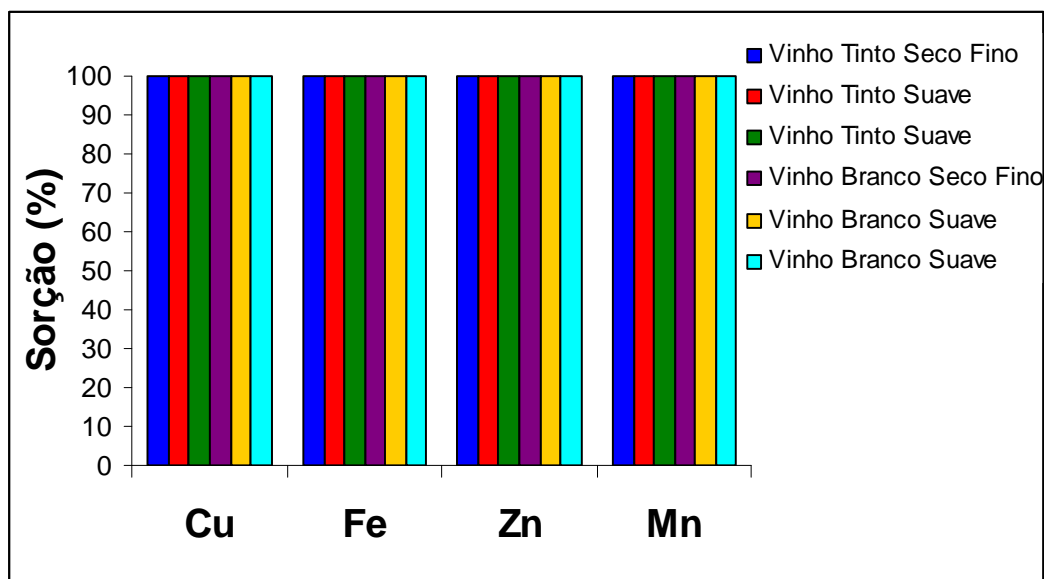


Figura 8 - Percentuais de sorção dos metais empregando resina catiônica como fase sólida.

A resina catiônica utilizada empregada apresentou elevada capacidade de sorção desses metais. Não foram observadas diferenças significativas entre os resultados obtidos para redução dos metais tanto em amostras de vinhos tintos como em vinhos brancos.

Esparza e colaboradores relatam em seu trabalho que os íons metálicos Cu, Fe e Zn, presentes no vinho encontram-se associados principalmente a moléculas orgânicas como aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas, polifenóis, taninos e antocianinas, onde as mesmas apresentam sítios de coordenação que são capazes de ligar com cátions metálicos [106].

Através dos dados obtidos presente na Tabela 21, pode-se constatar que a resina aniônica apresentou certa afinidade de sorção pelos íons metálicos Fe, Zn e Cu, ocorrendo permutações desses íons da solução residual para o corpo sólido (resina aniônica), conforme demonstra a Figura 9.

Tabela 21 - Concentrações Cu, Fe, Zn e Mn, presentes nas soluções residuais após a extração empregando a resina catiônica e quantificação por FAAS .

Amostra	Cu	Fe	Zn	Mn
	mg L <sup>-1</sup>			
Vinho Tinto Seco Fino	0,86 ± 0,05	0,31 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,58 ± 0,09
Vinho Tino Suave	0,11 ± 0,06	0,81 ± 0,03	0,27 ± 0,05	0,41 ± 0,07
Vinho Tinto Suave	0,12 ± 0,03	0,89 ± 0,10	0,23 ± 0,06	0,43 ± 0,05
Vinho Branco Seco Fino	0,21 ± 0,02	0,26 ± 0,05	0,13 ± 0,05	0,20 ± 0,06
Vinho Branco Suave	0,17 ± 0,06	0,41 ± 0,07	0,12 ± 0,03	0,28 ± 0,02
Vinho Branco Suave	0,10 ± 0,02	0,44 ± 0,07	0,13 ± 0,07	0,28 ± 0,03

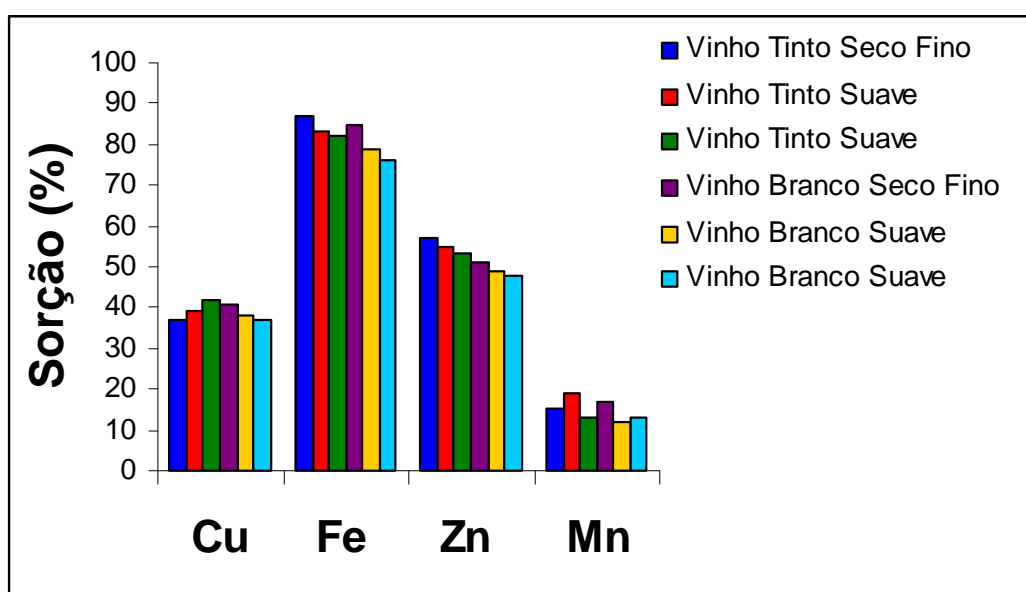


Figura 9 - Percentuais de sorção dos metais empregando resina aniônica como fase sólida.

Supostamente esses íons metálicos encontram-se associados a moléculas orgânicas com uma carga parcial negativa, que por sua vez tem certa capacidade de se associar à estrutura do polímero catiônico (estrutura da resina aniônica, onde são suportados os grupos ativos aniônicos).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As concentrações de Cu e Zn encontradas nas amostras de vinhos analisadas foram sempre inferiores ao limite máximo fixado pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) e pela Legislação Brasileira que é de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  para Cu e Zn  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . Apenas uma amostra apresentou o teor de Cu acima do limite máximo permitido.

O carvão ativo demonstrou ser bastante eficiente na extração de Cu, Fe, Mn e Zn, em vinho, demonstrando que provavelmente os mesmos encontram-se presentes na forma de organocomplexos.

Dentre os metais avaliados o manganês foi o único que se apresentou como íons livres no vinho.

A resina de troca catiônica empregada foi bastante eficaz na extração dos metais avaliados, promovendo uma redução de 100% dos metais avaliados nas amostras de vinho.

A monitoração das concentrações de íons metálicos em suas mais diferentes formas físico-químicas em vinho é importante, devido às suas características essenciais ou tóxicas aos organismos vivos. Assim, a caracterização de metais ligados a moléculas orgânicas é um assunto de interesse crescente, tendo em vista que a complexação pode reduzir sua biodisponibilidade e toxicidade.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- [1] IBRAVIN. **A vitivinicultura brasileira**. Disponível em: <<http://www.IBRAVIN.org.br/brasilvitivinicola.php>>. Acesso em: 15 nov. 2008.
- [2] POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003, 778p.
- [3] CALLEC, C. **Wine encyclopaedia**. Netherlands: Rebo international, 2000, 320p.
- [4] MANFROI, V. **Introdução ao estudo de vinhos e espumantes**. Porto Alegre. Disponível em: <<http://www.enologia.org.br>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
- [5] ANJOS, M. J.; LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O.; MOREIRA, S.; BARROSO, R. C.; CASTRO, C. R. F. Trace elements determination in red and white wines using total reflection X-ray fluorescence. **Spectrochimica Acta B**, v. 58, p. 2227-2232, 2003.
- [6] A HISTÓRIA do vinho. Disponível em: <[http://pt.wikipedia.org/wiki/Hist%C3%B3ria\\_do\\_vinho](http://pt.wikipedia.org/wiki/Hist%C3%B3ria_do_vinho)>. Acesso em: 29 nov. 2008.
- [7] PROTAS, J. F. S. A produção de vinhos finos: um flash do desafio brasileiro. **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br>>. Acesso em: 12 dez. 2008.
- [8] TONIETTO, J.; FALCADE, I. Vinhos Regionais: regulamentação no Brasil. In: **Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia**, X., 2002, Bento Gonçalves Anais eletrônicos: Bento Gonçalves, 2003. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br>>. Acesso em: 17 dez. 2008.
- [9] MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2007. **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br>>. Acesso em: 19 dez. 2008.
- [10] SATO, G. S. Panorama da viticultura no Brasil. **Informações Econômicas**, v. 30, n.11, p. 53-61, 2000.
- [11] MELLO, L. M. R. Atuação do Brasil no mercado vitivinícola mundial – panorama 2007. **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves: EMBRAPA - CNPUV, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br>>. Acesso em: 23 dez. 2008.

- 
- [12] UVIBRA. Disponível em:  
<http://www.uvibra.com.br>. Acesso: em 26 dez. 2008.
- [13] MIELE, M.; COLDEBELLA, A.; WAQUIL, P. D.; MIELE, A. Segments of competition in south Brazilian wineries. **Science Agriculture**, v. 64, p. 227-234, 2007.
- [14] VENCATO, R.; RIGON, A.; CORRÊA, L.; REETZ, S.; DA ROSA, E. G.; BELING, R. R. Anuário brasileiro da uva e do vinho. **Gazeta**, Santa Cruz do Sul, 2007.
- [15] DE AZEVEDO, C. L. **Estudo de compostos carbonílicos e os respectivos ácidos hidroxialquil(aril) sulfônicos em vinhos**. 2005. Exame de Qualificação (Doutorado em Química), Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador.
- [16] RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES Y.; MAUJEAN A.; DUBOURDIEU D. **Traité d'Oenologie Tome 2. Chimie du vin. Stabilisation et traitements**. 5ª ed, Paris: Dunod, 2004, 584p.
- [17] CATARINO, S.; CURVELO-GRACIA, A. S.; SOUZA, R. B. Elementos contaminantes nos vinhos. **Ciência Técnica Vitícola**, v. 23, p. 3-19, 2008.
- [18] KMENT, P.; MIHALJEVIČ, M.; ETTLER, V.; ŠEBEK, O.; STRNAD, L.; ROHLOVÁ, L. Differentiation of Czech wines using multielement composition – a comparison with vineyard soil. **Food Chemistry**, v. 91, p. 157-165, 2005.
- [19] PRASAD, M. N. V. Metal-biomolecule complexes in plants: occurrence, functions and applications. **Analisis**, v. 26, p. 25-28, 1998.
- [20] ROSIER, J. P.; RIZZON, L. A. A situação e evolução da vinicultura catarinense no período de 1987 a 1994. **Videira: EPAGRI**, 1996, 56p.
- [21] BENITEZ, P.; CASTRO, R.; PAZO, J. A. S.; BARROSO, C. G. Influence of metallic content of fino sherry wine on its susceptibility to browning. **Food Research International**, v. 35, p. 785-791, 2002.
- [22] SILVA, T. G.; REGINA, M. A.; ROSIER, J. P.; RIZZON, L. A.; CHALFUN, N. N. J. Diagnóstico vinícola do sul de Minas Gerais II – Teores de minerais dos vinhos. **Ciências Agrotecnologia**, v. 23, p. 638-642, 1999.
- [23] CABRERA-VIQUE, C.; TEISSÈDRE, P. L.; CABANIS, M. T.; CABANIS, J. C. Manganese determination in grapes and wines from different regions of France. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 51, p. 103-107, 2000.



- 
- [24] GREEN, A. M.; CLARK A. C.; SCOLLARY G. R. Determination of free and total copper and lead in wine by stripping potentiometry. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, v. 358, p. 711-717, 1997.
- [25] FOURNIER, J. B.; HIRSCH, O.; MARTIN, G .J. Analyse du zinc, du cuivre et du plomb dans le vin. Rapport entre les concentrations totales analysées para spectrométrie d'absorption atomique et les concentrations des ions libres déterminées par polarographie. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v. 32, p. 45-50, 1998.
- [26] KRISTL, J.; VEBER, M.; SLEKOVEC, M. The application of ETAAS to the determination of Cr, Pb and Cd in samples taken during different stages of the winemaking process. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, p. 200-204, 2002.
- [27] CHRISTAKI, T.; TZIA, C. Quality and safety assurance in winemaking. **Food Control**, v. 13, p. 503-517, 2002.
- [28] SPAZIANI, M.; OLIVEIRA, P. V.; CADORE, S.; OLIVEIRA, E. Determinação de alguns constituintes inorgânicos em amostras de vinhos por espectrometria atômica: ICP OES e ET AAS. **Analytica**, v. 20, p. 48-54, 2006.
- [29] MOZAZ, S. R.; SOTRO, A. G.; SE GOVIA, J. G.; AZPILICUETA, C. A. Influence of decantation of viura must on the cation content. Evolution during wine fermentation and stabilization. **Food Research International**, v. 32, p. 683-689, 1999.
- [30] ZOECKLEIN, B. W.; FUGELSANG, K. C.; GUMP, B. H.; NURY, F. S. **Wine analysis and production**. New York: Chapman & Hall, 1995, 621p.
- [31] PYRZYNSKA, K. Analytical methods for determination of trace metals in wine. **Analytical Chemistry**, v. 34, p. 69-83, 2004.
- [32] Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts. **Organisation International de la Vigne et du Vin**. Paris: OIV, 2005.
- [33] BRASIL. Decreto nº 99.066, de 08 de março de 1990. Regulamenta a Lei 7.678, de 08 de novembro de 1988 que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados do vinho e da uva. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 mar. 1990. Seção 1. p. 4755-4763.
- [34] MERCOSUL. Resolução 45/96 do GMC em Bs. As. 21/IV/96. Regimento Vitivinícola do Mercosul. Buenos Aires: GMC, 2 jun. 1996.

- 
- [35] BETTEMER, J. Elemental speciation. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 372, p. 33-34, 2002.
- [36] IUPAC. Disponível em:  
<[http://www.iupac.org/publications/pac/2000/7208/7208pdfs/7208templeton\\_1453](http://www.iupac.org/publications/pac/2000/7208/7208pdfs/7208templeton_1453.pdf)>.pdf. Acesso: 07 jan. 2009.
- [37] TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L. G.; MUNTAU, H.; LEEUWEN, H. P.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fraction of elements. Definitions, structural aspects and methodological approaches. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 72, p. 1453-14470, 2000.
- [38] BURGUERA, M.; BURGUERA, J. L. Flow-Injection electrothermal atomic-absorption spectrometry for Arsenic speciation using the fleitmann Reaction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, p. 229-233, 1993.
- [39] CARUSO, J. A.; KLAUE, B.; MICHALKE, B.; ROCKE, D. M. Group assessment: elemental speciation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 32-44, 2003.
- [40] MICHALKE, B. Element speciation definitions, analytical methodology, and some examples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 122-139, 2003.
- [41] KARADJOVA, IRINA; IZGI, B.; GUCER, S. Fractionation and speciation of Cu, Zn and Fe in wine samples by atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 581-590, 2002.
- [42] FERREIRA, S. L. C.; FERREIRA, H. S.; JESUS, R. M.; SANTOS, J. V. S.; BRANDÃO, G. C; SOUZA, A. A. Development of method for the speciation of inorganic iron in wine samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 602, p. 89-93, 2007.
- [43] LEMOS, V. A.; GUARDIA, M.; FERREIRA, S. L. C. An on-line system for preconcentration and determination of lead in wine samples by FAAS. **Talanta**, v. 58, p. 475-480, 2002.
- [44] MICKNON, A. J.; SCOLLARY, G. R. Size fractionation of metals in wine using ultrafiltration. **Talanta**, v. 44, p. 1649-1658, 1997.
- [45] POHL, PAWEL.; PRUSISZ, BARTLOMIEJ. Fractionation analysis of manganese and zinc in beers by means of two sorbent column system and flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 71, p. 1616-1623, 2007.

- 
- [46] CARDOSO, L. M. N.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos**. Salvador: NEAMA, CRA, 2001, (Séries Cadernos de Referência Ambiental, v. 6). CD-ROM
- [47] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cadmium review. Geneva: WHO, 2003.
- [48] VOLESKY, B. **Removal and recovery of heavy metals by biosorption**. Boca Raton: CRC Press IC, 1990. cap.1. 2, p.7-43.
- [49] BERTIN, G.; AVERBECK, D. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences. **Biochimie**, v. 88, p. 1549-1559, 2006.
- [50] LARINI, L. **Toxicologia**. 3ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1997.
- [51] FRIBERG, L.; KJELLSTROM, T.; NORDBERG, G.; PISCATOR, M. **Cadmium**. In: Handbook on the toxicology of metals. Amsterdam: Elsevier, 1979, 355p.
- [52] MENA, C.; CABRERA, C.; LORENZO, M. L.; LÓPEZ, M. C. Cadmium levels in wine, beer and other alcoholic beverages: Possible sources of contamination. **Science of the Total Environment**, v. 181, p. 201-208, 1996.
- [53] L'VOV, B. V. Twenty-five years of furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta B**, v. 39, p.149–157, 1984.
- [54] SLAVIN, W.; MANNING, D. C.; CARNICK, G. R. The stabilized temperature platform furnace. **Atomic Spectroscopy**, v. 2, p. 137-145, 1981.
- [55] KOIRTYOHANN, S. R.; KAISER, M. L. Furnace atomic absorption—a method approaching maturity. **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 1515-1524, 1982.
- [56] CORREIA, P. R. M.; NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. **Analytica**, v. 05, p. 52-59, 2003.
- [57] CAL-PRIETO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE J. M.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI, S.; PRADA, D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). **Talanta**, v. 56, p. 1-51, 2002.
- [58] KURFÜST, U. **Solid sampling analysis: direct and slurry sampling using GF-AAS and ETV-ICP**. Berlin: Springer-Verlag, 1998, 523p.

- 
- [59] WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**, 3<sup>rd</sup> ed, Wiley-VCH: Weinheim, New York, 1999.
- [60] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- [61] HALL, D. J. Analytical minimalism applied to the determination of trace elements by atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. v. 10, p.169-175, 1995.
- [62] EDIGER, R. D. Atomic absorption analysis with matrix modification. **Atomic Absorption Newsletter**, v. 14, n. 5, p. 127-130, 1975.
- [63] SILVA, A. F. **Desenvolvimento de métodos para determinação de mercúrio e tálio em amostras ambientais usando GF AAS e ETV-ICP-MS**. 2004. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- [64] NI, Z. M.; SHAN, X. Q. **Spectrochimica Acta B**, v. 42 (1987) p. 937, 1987.
- [65] SCHLEMMER, G.; WELZ, B. Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite-furnace atomic-absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta B**, v. 41, p. 1157-1165, 1986.
- [66] TSALEV, D. L.; DIMITROV, T. A.; MANDJUKOV, P. B. Study of Vanadium(V) as a chemical modifier in electrothermal atomization atomic-absorption Spectrometry. **Journal of analytical atomic spectrometry**, v. 5, p. 189-194, 1990.
- [67] KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; LIMA, É. C.; FERNANDES, E. A. N. Determination Of Ytterbium In biological materials by graphite furnace atomic **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 12, p. 475-478, 1997.
- [68] WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J. R. Palladium nitrate magnesium-nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5: Performance for determination of 21 elements. **Journal of analytical atomic spectrometry**, v. 7, p. 1257-1271, 1992.
- [69] LIMA, E. C.; KRUG, F.J.; JACKSON, K. W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead, and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta B**, v. 53, p. 1791-1804, 1998.
- [70] ORTNER, H. M.; BULSKA, E.; ROHR, U.; SCHEMMER, G.; WEINBRUCH, S.; WELZ, B. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption

---

spectrometry - mechanisms of action. **Spectrochimica Acta B**, v. 57, p. 1835-1853, 2002.

- [71] FLORES, A. V.; PÉREZ, C. A.; ARRUDA, M. A. Z. Evaluation of a synergetic effect between Rh as permanent chemical modifier and acetylacetone as complexing agent in Sc determination in sediment slurry samples by ETAAS. **Analytica Chimica Acta**, v. 530, p. 299-305, 2005.
- [72] FROES, R. E. S.; WINDMÖLLER, C. C.; SILVA, J. B. B. Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. **Analytica**, n. 23, p. 32-43, 2006.
- [73] SHARP, B. L.; BARNETT, N. W.; BURRIDGE, J. C.; LITTLEJOHN, D.; TYSON, J. F. Atomic spectrometry update-Atomisation and excitation. **Journal of analytical atomic spectrometry**, v. 3, 1998.
- [74] EGREJA FILHO, F. B.; REIS, E. L.; JORDÃO, C. P.; PEREIRA NETO, J. T. Avaliação quimiométrica da distribuição de metais pesados. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 324-328, 1999.
- [75] FERREIRA, M. M. C.; FARIA, C. G.; PAES, E. T. Oceanographic characterization of Northern São Paulo Coast: a chemometric study. **J. Chemometr. Intell. Lab. Syst.**, v. 47, p. 289-297, 1999.
- [76] POPPI, R. J.; COSTA FILHO, P. A. Algoritmo genético em química. **Química Nova**, v. 22, p. 405-411, 1999.
- [77] VALCÁRCEL, M. A modern definition of analytical chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 16, p. 124-131, 1997.
- [78] BEEBE, K. R.; KOWALSKI, B. R.; An Introduction to multivariate calibration and analysis. **Analytical Chemistry**, v. 59, p. 1007-1017, 1987.
- [79] BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experiments. an introduction to design, data analysis and model building**. New York: Wiley, 1978.
- [80] BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Editora da Unicamp: Campinas, 1996.
- [81] WEGSCHEIDER, W.; KNAPP G.; SPITZY, H. Statistical investigations of interferences in graphite furnace atomic-absorption spectroscopy .2.

- 
- cadmium. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, v. 283, p. 97-103, 1977.
- [82] DOS SANTOS, W. N. L.; SANTOS, C. M. C.; FERREIRA, S. L. C. Application of three-variables Doehlert matrix for optimisation of an on-line pre-concentration system for zinc determination in natural water samples by flame atomic absorption spectrometry. **Microchemica Journal**, v. 75, p. 211-221, 2003.
- [83] ARAUJO, P. W.; BRERETON, R. G.; Experimental design I. screening, **Trends in analytical chemistry**, v.15, p. 26-31, 1996.
- [84] ARAUJO, P. W.; BRERETON, R. G.; Experimental design II. optimization, **Trends in analytical chemistry**, v.15, p. 63-70, 1996.
- [85] LUNDSTEDT, T.; SEIFERT, E.; ABRAMO, L.; THELIN, B.; NYSTROM, A.; PETTERSEN, J. Experimental desing and optimization. **Chemometrics Intelligent Laboratory Systems**, v. 42, p. 3-4, 1998.
- [86] NETO, B. B. I.; SCARMINIO, S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos, pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Editora da Unicamp, Campinas-SP, 2001.
- [87] DEMING, S. N.; S. L. MORGAN. Experimental design: a chemometric approach. **Elsevier Science**, 1987, 285 p.
- [88 ] ADAMS, M. J. Chemometrics in analytical spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 336, p. 227-230, 1996.
- [89] MILLER, J. C.; E MILLER, J. N. **Estatística para Química Analítica** Wilmington: Addison-Wesley Iberoamericana, 1993.
- [90] FERREIRA, S. L. C.; DOS SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; NETO, B. B.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Doehlert Matrix: a chemometric toll for analytical chemistry. **Talanta**, v. 63, p. 1061-1067, 2004.
- [91] RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.
- [92] THOMPSON, MICHAEL.; ELLISON, L. R.; WOOD ROGER. Harmonized guidelines for singlelaboratory validation of methods of analysis. **International Union Of Pure And Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

- 
- [93] CHRISTIAN, G. D. **Analytical chemistry**. 3ª ed. New York: John Wiley & Sons, 1980, 643p.
- [94] LEITE, F. **Validação em análise química**. 4ª ed. Campinas: Átomo, 2002, 278p.
- [95] BENÍTEZ, P.; CASTRO, R.; BARROSO, C. G. Removal of iron, copper and manganese from white wines through ion exchange techniques: effects on their organoleptic characteristics and susceptibility to browning. **Analytica Chimica Acta**, v. 458, p. 197-202, 2002.
- [96] KERN, M. J.; WUCHERPFENNIG, K. "Factors influencing the removal of heavy metals from wine with a selective chelating agent". **Vitícola Enologica**, v. 48, p. 39-44, 1993.
- [97] MINHUA, F.; MEI, S.; JANNEY S.; CARRUTHERS, J.; HOLBEIN, B.; HUBER, A. D. "Selective removal of iron from grape juice using an iron (III) chelating resin". separation and purification. **Technology**, 11, 127-135, 1997.
- [98] MOREIRA, B. C. T. **Pré-concentração por extração em fase sólida: algumas aplicações de Dowex 1x8 impregnada com calcon e calmagita.1999**. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1999.
- [99] LOPES, L. **Separação e pré-concentração de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco, usando extração e fase sólida com ditizona e naftaleno coprecipitados**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1999.
- [100] Liska I. Fifty years of solid-Phase extraction in Water Analysis: historical development and overview. **Journal of Chromatography**, v. 885, p. 3-16, 2000.
- [101] JEFFERY, G. H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C. **Vogel - análise química quantitativa**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1992, 712p.
- [102] CASTILLA. M. C. Eliminación de Contaminantes Orgânicos de las aguas mediante adsorción em materiales de carbón. 2004. Departametro de Química Inorgánica, Facultade de Ciencias, Universidade de Granada, España.

- 
- [103] CLAUDINO, A. Preparação de Carvão ativado a partir de turfa e sua utilização na remoção de poluentes. 2003. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- [104] **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry** "Ion Exchangers" 001, 6<sup>th</sup> ed, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1999.
- [105] KARADJOVA, I.; IZGI, B.; GUCER, S. Fractionation and speciation of Cu, Zn and Fe in wine samples by atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta B**, v. 57, p. 581–590, 2002.
- [106] ESPARZA, I.; SALINAS, I.; CABALLERO, I.; SANTAMARÍA, C., CALVO, I.; GARCÍA-MINA, J. M.; FERNÁNDEZ, J. M. Evolution of metal and polyphenol content over a 1-year period of vinification: sample fractionation and correlation between metals and anthocyanins. **Analytica Chimica Acta**, v. 524, p. 215-224, 2004.