

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Departamento de Química Fundamental
Programa de Pós-Graduação em Química

Marcelo Farias de Andrade

Caracterização e distinção analítica e
quimiométrica de vinhos elaborados no Vale
do São Francisco e no Rio Grande do Sul

Dissertação de Mestrado

Recife,
Agosto de 2008.

Marcelo Farias de Andrade

Caracterização e distinção analítica e
quimiométrica de vinhos elaborados no Vale
do São Francisco e no Rio Grande do Sul

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte integrante do requisito para obtenção do título de Mestre em Química;

Sub-Área de concentração: Química Analítica;
Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Ana Paula S. Paim;
Co-orientador: Prof. Dr. João Bosco P. da Silva

Recife,
Agosto de 2008.

Andrade, Marcelo Farias de

Caracterização e distinção analítica e quimiométrica de vinhos elaborados no Vale do São Francisco e no Rio Grande do Sul / Marcelo Farias de Andrade. - Recife : O Autor, 2008.

xii, 101 folhas : il. fig., tab.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2008.

Inclui bibliografia, apêndice e glossário.

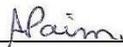
1. Vinho. 2. Quimiometria. I. Título.

663.2 CDD (22.ed.)

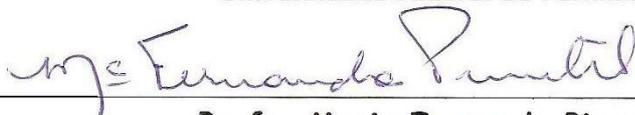
FQ2009-031

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:



Profa. Ana Paula Silveira Paim
(Co-orientadora)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco



Profa. Maria Fernanda Pimentel
Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco



Prof. Giuliano Elias Pereira
Centro de Pesquisa Agropecuária do
Trópico Semi-Árido, Petrolina-PE

**"Caracterização e Distinção Analítica e Quimiométrica de Vinhos
Elaborados no Vale de São Francisco e no Rio Grande do Sul"**

por

Marcelo Farias de Andrade

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
10 de julho de 2008

Agradecimentos

Em primeiro lugar, a professora Dr^a. Ana Paula S. Paim (Tia Ana), pela orientação, tanto acadêmica quanto pessoal, pela ajuda, pelo carinho e dedicação a minha pessoa;

Aos amigos do Laboratório de Instrumentação e Automação para Análises Químicas – LIAAQ, principalmente a Diego, Fabíola e Waleska, pelas agradáveis brincadeiras e discussões e pela grande ajuda no desenvolvimento deste trabalho e também a Thaísa Folha, que não faz mais parte deste grupo, mas foi de grande ajuda enquanto esteve conosco;

Ao Dr. Giuliano E. Pereira, pelo fornecimento das amostras de vinhos analisadas;

A prof.^a Dr^a. Maria Fernanda Pimentel, às doutoras Claudete Pereira e Andréa Monteiro e à doutoranda Liliana Lira, por me ajudarem a obter e “brincar” com os espectros de infravermelho;

À técnica de laboratório Eliana e ao senhor Wellington, o salva-vidas deste departamento, por manterem vivo o fotômetro de chama;

Ao Prof. Dr. João Bosco, pela oportunidade de aprendizado;

E a todos aqueles que não estão nesta lista, mas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho e com a manutenção da minha sanidade mental neste período, e também a todos aqueles que, de qualquer forma, não atrapalharam o mesmo.

Resumo

ANDRADE, M. F. de; **Caracterização e distinção analítica e quimiométrica de vinhos elaborados no Vale do São Francisco e no Rio Grande do Sul**. 2008. 101 fls. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Departamento de Química Fundamental – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

Palavras-chave: Vinho; Vale do São Francisco; Quimiometria.

Vinhos de qualidade são elaborados em regiões vinícolas específicas e podem ser caracterizados quanto à sua composição química e sensorial. O Vale do Submédio São Francisco (VSMSF) é uma nova região produtora em ascensão que necessita de estudos para a caracterização dos vinhos, a fim de poder descrevê-los e obter-se uma identidade geográfica dos mesmos.

Utilizou-se metodologias analíticas oficiais para a determinação do pH, acidez titulável total (Att), densidade (den), extrato seco (Ext), teor alcoólico (EtOH), concentração de sódio (Na^+), potássio (K^+), fósforo (PO_4^{3-}) e amônio (NH_4^+) com o objetivo de se caracterizar vinhos tintos e brancos, comerciais e experimentais do VSMSF e tintos comerciais do Rio Grande do Sul (RS). As técnicas quimiométricas Análise por Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamentos Hierárquico (HCA) foram realizadas para distinção dos vinhos analisados, e os métodos de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) e Regressão por Componentes Principais (PCR) foram aplicados em um teste preliminar para a determinação de alguns destes parâmetros utilizando-se espectros na região do infravermelho próximo.

Observou-se que os vinhos tintos comerciais do VSMSF possuem valores mais elevados de densidade, extrato seco, sódio, potássio, amônio e fósforo, sendo, portanto, diferentes dos vinhos comerciais do RS e de vinhos experimentais do VSMSF aqui analisados. Os vinhos do VSF apresentaram também valores elevados de pH e baixa graduação alcoólica, o que pode ocasionar uma rápida degradação dos mesmos. Utilizando-se análises quimiométricas PCA e HCA foi possível diferenciar os vinhos comerciais do Vale dos demais vinhos analisados em relação aos parâmetros aqui estudados, bem como pelos seus espectros de infravermelho próximo (NIR) e médio (MID).

As regressões por PCR e PLS, em estudo preliminar, mostraram a possibilidade de utilização do espectro NIR para a predição de alguns parâmetros determinados neste trabalho.

Abstract

ANDRADE, M. F. de; **Characterization, analysis and chemometrical distinction of wines grown in the São Francisco Valley and in the state of Rio Grande do Sul.** 2008. 101 fls. Master's dissertation. Post-graduation in Chemistry. Department of Fundamental Chemistry. Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

Key-words: Wine; São Francisco Valley; Chemometrics.

Quality wines are grown in specific wine regions and may be characterized both by their chemical composition and appeal to the senses. The Lower São Francisco Valley (Vale do Submédio São Francisco – VSMSF) is a recent and growing production region, requiring research into the characteristics of the wines grown there in order to describe and gain a geographic identity for them.

Standard analytical methods were used to determine the contents as to the pH, total titulable acidity (Att), density (den), dry extract (Ext), alcohol content (EtOH), and concentrations of sodium (Na^+), potassium (K^+), phosphorus (PO_4^{3-}) e ammonium (NH_4^+) in order to characterize the experimental white and red wines of the VSMSF and the commercial red wines from Rio Grande do Sul (RS) and VSMSF. Chemometrical analysis techniques for Principal Components (PCA) and Hierarchical Cluster (HCA) Analysis were used to discriminate among the wines and methods of Partial Least Squares (PLS) and Principal Component Regression were used in a preliminary test to establish some of these parameters using spectra in the near infra-red region.

It was observed that the commercial red wines from the VSMSF had higher density, dry extract, sodium, potassium, ammonium and phosphorus, being thus different from the commercial wines coming from RS and the experimental VSMSF wines analyzed in this work. The wines from the VSF also had high levels of pH and less alcohol content, which could be a cause for their rapid degradation. Both the chemometric analyses PCA and HCA and their Near and Medium infrared spectra (NIR, MID) made it possible to distinguish the commercial Valley wines from the others with respect to the parameters studied.

Regressions for PCR and PLS, in the preliminary study, indicated the potential for using NIR spectra to predict some of the parameters established in this work.

Lista de Figuras

Figura	Título	Página
1.	O Vale do rio São Francisco.	4
2.	O Vale do Submédio São Francisco.	5
3.	Partes de uma uva.	6
4.	Esquema simplificado de elaboração de vinho branco (a) e tinto (b).	10
5.	Diagrama simplificado de níveis de energia atômica e molecular e espectros correspondentes.	15
6.	Esquema simplificado de um sistema de Análise por Injeção em Fluxo.	17
7.	Modos normais de vibração. Estiramento (1 e 2) e deformação (3 a 6).	20
8.	Figura ilustrativa do funcionamento de uma PCA.	24
9.	Espectros de absorvância no MID dos vinhos tintos comerciais elaborados no RS e VSMSF.	44
10.	Espectros de absorvância no MID dos vinhos brancos e tintos experimentais elaborados no VSMSF.	44
11.	Espectros de absorvância no NIR dos vinhos tintos comerciais elaborados no RS e VSMSF.	46
12.	Espectros de absorvância no NIR dos vinhos brancos experimentais elaborados no VSMSF.	47
13.	Espectros de absorvância no NIR dos vinhos tintos experimentais elaborados no VSMSF.	48
14.	Gráfico de pesos de PC1 x PC2 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas.	50
15.	Gráfico de pesos de PC1 x PC3 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas.	51
16.	Gráfico de escores de PC1 x PC2.	52
17.	Gráfico de escores de PC1 x PC3.	53
18.	Gráfico de pesos de PC1 x PC2 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas para os vinhos comerciais.	54
19.	Gráfico de escores de PC1 x PC2 para os vinhos comerciais analisados.	55
20.	Gráfico de pesos de PC1 x PC2 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas para os vinhos elaborados no VSMSF.	56

21. Gráfico de escores de PC1 x PC2 para os vinhos elaborados no VSMSF.	57
22. Gráficos de pesos para a PCA na região NIR.	58
23. Gráficos de pesos para a PCA na região MID.	58
24. Gráficos de escores de PC1 x PC2 para a PCA dos espectros na região NIR.	59
25. Gráficos de escores de PC1 x PC2 para a PCA dos espectros na região MID.	60
26. Gráficos de escores de PC1 x PC3 para a PCA dos espectros na região NIR.	61
27. Gráficos de escores de PC1 x PC3 para a PCA dos espectros na região MID.	62
28. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Euclidiana e ligação simples.	63
29. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Euclidiana e ligação completa.	64
30. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Manhattan e ligação simples.	65
31. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Manhattan e ligação completa.	65
32. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos espectros NIR com distância euclidiana e ligação simples.	66
33. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos espectros NIR com distância euclidiana e ligação completa.	67
34. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos espectros MID com distância euclidiana e ligação simples.	68
35. Dendograma obtido com a análise hierárquica dos espectros MID com distância euclidiana e ligação completa.	68
36. Gráfico de valores predito x referência para a predição da acidez total.	71
37. Gráfico de valores predito x referência para a predição da densidade.	71
38. Gráfico de valores predito x referência para a predição do extrato seco.	73
39. Gráfico de valores predito x referência para a predição do teor alcoólico.	73
A1. Esquema FIA simplificado utilizado na análise de fósforo. D = descarte; T = transportador; L = loop (alça de amostragem); A = amostra/ padrão; R1, R2 = Reagentes; B1, B2 = bobinas de reação; Δ = aquecimento e λ = detecção espectrofotométrica a 880 nm.	78
A2. Curva analítica obtida para adição de padrão na determinação de PO_4^{3-} em vinhos.	79

B1. Esquema FIA simplificado utilizado na análise de amônio. D = descarte; T = transportador; L = loop (alça de amostragem); A = amostra/ padrão; R1, R2 = Reagentes; B1, B2 = bobinas de reação; Δ = aquecimento e λ = detecção espectrofotométrica a 697 nm.	81
B2. Curva analítica obtida para adição de padrão na determinação de NH_4^+ em vinhos.	82

Lista de Tabelas

Tabela	Título	Página
1.	Composição química percentual aproximada de uma uva.	7
2.	Teores máximos e mínimos para alguns componentes de vinhos de mesa secos, tintos e brancos.	11
3.	Ácidos comumente existentes nos vinhos e seus valores de pK_a .	13
4.	Significado da codificação em cores das amostras de vinhos analisados.	38
5.	Divisão por vinícolas das amostras de vinhos comerciais analisadas.	38
6.	Tipo de vinho, origem, código, tipo de uva e safra das amostras analisadas.	39
7.	Valores médios e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros analisados nos vinhos das regiões em estudo.	40
8.	Vibrações atribuídas aos picos dos espectros MID.	45
9.	Vibrações atribuídas aos picos dos espectros NIR.	48
10.	Variância atribuída as cinco primeiras componentes principais da PCA realizada com os dados físico-químicos.	49
11.	Número de fatores (NF), REMSEC e coeficiente de correlação (r) para as regressões PCR e PLS com os espectros NIR para alguns parâmetros analisados.	69
12.	Resultados da predição dos valores de acidez total e densidade em amostras de vinhos com PCR e PLS desenvolvidos.	70
13.	Resultados da predição dos valores de extrato seco e teor alcoólico em amostras de vinhos com PCR e PLS desenvolvidos com o espectro NIR.	72
A1.	Concentração de fósforo nas amostras de vinhos determinados pelo método proposto, pela adição padrão, concentração de padrão adicionada e a taxa de recuperação.	80
B1.	Concentração de amônio nas amostras de vinhos determinados pelo método proposto, pela adição padrão, concentração de padrão adicionada e a taxa de recuperação.	83
C1.	Valores e respectivos limites de confiança (a 95%) de pH, acidez (Att), densidade (Den), teor alcoólico (EtOH) e extrato seco (Ext) para os vinhos tintos e brancos experimentais elaborados no VSMSF.	84

C2. Valores e respectivos limites de confiança (a 95%) para pH, acidez (Att), densidade (Den), teor alcoólico (EtOH) e extrato seco (Ext) para os vinhos tintos comerciais elaborados no VSMSF.	85
C3. Valores e respectivos limites de confiança (a 95%) para pH, acidez (Att), densidade (Den), teor alcoólico (EtOH) e extrato seco (Ext) para os vinhos tintos comerciais elaborados no Rio Grande do Sul.	86
C4. Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, em quintuplicata) para fósforo (PO_4^{3-}), amônio (NH_4^+), sódio (Na^+) e potássio (K^+) para os vinhos tintos comerciais elaborados no Rio Grande do Sul.	86
C5. Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, em quintuplicata) para fósforo (PO_4^{3-}), amônio (NH_4^+), sódio (Na^+) e potássio (K^+) para os vinhos tintos e brancos experimentais elaborados no VSMSF.	87
C6. Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, em quintuplicata) para fósforo (PO_4^{3-}), amônio (NH_4^+), sódio (Na^+) e potássio (K^+) para os vinhos tintos comerciais elaborados no VSMSF.	88

Sumário

Capítulo	Página
Agradecimentos	III
Resumo	IV
Abstract	V
Lista de Figuras	VI
Lista de Tabelas	IX
1. Introdução	1
1.1 Um pouco sobre o vinho	2
1.2 Características do Vale do rio São Francisco	3
1.3 As uvas	6
1.4 A elaboração	8
1.5 A composição de um vinho	10
1.6 As análises do vinho	11
1.6.1 Espectroscopia Atômica	14
1.6.2 Análise por Injeção em Fluxo	16
1.6.3 Espectroscopia Molecular	19
1.7 Uma Identidade para o Vinho	22
1.8 Estudo Quimiométrico	23
2. Objetivos	29
3. Materiais e Métodos	31
4. Resultados e Discussão	37
4.1 Caracterização analítica das amostras	38
4.1.1 Parâmetros Clássicos	38
4.1.2 Espectros de Infravermelho	43
4.1.2.1 Infravermelho Médio – MID	43
4.1.2.2 Infravermelho próximo – NIR	45
4.2 Distinção das amostras utilizando Quimiometria	49
4.2.1 Análise de Componentes Principais	49

4.2.1.1	Parâmetros Físico-Químicos	49
4.2.1.2	Espectros Infravermelhos	57
4.2.2	Análise de Agrupamento Hierárquico	62
4.2.2.1	Parâmetros Físico-Químicos	62
4.2.2.2	Espectros Infravermelhos	66
4.3	Previsão usando PLS / PCR	69
5.	Finalizações	74
5.1	Conclusões	75
5.2	Perspectivas	76
6.	Apêndices e Referências	77
6.1	Apêndice A: Determinação de $P-PO_4^{3-}$ em vinhos utilizando Análise por Injeção em Fluxo com detecção espectrofotométrica	78
6.2	Apêndice B: Determinação de NH_4^+ utilizando Análise por Injeção em Fluxo com detecção espectrofotométrica	81
6.3	Apêndice C: Resultados obtidos pelas análises físico-químicas dos vinhos	84
6.4	Referências	89

Marcelo Farias de Andrade

Capítulo 1:

Introdução

“O especialista é uma pessoa que sabe cada vez mais sobre cada vez menos. E, por fim, acaba sabendo tudo sobre nada.”

(George Bernard Shaw)

1.1 Introdução

Sua origem é incerta, pode ser atribuída a Noé, segundo a Bíblia, aos deuses Dionísio e / ou Baco de acordo com as mitologias grega e / ou romana, respectivamente, ou mesmo aos arianos, povo do sul do Cáucaso, na Ásia Ocidental, segundo alguns historiadores [1]. Porém é certo que o vinho faz parte da história do ser humano, com documentos de sua existência em cavernas habitadas por homens (e mulheres) pré-históricos, na Mesopotâmia (10000 a.C.) e também no Egito (3000 a.C.), Grécia (2000 a.C.), Roma (2000 a.C.) e Portugal (100 a.C.), assim como em celebrações católicas, sendo citado na Bíblia 155 vezes no Velho e 10 no Novo Testamento [2].

Foi a partir da chegada a Roma que o vinho difundiu-se pela Europa. Com as conquistas do Império Romano, as terras eram distribuídas entre seus soldados para a manutenção das propriedades do reino, com a condição que os mesmos, com o devido conhecimento e infra-estrutura fornecidos pelo Império, produzissem vinho nestas terras [3].

Posteriormente, com o advento da navegação e o descobrimento de novos continentes, a videira e o vinho ganharam o mundo. América do Norte, do Sul e África foram contempladas com esta planta em expedições colonizadoras a partir do século XV, sendo atribuída à Martin Afonso de Souza, em 1532, a introdução da videira no Brasil [2, 4].

Neste início de século XXI, França, Itália e Espanha dominam a produção mundial de vinhos, com o Brasil ficando na 15ª posição [5, 6]. Com a grande propaganda, força, tradição e história de suas marcas, os vinhos importados dificultam o fortalecimento dos nacionais, sendo em 2002, mais de 48% do total comercializado no Brasil, chegando a mais de 71% em 2007 [6, 7]. Os principais países de origem destes são Chile, Argentina, Itália e Portugal [8].

No Brasil, o Rio Grande do Sul é o estado com maior produção de vinhos desde o início da vitivinicultura brasileira. Pois os imigrantes italianos e alemães, bons conhecedores do ramo da vitivinicultura e trazendo consigo exemplares de mudas européias, adaptaram-se melhor ao clima (maior semelhança ao clima europeu) e iniciaram o cultivo e elaboração de vinhos. Neste começo do século XXI, o Estado ainda detém cerca de 90% da produção nacional [2, 7].

Porém, o plantio de uvas e elaboração de vinhos não ficou restrito ao Rio Grande do Sul. Produtores tentaram a sorte em vários outros Estados brasileiros, merecendo maior destaque os estados de Santa Catarina, Pernambuco e Bahia (Vale do São Francisco), São Paulo e Minas Gerais [7, 9].

1.2 Características do Vale do rio São Francisco

As informações aqui descritas podem ser mais aprofundadas consultando-se as referências 10 a 12.

Mesmo sendo pouco aproveitado, quando comparado com outros países, o potencial hidroviário nacional foi de grande importância para a formação do território brasileiro. Foi a partir de incursões pelos rios nacionais que desbravadores ajudaram a conquistar o interior, sendo um fator relevante para a expansão deste país-continente.

No norte do Brasil, por exemplo, a bacia do rio Amazonas permitiu a “conquista” da região amazônica. Ao sul, a bacia do Prata, com os rios Paraná, Uruguai e Paraguai, determinaram as fronteiras do domínio lusitano e espanhol. Com o rio São Francisco não foi diferente, durante séculos foi a principal via de ligação entre o Nordeste e o Sudeste brasileiro.

Foi através de uma expedição de reconhecimento do território recém descoberto, em 15/10/1501, que o rio outrora chamado de “Opara” (Rio-Mar) pelos índios ganhou dos portugueses o nome de São Francisco, em homenagem ao santo deste dia. Porém, somente em 1553 foram escritos os primeiros documentos descritores do rio São Francisco (ou velho Chico, como é conhecido hoje em dia). Trezentos anos se passaram para que fosse produzido o primeiro documento técnico sobre o rio: “Atlas Concernente à Exploração do Rio São Francisco desde a cachoeira de Pirapora até o oceano Atlântico – 1850, 1851, 1852”. Documento este encomendado pelo imperador Pedro II, visando o transporte de mercadorias pelo rio.

Sua nascente é na cidade de São Roque de Minas, na Serra da Canastra – MG. Com uma extensão de 2700 km e área superficial de cerca de 640000 km², o Vale do rio São Francisco (VSF) abrange 503 municípios nos estados de Minas Gerais, Goiás, Bahia, Pernambuco, Sergipe e Alagoas, além do Distrito Federal até sua foz, no oceano Atlântico (figura 1).

Devido à sua ampla extensão, possui variadas condições geográficas. Seu clima varia de temperado a semi-árido e tem uma ampla cobertura vegetal, predominando o cerrado e a caatinga.

A maior parte do Vale constitui-se de grande diversidade rochosa, rica em depósitos minerais valiosos e de grande suporte econômico para a nação. O Vale também é o responsável pelo fornecimento de energia elétrica ao Nordeste brasileiro, devido ao seu alto poder energético.



Figura 1: O Vale do rio São Francisco.

Pelos desníveis existentes no leito principal do rio, e também pelas variações de clima e cobertura vegetal, o Vale do São Francisco é subdividido em quatro regiões:

- i. Alto São Francisco: da nascente, São Roque de Minas, até a cidade (cachoeira) de Pirapora – MG, incorporando os estados de Minas Gerais, Goiás e o Distrito Federal;
- ii. Médio São Francisco: indo de Pirapora até a barragem de Sobradinho, na cidade de Remanso – BA, abrangendo Minas Gerais e Bahia;
- iii. Submédio do São Francisco: de Remanso até a barragem de Xingó em Paulo Afonso – BA, contido nos estados de Pernambuco e Bahia e
- iv. Baixo São Francisco: de Paulo Afonso até a foz, no oceano Atlântico. Incorpora os estados de Pernambuco, Bahia, Sergipe e Alagoas.

Apesar de ser a região mais árida do Vale, com grande incidência solar, o Submédio do São Francisco conta com uma expansão da agricultura irrigada e tende a apresentar maior dinamismo em suas atividades. Os pólos de Petrolina e Juazeiro contam com mais de 40% da área irrigada no Vale, tais características (irrigação controlada, alta taxa de luz solar – com mais de 3000 horas de luz por ano) favorecem a fotossíntese e, conseqüentemente, melhor brotação de frutos [13]. Verifica-se, com isso, um aumento na produção de frutas, principalmente de manga e uva.

O Vale do Submédio do São Francisco – VSMSF, localizado entre as latitude 8° e 9°

ao sul do Equador, é o maior exportador de uvas de mesa do Brasil, ocupando a nona posição mundial em exportações desta fruta em 2005. O VSMSF está se destacando também como uma região de elaboração de vinhos finos de qualidade [14, 15], contrariando as idéias de que vinhos de qualidade só podem ser elaborados em regiões do globo compreendidas entre as latitudes 30° e 45°, tanto norte quanto sul. Esta última faixa geográfica compreende regiões de clima temperado, sendo latitudes tradicionais de plantio de uvas e elaboração de vinhos [16].

Casa Nova e Juazeiro na Bahia e Petrolina, Lagoa Grande e Santa Maria da Boa Vista em Pernambuco são algumas das cidades mais importantes localizadas no Submédio do São Francisco (figura 2). É nesta região que se localizam as principais vinícolas do Nordeste. Dentre elas, pode-se citar a Vinícola Vale do São Francisco, em Santa Maria da Boa Vista, com os vinhos da marca Botticelli [17]; a Vinibrasil, em Lagoa Grande, com as marcas Adega do Vale e Rio Sol [18]; Miolo, em Casa Nova, com os vinhos Terra Nova [19] e Vinícola Lagoa Grande, em Lagoa Grande, com as marcas Garziera e Carrancas do São Francisco [20].

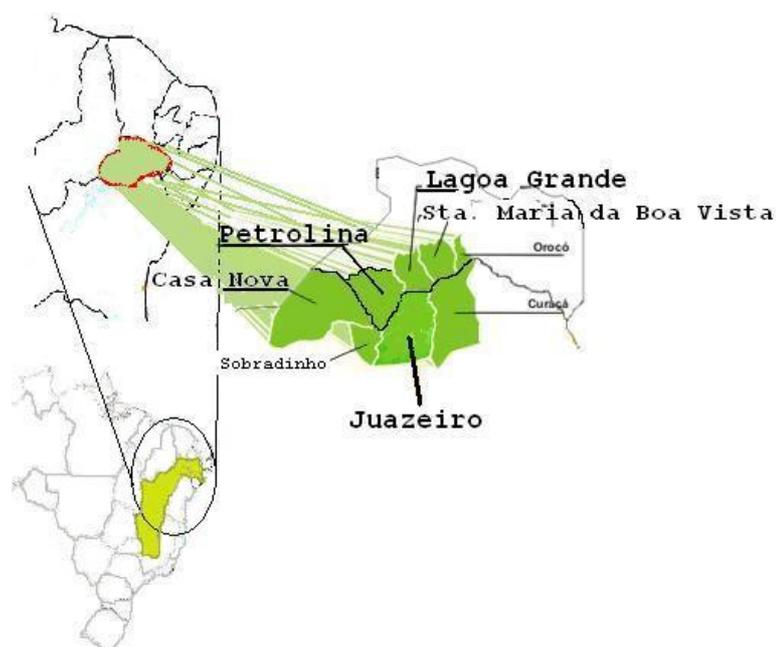


Figura 2: O Vale do Submédio São Francisco.

Deve-se ressaltar que várias destas marcas já foram contempladas com premiações em diversos concursos nacionais e internacionais de vinhos [21].

É também nesta região, mais especificamente em Petrolina, que se localiza a Embrapa Semi-Árido, órgão do governo federal criado em 1975, visando colaborar com o desenvolvimento agropecuário no semi-árido brasileiro. Neste centro de pesquisa desenvolvem-se vários estudos incluindo a produção de diversos produtos agrícolas, dentre eles, a uva e a elaboração de vinhos em parcerias com vinícolas locais [22].

Por definição da legislação nacional, Lei nº 7678 de 08/11/1988 (a Lei do Vinho) e Lei nº 10970 de 12/11/2004 (que altera algumas disposições da anterior) [23, 24], o vinho é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples de uva sã, fresca e madura e é vedada esta denominação para produtos obtidos de quaisquer outras matérias-primas. Sendo mosto simples de uva, o produto obtido pelo esmagamento ou prensagem da uva sã, fresca e madura, com a presença ou não de suas partes sólidas.

1.3 As uvas

As uvas pertencem à família Vitaceae e são compostas por engaços, às vezes chamadas ráquis ou talos, e por bagos, que é a uva propriamente dita. Os bagos são compostos da película (casca), da polpa e das sementes (figura 3) que, dependendo do tipo de uva, variará em cor e consistência [2, 25].

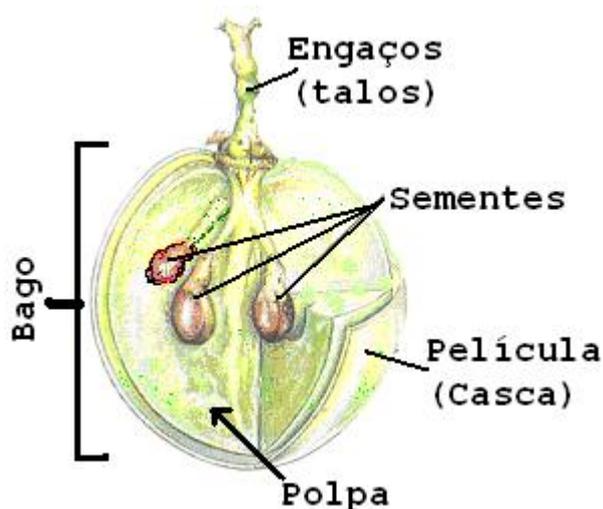


Figura 3: Partes de uma uva.

A película representa de 7 a 20% do bago, enquanto que a polpa detém entre 80 e 90%. Em menor proporção está a semente com 2 a 5%. Uma composição aproximada de suas partes está indicada na tabela 1 [2, 25].

É na película que se encontram os microorganismos (na parte externa), os taninos, as antocianinas e os percussores do aroma (na parte interna). A levedura é a responsável pela fermentação alcoólica, ou seja, pela transformação de açúcares (principalmente glicose e frutose) em etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), gás carbônico (CO_2) e subprodutos [26, 27]. Os taninos, derivados do ácido gálico, são as substâncias que irão conferir gosto adstringente, estrutura e,

indiretamente, coloração, pois complexa as antocianinas. Já as antocianinas irão fornecer, dentre algumas outras características, a coloração tinta ao vinho [28 – 30].

Tabela 1: Composição química percentual aproximada de uma uva.

	$x > 70\%$	$70\% > x > 15\%$	$x < 15\%$
Engaços	Água	Celulose, minerais, ácidos.	Taninos
	Película	Água	Minerais, ácidos. Antocianinas, microorganismos, enzimas
Bagos	Polpa	Água	Açúcares. Ácidos (tartárico, málico, cítrico), minerais (K, Fe, SO_4^{2-} , PO_4^{3-}), vitaminas.
	Semente	Água, óleos.	Taninos, ácidos, minerais.

Os açúcares que sofrerão a fermentação estão contidos na polpa. Nela também estão presentes vitaminas e outras substâncias benéficas ao organismo humano, tanto que alguns enófilos definem o vinho como um alimento (e complemento gastronômico) [25]. A composição e quantidade destes nutrientes são bastante influenciadas pelo tipo da uva, clima, solo, técnica de vinificação e outras [31 – 33].

As uvas podem ter diversas tonalidades de azul e verde, mas são classificadas em tintas ou brancas, de acordo com o vinho que produzem. Segundo a legislação nacional [34], elas são classificadas, quanto à qualidade, em três grandes grupos, a saber: (I) Viníferas nobres; (II) Viníferas Superiores e (III) Comuns.

As mais importantes para elaboração dos vinhos são as uvas do gênero *Vitis*, mais especificamente as da espécie *Vitis Viníferas*, muito conhecidas como uvas Européias (nobres ou superiores) devido às suas origens. Outras muito utilizadas são as *Vitis Labruscas* ou também chamadas Americanas (comuns), de origem menos nobre. Existem ainda várias outras espécies de uvas também utilizadas para a elaboração de vinhos de qualidade inferior [25, 35].

Mesmo que se trabalhe com uvas de castas finas, as viníferas nobres, não necessariamente se conseguirá um vinho de qualidade superior. Outros fatores influenciam no resultado desejado, tais como o clima, o solo, dentre outros. O clima quente e ensolarado produzirá uvas com maior teor de açúcares e menor quantidade de ácidos, já o chuvoso implicará em menos açúcar e maior acidez. Já o solo deve ser mineral e bem drenado, para que não acumule água. Quanto às castas, alguns tipos de uvas são mais apropriados para climas frios, como a Pinot Noir, e outras para climas mais quentes, como a Moscatel [16, 36]. Rizzon e Miele [37] estudaram o efeito de variações de safras em vinhos da Serra Gaúcha e concluíram que houve diferenças significativas nestes, mostrando a importância das variações

climáticas na qualidade do vinho.

Vários estudos foram realizados para avaliação da adaptação de videiras e produção de uvas de mesa no semi-árido brasileiro, inclusive de novas variedades e de variedades sem sementes [14, 36, 38, 39].

As uvas mais cultivadas para a vinificação no VSMSF são a Cabernet Sauvignon, Ruby Cabernet, Syrah, Petite Syrah e Tannat (tintas) e Moscatel e Chenin Blanc (brancas) [17 – 21]. Algumas outras estão em estudo, tais como Tempranillo, Alfrocheiro, Barbera, Periquita, Castelão e Deckrot (variedades tintas), e Sauvignon Blanc e Viognier (brancas).

Visto que o vinho é proveniente de um processo natural, que é a fermentação alcoólica, ele é elaborado ao invés de fabricado ou produzido.

1.4 A elaboração

Há um período correto para a colheita (vindima) das uvas. Neste, deve ocorrer um equilíbrio perfeito entre o teor de açúcares, a maturação fenólica e a acidez da uva, fatores que contribuirão para formar um vinho de ótima qualidade [1 – 3, 25].

Após a colheita, as uvas devem ter seus engaços retirados mecanicamente, pois estes contêm muito tanino, que conferirá muita adstringência ao vinho. Posteriormente serão levemente esmagadas para a liberação do mosto e este conduzido para uma cuba de fermentação. Até este ponto não se definiu ainda se irá ser elaborado vinho tinto ou branco. Para a vinificação em branco, apenas o mosto deve estar presente. Ao contrário da elaboração de vinhos tintos, cuja fermentação do mosto deve ocorrer na presença das partes sólidas das uvas, pois como visto anteriormente, principalmente na película é que se encontram as antocianinas, que conferirão cor e taninos ao vinho.

Este processo, a fermentação alcoólica – FA, possui duração média entre 5 (cinco) e 20 (vinte) dias, o qual varia de acordo com os conhecimentos dos enólogos, sendo que para vinhos brancos ocorrerá em maior tempo bem como a baixas temperaturas (13 a 18°C), contra 23 a 30°C para tintos. No início desta etapa ocorre a adição de SO₂ (gasoso ou como metabissulfito de sódio ou potássio) para inibir o crescimento de bactérias e fungos, ou seja, o SO₂ possui função de conservante seletivo, deixando desenvolverem apenas certas leveduras (do gênero *Saccharomyces*). O SO₂ também possui função antioxidante [16].

Após o término da fermentação alcoólica, em vinho tinto, o líquido é então separado das partes sólidas num processo conhecido como descuba e é posto a fermentar (segunda fermentação, fermentação lenta ou fermentação malolática – FML). Este processo pode ser realizado tanto em duas quanto na mesma cuba, durando cerca de 20 a 30 dias. Nesta, o ácido

málico será transformado em ácido láctico, mais fraco. Como a fermentação malolática diminui a acidez no vinho, tal etapa é indesejada em vinhos brancos. Por isso, estes são reservados a baixas temperaturas [16].

Segue-se a fase de estabilização (em ambos, branco e tinto), onde as partículas da fermentação (leveduras mortas e resíduos das partes sólidas), com auxílio da força gravitacional depositam-se no fundo da cuba, obtendo-se, assim, uma homogeneização do vinho. Para acelerar esta etapa, com duração de algumas semanas, faz-se a trasfega do mosto. Ou seja, transfere-se o mosto de uma cuba à outra, descartando a borra. Adicionam-se também aditivos (clarificantes como albumina para tintos ou então caseína ou bentonita para brancos, por exemplo), além de uma redução da temperatura (0 – 6°C).

Na etapa seqüencial, para vinhos de guarda ocorrerá o envelhecimento do vinho em barricas, cujo tempo depende do vinicultor. Pode variar de alguns meses até alguns anos. Nela, o vinho desenvolverá suas características organolépticas, ocorrendo complexação de compostos. Em se tratando de vinhos jovens esta etapa é desnecessária.

Dependendo também do tipo de vinho a ser elaborado, pode-se realizar cortes. Ou seja, vinhos de diferentes uvas são misturados visando realçar o que há de melhor nas características de cada uma delas. Outra possível etapa é o envelhecimento em garrafas para vinhos mais encorpados, que mereçam maior afinamento.

Uma representação simplificada dos passos de elaboração de vinhos tintos e brancos está sendo indicada pela figura 4, lembrando-se que a etapa de fermentação pode ocorrer em uma única cuba.

Além deste processo de vinificação também há outros possíveis de se realizar, os quais poderão conferir características sensoriais diferenciadas do vinho, como a maceração carbônica e a termovinificação [40].

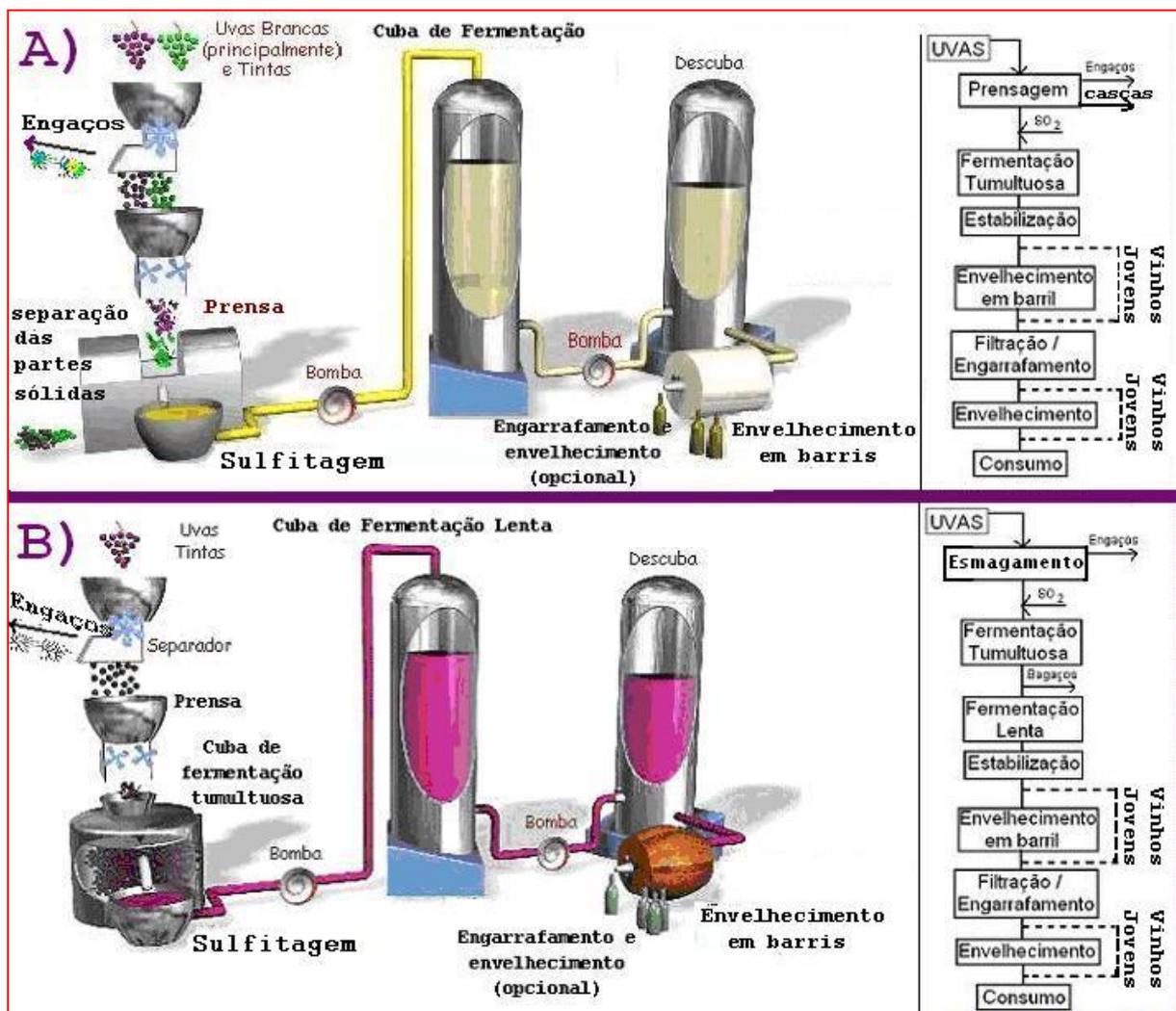


Figura 4: Esquema simplificado de elaboração de vinho branco (a) e tinto (b).

1.5 A composição de um vinho

Além dos fatores geográficos, biológicos e tecnológicos, existem outros que também influenciam na composição e qualidade de um vinho, tais quais os fatores de produção, como a garrafa onde se armazenará a bebida, a qualidade e composição da rolha, a forma, temperatura e posição de estoque dos vinhos. Assim como os fatores de consumo, como as taças, a temperatura e a forma correta de serviço, o ambiente e a companhia durante a degustação e também a combinação com os alimentos [1 – 3, 25].

Tais fatores podem ser ditos como enológicos. Mais alguns outros merecem destaque especial, como: água, vitaminas, minerais, aminoácidos, carboidratos, ou seja, sua composição química. Estes fatores são aqueles que alguns enólogos utilizam para definir o vinho como um alimento ao invés de uma simples bebida alcoólica [2].

Como todo alimento (ou mesmo apenas como o produto de um processo tecnológico), o vinho merece um controle de qualidade não só durante sua elaboração, mas também em

relação à sua constituição, venda e outros. Para tanto, cada país cria a sua legislação que controlará tais procedimentos.

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA é o órgão responsável em criar e fiscalizar leis e normas que define, regulariza e controla a elaboração e circulação dos vinhos. Merecem destaque a lei 10.970, de 12 de novembro de 2004 [24], que dispõe sobre produção, circulação e comercialização de vinhos, alterando a lei 7.678 de 08 de novembro de 1988 (a LEI do VINHO) [23] e a portaria 229, de 25 de outubro de 1988, que decreta os padrões de identidade e qualidade do vinho [41]. Nesta portaria, são indicados, além das definições básicas dos diferentes tipos de vinho (de mesa, fino, frisante, leve, espumante, gaseificado, licoroso e composto), os teores máximos e mínimos para alguns constituintes na composição do vinho. A tabela 2 mostra esses valores para os vinhos de mesa secos, sabendo-se que vinho fino é o vinho de mesa elaborado somente com uvas do gênero *Vitis Viníferas*.

Tabela 2: Teores máximos e mínimos para alguns componentes de vinhos de mesa secos, tintos e brancos.

Componente	Teor mínimo	Teor máximo	Unidade	Expresso como
Açúcar	---	4,0	g L ⁻¹	C ₆ H ₁₂ O ₆
Etanol	7,0	14,0	% v / v	CH ₃ CH ₂ OH
Etanol (vinho fino)	8,6	14,0	% v/ v	CH ₃ CH ₂ OH
Acidez Total	55,0	130,0	meq L ⁻¹ (mmol L ⁻¹)	[H ⁺]*
Acidez Volátil	---	20,0	meq L ⁻¹ (mmol L ⁻¹)	[H ⁺]*
Sulfatos Totais	---	1,0	g L ⁻¹	K ₂ SO ₄
Anidrido Sulfuroso	---	0,25	g L ⁻¹	SO ₂
Cloretos Totais	---	0,20	g L ⁻¹	NaCl
Cinzas (tintos)	---	1,5	g L ⁻¹	---
Cinzas (brancos)	---	1,0	g L ⁻¹	---
Álcool Metílico	---	0,35	g L ⁻¹	CH ₃ OH

* Por simplificação, ácidos serão expressos por H⁺.

1.6 As análises do vinho

Partindo-se destes parâmetros, e sabendo-se de vários outros que lhe são característicos, vários cientistas vêm buscando caracterizar os vinhos em função de sua constituição química a mais de cinquenta anos, como pode ser visto nos trabalhos de Mathers

et al com a determinação de tartaratos por polarografia [42]; Banick e Smith com determinação espectrofotométrica de ferro e cobre [43]; Martin *et al* que concluíram sobre a ausência de ácido tartárico em “vinhos” elaborados a partir de outras fontes que não a uva por cromatografia gás-líquido [44] e Kitchin *et al* que determinaram metanol por espectroscopia de microondas [45].

Atualmente, estes parâmetros continuam a interessar os pesquisadores como uma maneira de controlar a qualidade [46 – 48] ou caracterizar os vinhos [49 – 51]. Os vinhos nacionais também são alvos de estudos, tanto pelo objetivo enológico [52 – 54] quanto pelo analítico [55 – 57].

Visando um controle adequado nas análises, a Organização Internacional da Uva e do Vinho – Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – OIV [58] e a Associação Oficial de Químicos Analíticos – Association of Official Analytical Chemistry – AOAC [59] estabeleceram procedimentos de análises específicos para a determinação de um grande número de parâmetros em vinhos.

Dentre estes parâmetros, os mais utilizados em análises de vinhos são, além dos indicados na tabela 2, o pH, densidade e extrato seco [60, 61], pigmentos naturais e coloração [61, 62], constituintes voláteis [63, 64], minerais [65, 66], análises sensoriais [67, 68], entre vários outros.

O pH está relacionado, junto com a acidez, com as propriedades organolépticas do vinho. Auxilia no controle (ou proliferação, dependendo do seu valor) de bactérias, que poderão degradá-lo, diminuindo, assim, o tempo de vida útil de prateleira do mesmo. O pH mede a quantidade de íons H^+ em equilíbrio no meio. Enquanto que a acidez total indica a concentração de todos os íons H^+ que podem ser abstraídos por uma base. Desta forma, as metodologias oficiais baseiam-se em titulação ácido-base para a determinação da acidez. Portanto, diversos são os métodos para a sua realização. Darías-Martín *et al* [69] determinaram a acidez por três métodos diferentes, AOAC, OIV e titulação condutimétrica. Observaram diferenças somente devido ao pH escolhido como ponto final da titulação, que é $pH = 7$ para OIV (utilizando-se indicador azul de bromotimol) e 8,2 (fenolftaleína) para AOAC. Sendo a mais indicada a metodologia da AOAC. Dos ácidos existentes (tabela 3), os principais são o tartárico e o málico, perfazendo cerca de 90% da acidez total. Destes, o ácido tartárico é específico da uva, e conseqüentemente do vinho [70, 71].

Tabela 3: Ácidos comumente existentes nos vinhos e seus valores de pK_a .

Ácido	Fórmula	pK_{a1}	pK_{a2}
Oxálico	HO_2CCO_2H	1,27	4,27
Pirúvico	CH_3COCO_2H	2,49	---
Tartárico	$HO_2C[CH(OH)]_2CO_2H$	2,98	4,16
Cítrico	$HO_2CC(OH)(CH_2CO_2H)_2$	3,13	4,76
Málico	$HO_2CCH(OH)CH_2CO_2H$	3,40	5,02
Láctico	$CH_3CHOHCO_2H$	3,86	---
Ascórbico	$HO_2CCOHCOH(CHOH)_2CH_2OH$	4,17	---
Succínico	$HO_2CCH_2CH_2CO_2H$	4,20	5,63
Acético	CH_3CO_2H	4,76	---

A densidade do vinho fornecerá uma idéia da quantidade de substâncias presentes em sua composição e que são mais ou menos densas que a água. A presença do etanol, cuja densidade é menor que a da água, tenderá a ocasionar uma densidade do vinho menor que o valor da água, indicada como 1 g cm^{-3} . Segundo a OIV [58], densidade relativa reporta a massa volumétrica do vinho ou mosto a $20\text{ }^\circ\text{C}$ à massa volumétrica da água na mesma temperatura. Sendo massa volumétrica (ou gravidade específica) o quociente entre a massa do vinho ou mosto, a $20\text{ }^\circ\text{C}$, e seu volume à mesma temperatura. A determinação da densidade é realizada por meio da gravidade específica da amostra, utilizando-se um picnômetro. A densidade é então determinada pelo produto de sua gravidade específica pela densidade da água na temperatura de análise [72].

O teor de extrato seco é o conjunto total de substância que, sob condições físicas determinadas, não se volatilizam [58]. Consiste na evaporação a $105\text{ }^\circ\text{C}$ de um volume fixo de vinho e pesagem deste resíduo. Dentre as principais substâncias que compõem este parâmetro podem-se citar os minerais e sais orgânicos, compostos fenólicos e açúcares não fermentados. Portanto, pode ser uma variável importante para a caracterização e / ou distinção de uma certa região vitivinícola, pois reflete a quantidade de componentes que conferem estrutura e “corpo” ao vinho, sendo possível indicador da qualidade / maturação da uva e do sistema de vinificação adotado naquela região [54, 73].

O teor alcoólico do vinho é determinado pela quantidade de açúcares fermentáveis existentes na uva, conferindo qualidade ao vinho e ajudando na sua conservação. Pode ser definido como o número de litros de etanol em 100 litros do vinho, medido a $20\text{ }^\circ\text{C}$ [58]. A sua determinação oficial é comumente realizada por destilação e análise do índice de refração ou da massa específica do destilado [58, 59]. Por ser um dos compostos mais importantes na

constituição do vinho, encontram-se na literatura várias outras metodologias para a sua determinação como as que se utilizam de HPLC [74], FIA [75] e RMN-1H [76].

Os minerais presentes nos vinhos são extremamente dependentes das técnicas empregadas para vinificação e da composição inicial do mosto. Esta, por sua vez, é dependente das técnicas de plantio da videira. Devido a tais características (solo, castas, técnicas de plantio e vinificação), a composição inorgânica aparece como uma importante variável para a caracterização dos vinhos de alguma região vinícola. Segundo Rizzon e Salvador [77], os elementos minerais presentes nos vinhos podem ser classificados em três grandes grupos: (i) os que não interferem na qualidade nem possuem risco à saúde humana (por exemplo, Na e Li); (ii) úteis para a qualidade e benéficos à saúde (K, Fe e Cu) e (iii) tóxicos à saúde humana (Pb, Cr e Cd).

A principal forma de determinação dos metais é pela espectroscopia atômica, bastante empregada na análise de vinhos [78 – 80].

1.6.1 Espectroscopia Atômica

As bases da teoria quântica que descrevem as interações da radiação eletromagnética com a matéria estão fora do escopo deste texto (no interesse do leitor, recomenda-se alguns livros que abordam o tema, como Levine [81] ou Grove [82]), porém algumas das idéias devem ser aqui mencionadas.

- Átomos, íons ou moléculas só podem existir em certos estados discretos, com determinados níveis de energia (quantizado). Esta energia é a soma das energias interna, cinética, eletrônica, vibracional e rotacional do sistema;
- Com a interação da radiação com o sistema (por absorção ou emissão de energia), podem ocorrer transições entre estes níveis de energia que, quando de alguma forma registradas, fornecem uma identidade química para cada átomo, íon ou molécula. O seu espectro.

Os espectros podem ser de linhas, bandas ou contínuo, dependendo dos níveis de energia do sistema em estudo. No caso específico de átomos ou íons, as contribuições dos fatores vibracionais e rotacionais para a energia são nulas, tornando os espectros atômicos mais simples, em relação aos moleculares (figura 5).

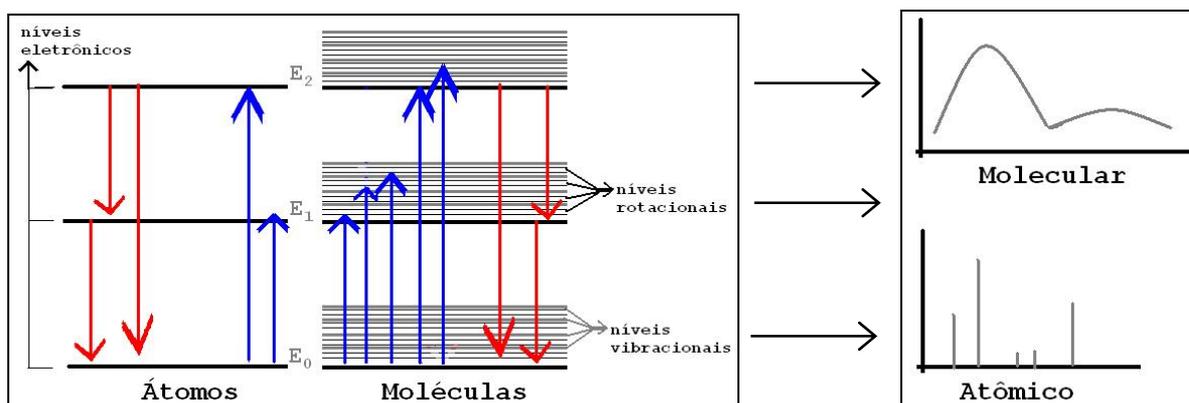


Figura 5: Diagrama simplificado de níveis de energia atômica e molecular e espectros correspondentes.

Como o nível de mais baixa energia (nível fundamental, E_0 na figura 5) à temperatura ambiente é o mais populado, segundo a teoria de L. E. Boltzmann que diz que os níveis populacionais são dependentes da temperatura [81], é de se esperar que os métodos de absorção sejam mais sensíveis que os de emissão.

Os equipamentos são constituídos por um sistema que irá aspirar a amostra em solução; um sistema que fornecerá energia suficiente para a evaporação da solução e atomização do analito (atomizador); um sistema ótico e o detector / registrador. Detalhes sobre cada um destes sistemas podem ser melhor compreendidos em textos específicos sobre o tema, tal como o livro do Dean [83] ou do Skoog [84].

Existem diversas formas de atomização do analito, sendo ainda a mais comum nos laboratórios a realizada através de chamas. Esta, por sua vez, também poderá fornecer a energia necessária à excitação dos átomos e, quanto maior a temperatura da chama, maior a energia cedida. Porém, para elementos químicos que possuem baixa energia de ionização e níveis de energia com valores mais baixos, tal efeito pode ocasionar interferências, diminuindo a sensibilidade. Desta forma é recomendada a utilização de chamas mais “frias” as quais são empregadas na técnica de emissão em chama [85, 86].

A espectroscopia de emissão atômica de chama – FAES (acrônimo para Flame Atomic Emission Spectroscopy), também conhecida como Fotometria de chama, é uma das técnicas mais antigas que se utiliza da chama de uma mistura de ar / butano, ou outras misturas que fornecem chamas com temperatura média de 2000 K, para atomização e excitação dos analitos. Esta técnica é aplicada para determinação de metais alcalinos, pois, nestas temperaturas, só ocorrem transições entre os mais baixos níveis excitados [83]. Sendo, desta forma, uma técnica aceita como oficial para a determinação dos mesmos [58].

Dos metais alcalinos, o potássio é o elemento em maior quantidade e de maior

importância na composição do vinho e está intimamente ligado à determinação dos valores de acidez e pH nos vinhos, sendo o possível responsável por elevados valores de pH encontrados em vinhos [77, 87]. Quanto ao sódio, é o cátion mais comumente empregado em produtos enológicos durante a vinificação (principalmente metabissulfito de sódio) [77]. A legislação [41] não especifica diretamente limites para o teor de sódio, mas indiretamente sugere o limite superior de 79 mg L^{-1} quando estipula o máximo de cloretos em $0,20 \text{ g L}^{-1}$, expressos como NaCl.

Todas estas técnicas já estão bem estabelecidas há muitos anos e, conseqüentemente, já se conhecem as suas peculiaridades, suas vantagens e também desvantagens, tais como grande consumo de reagentes e geração de resíduos químicos e alta demanda de tempo e utilização de vidrarias, dentre outras. Estas características são comuns à maioria das operações unitárias de laboratório.

Tendo estas informações em mente, vários pesquisadores buscaram o desenvolvimento de técnicas que suprissem tais dificuldades sem perdas da resposta desejada.

Uma forma de melhorar (diminuir) o tempo de análise, a utilização de vidrarias, o consumo de reagentes e produção de resíduos, bem como o risco de contaminação (por se tratar de um sistema fechado) é através da Análise por Injeção em Fluxo. Terminologia oriunda da tradução livre do termo Flow Injection Analysis, originando o acrônimo mundialmente conhecido, FIA.

1.6.2 Análise por Injeção em Fluxo

Os trabalhos iniciais que desenvolveram esta técnica foram realizado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, CENA – USP e são creditados ao professor Dr^o Jaromir Ruzicka, quando o mesmo esteve no Brasil na década de 70 [88, 89].

Segundo a International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC [90], análise em fluxo é um nome genérico para todos os métodos analíticos que são baseados na introdução e processamento de uma amostra num meio de fluxo. Desta forma, FIA seria classificado como uma análise em fluxo contínuo não segmentado com injeção da amostra por amostragem intermitente.

De uma forma mais simplificada, FIA pode ser definida como a inserção da amostra em um fluido carregador que o transportará até o detector, podendo, no caminho, haver reações químicas (receber reagentes), concentração / diluição da amostra ou outras operações unitárias [91]. Um esquema FIA simplificado pode ser visto na figura 6, abaixo.

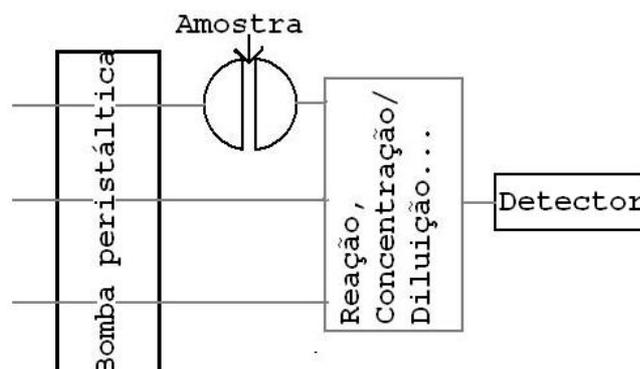


Figura 6: Esquema simplificado de um sistema de Análise por Injeção em Fluxo.

Para que se possa utilizar um sistema de Análise por Injeção em Fluxo são necessários três componentes básicos interligados.

- Propulsor do fluido;
- Dispositivo para Inserção da amostra;
- Detector.

A forma mais utilizada para propulsão dos fluidos é a bomba peristáltica, equipamento que mantém a vazão do fluido constante.

Para a inserção da amostra existem diversos dispositivos, sendo que inicialmente era utilizada uma seringa hipodérmica (daí a origem do nome “Injeção” em fluxo). Hoje em dia o mais utilizado é o injetor proporcional, equipamento desenvolvido por pesquisadores do CENA / USP [89, 91].

Há também outras formas de propulsão de fluidos e inserção de amostras como a utilização de mini-bombas peristálticas e válvulas solenóides na técnica recentemente desenvolvida, multicomutação em fluxo [92, 94].

A mistura entre amostra e reagentes antes de alcançar o detector ocorre no percurso analítico. Este compreende o espaço desde a inserção da amostra até o detector e, a depender da reação em estudo, pode ser apenas tubo de Teflon® e / ou PVC (os mais utilizados) até esquemas mais elaborados. É nesta etapa que ocorrerão os processos químicos e / ou físicos que compreendem o processo de análise.

Os detectores utilizados dependem fortemente das características físicas e / ou químicas do analito ou do produto formado entre o analito e o(s) reagente(s) na reação em desenvolvimento [95]. Inúmeras são, devido às peculiaridades das substâncias químicas, as possibilidades de detecção. Potenciometria [96], turbidimetria [97] e quimiluminescência [98] são alguns poucos exemplos.

Em sua terceira década de existência, métodos baseados em análise por injeção em fluxo ganharam reconhecimento e são bastante difundidos na literatura, em diversas áreas do conhecimento, tais como geociências [99], agricultura [100] e oceanografia [101]. Aplicações em enologia também são um dos focos desta técnica [102 – 104].

A utilização do FIA com detecção espectrofotométrica é mais comumente utilizada por ser facilmente manuseado, possuir pequeno intervalo (temporal) de resposta e alto grau de reprodutibilidade. Devido a tais características, ganhou mérito de método oficial para determinação de vários analitos, principalmente em amostras de águas. Dentre eles, fosfato e amônio são dois dos mais frequentemente analisados [95, 105].

A determinação de íons amônio é realizada pelo método padrão de azul de indofenol, onde amônia reage com hipoclorito de o produto formado reage com fenol formando o composto detectado espectrofotometricamente [105]. Visando minimizar os efeitos danosos da utilização de fenol, Nóbrega e colaboradores [106] desenvolveram uma modificação desta reação que emprega salicilato ao invés do fenol. Sendo, segundo os autores, um composto menos danoso e passível de descarte sem tratamento. Tal metodologia também utilizou nitroprussiato como catalisador e observaram que este método mostrou-se tão preciso e exato quanto o oficial.

A determinação de fosfato é baseada na reação do azul de molibdênio, onde o fosfato reage em meio ácido com molibdato de amônio contendo tartarato de antimônio e potássio e o composto formado é reduzido pelo ácido ascórbico e é detectado espectrofotometricamente a 880 nm [105].

Várias metodologias já foram propostas para a determinação em fluxo de amônio e fosfato [107 – 109].

Em vinhos, segundo o método oficial da OIV, apenas fósforo total é determinado, na forma de fosfato, após preparo de amostra e reação com molibdato. Para os íons amônio há a passagem da amostra por uma resina trocadora de cátions, seguida por eluição do analito, destilação e posterior titulação ácido-base [58].

A utilização de técnicas em fluxo fornece grande ganho na determinação de amônio em vinhos, principalmente na leitura direta da amostra.

Este cátion é uma das principais formas de apresentação dos compostos nitrogenados no vinho. Íons amônio e aminoácidos livres são excelentes fontes de nitrogênio para o desenvolvimento e metabolismo das leveduras que processarão a fermentação. Desta forma, seus teores variam consideravelmente, sendo que restaram quantidades significativas apenas dos aminoácidos não utilizados pelas leveduras, pois o íon amônio é a melhor forma de assimilação de nitrogênio pelas mesmas [110].

Com a presença de bactérias que processaram a fermentação malolática no vinho e produzem amônio como sub-produto, bem como pela maior prensagem na extração do mosto, é de se esperar que vinhos tintos possuam teores mais elevados de amônio. Podendo, esses valores, serem superiores a 20 mg L^{-1} [111].

O fósforo também se encontra naturalmente em vinhos, principalmente como fosfato (na forma de H_2PO_4^- , devido ao pH). Sua concentração é bastante influenciada pelo clima da região produtora, bem como pela adição lícita de compostos de fósforo para facilitar a fermentação, como nutrientes para as leveduras (fosfato de amônio ou glicerofosfato de amônio, por exemplo) [111].

Uma outra forma de se obter informações rápida sobre analítos, utilizando-se de um pequeno volume de amostra, é através da espectroscopia molecular.

1.6.3 Espectroscopia Molecular

Como visto no tópico referente à absorção atômica, a interação da radiação com a matéria pode gerar informações úteis para a identificação de moléculas, átomos e / ou íons.

Para moléculas, as contribuições de energia dos níveis vibracionais e rotacionais são importantes e geram, devido à pouca diferença energética entre estes últimos em relação à eletrônica, espectros de bandas que podem ser (e geralmente são) muito mais complexos que os atômicos. Quando uma molécula absorve energia, podem ocorrer transições entre os níveis eletrônicos (figura 5, página xx). Porém, se a energia não for muito alta, pode haver apenas transições entre os níveis vibracionais e rotacionais, que causarão excitações nas vibrações das ligações químicas ou rotação molecular. Esta é a base da espectroscopia no infravermelho.

Por esta complexidade, a espectroscopia no infravermelho é extremamente eficiente na caracterização de compostos químicos. Pois, a exceção de poucos exemplos (tais como O_2 e N_2), todas as moléculas absorvem radiação infravermelha e produzem um espectro único. Um desvio à regra é apenas para enantiômeros, que podem produzir tal simetria [112].

As teorias matemáticas que justificam estas mudanças nas vibrações químicas baseiam-se no oscilador harmônico. Esta teoria diz que as funções de onda que descrevem as moléculas podem ter suas energias (E) determinadas pela equação 1:

$$E = (v + 1/2) \frac{h}{2\pi} (k/\mu)^{1/2} \quad (1),$$

onde v = número quântico vibracional; h = constante de Planck; k = constante de força da ligação química e μ = massa reduzida do sistema.

Segundo esta teoria, as transições só podem ocorrer com variação unitária do número quântico vibracional, $\Delta v = \pm 1$, implicando em vibrações numa frequência determinada ν :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} (\mathbf{k}/\mu)^{1/2} \quad (2),$$

equivalente à aproximação de duas massas (os átomos ou partes de uma molécula) ligadas por uma mola (a ligação química).

Cada molécula possui um número definido de vibrações, de acordo com o número de átomos presentes em sua estrutura e com sua geometria, dado por $3N - 5$ (moléculas lineares) ou $3N - 6$ (não lineares), onde N = número de átomos na molécula. Estes são os graus de liberdade que ela possui para realizar seus modos normais de vibração. Alguns exemplos são dados na figura 7.

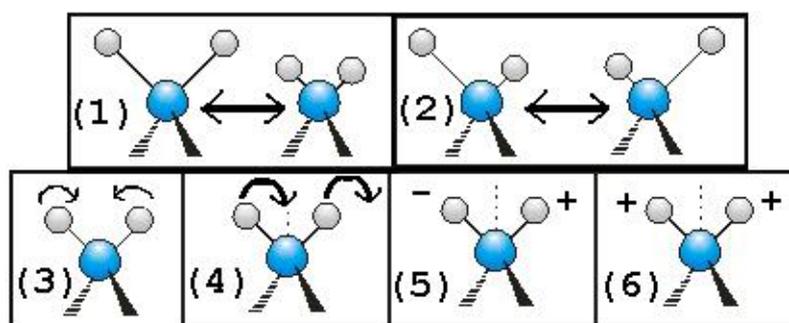


Figura 7: Modos Normais de vibração. Estiramento (1 e 2) e deformação (3 a 6).

Detalhes mais rigorosos da teoria quântica que descreve estes sistemas podem ser consultados em textos mais direcionados ao assunto (recomendam-se os livros do Alpert [113] ou do Smith [114]).

As interações moleculares e os acoplamentos vibracionais entre grupos vizinhos deslocam as frequências calculadas pela equação acima, porém, numa faixa pequena. Com isso, pode-se afirmar que grupamentos químicos possuem frequências de absorção bem características. A presença (ou ausência) dessas, independente da estrutura molecular, é confirmatório da presença (ou ausência) de um determinado grupo ou composto [115].

A radiação no infravermelho compreende a faixa de 0,75 a 1000 μm . Entretanto, devido à algumas características de fenômenos que ocorrem nesta faixa de energia, bem como em termos de instrumentação, o infravermelho é subdividido em três partes: o próximo, que vai de 0,75 a 2,5 μm ; o médio, 2,5 a 50 μm e o distante, de 50 a 1000 μm .

A faixa de energia que compreende o infravermelho distante (FIR – Far InfraRed) é tão baixa que a energia térmica fornecida pelo ambiente é grande interferente. Elevando-se assim os custos dos equipamentos e, com isso, diminuindo a utilização desta faixa.

Historicamente, a região do infravermelho médio (MID – Middle Infrared) é a mais utilizada pelos químicos, principalmente os orgânicos, para a caracterização de suas moléculas. É nesta região que ocorrem as vibrações fundamentais dos principais grupamentos orgânicos, inclusive O–H da água, que absorve fortemente. Conseqüentemente, a umidade do ambiente, bem como analitos em solução aquosa, são grandes empecilhos para a análise no infravermelho. A umidade pode ser controlada com uso de equipamentos específicos presentes na sala onde está instalado o aparelho. Para analitos em solução, há a necessidade de utilização de acessórios no instrumento (detalhes sobre instrumentação e acessórios para o infravermelho podem ser melhor consultados no texto do Skoog [84]).

A utilização de sondas insolúveis em água (feitas de Brometo e Iodeto de Tálcio ou Cloreto de Prata e germânio) que se baseiam na reflexão da radiação incidente é bastante comum para tal fim [116]. A reflexão total atenuada – ATR (acrônimo para Attenuated Total Reflection) é um exemplo.

A técnica baseia-se na reflexão interna total da radiação quando esta atinge a superfície de contato entre um meio (o analito) de menor índice de refração originada de outro (a sonda) com maior índice, num certo ângulo determinado, conhecido como ângulo crítico [117]. Neste processo ocorre uma pequena (mais importante) penetração do feixe incidente no meio menos denso (o analito), conhecida como onda evanescente. Caso haja absorção dessa onda, haverá uma atenuação, daí o nome ATR, do feixe incidente e seu registro fornecerá o espectro da molécula [84].

A região do infravermelho próximo (NIR – Near InfraRed) foi a primeira faixa do infravermelho a ser descoberta. Foi no início do século XIX pelo cientista F. W. Herschel que a denominou “raios caloríficos”. Mesmo assim, acabou sendo esquecida por mais de um século pelos pesquisadores devido ao grande sucesso que o MID apresentava naquela época [118].

O NIR não pode ser explicado pelas equações 1 e 2 acima. As regras de seleção (ver referência 119) indicam a impossibilidade de transições com $\Delta v \neq 1$ ou de haver combinações entre freqüências. Porém, elas existem.

A medida que dois átomos (ou grupo de átomos) se aproximam numa vibração, a energia potencial muda devido às interações eletrostáticas, inserindo uma perturbação no sistema. Esta perturbação é melhor descrita utilizando-se o modelo anarmônico para o oscilador, cujas energias agora são dadas pela equação 3:

$$E = (v + 1/2) \frac{h}{2\pi} (k/\mu)^{1/2} - \chi_m (v + 1/2)^2 \frac{h}{2\pi} (k/\mu)^{1/2} \quad (3)$$

As teorias, bem como fundamentos e aplicações, da espectroscopia NIR podem ser melhor consultadas em textos disponíveis na literatura, como o livro do Levine [119] e o artigo de revisão de Pasquini [118], por exemplo.

Assim como no MID, as bandas de absorção no NIR também ocorrem com boa regularidade e podem ser úteis à caracterização de moléculas. Kaye realizou extensivo trabalho de estudo espectral nesta região do infravermelho, criando uma tabela de caracterização de bandas, indicando possíveis faixas onde vibrações podem ocorrer. As principais são combinações e sobretons de vibração contendo o átomo de Hidrogênio, X – H, onde X = C, N, O, S [120].

Atualmente, MID e NIR vêm sendo bastante utilizadas em aplicações analíticas, principalmente quando da utilização conjunta com a Quimiometria. Determinações de parâmetros em combustíveis [121], polímeros [122] e alimentos [123] são exemplos. Os vinhos também são foco de estudos com tais técnicas [124 – 126].

Inúmeras outras variáveis têm sido analisadas e muitos estudos têm sido realizados para a caracterização dos vinhos além dos poucos indicados aqui. Espectroscopia UV-Visível [127], Ressonância Magnética Nuclear [128], Espectroscopia de Massa por razão Isotópica [129], Fluorescência de Raios – X [130] e HPLC [131] são outros exemplos.

1.7 Uma Identidade para o Vinho

Todos estes parâmetros são úteis para a caracterização do vinho de uma determinada região, podendo fornecer informações sobre substâncias presentes, e também suas concentrações, de maneira que indiquem a peculiaridade daquela região vinícola. Fornecendo assim, através da identidade química (marcadores de qualidade), uma identidade geográfica para o vinho.

A Lei 9.279 de 14/05/1996, a Lei da Propriedade Intelectual [132], regula direitos e obrigações relativas à propriedade intelectual e também define os termos Indicação Geográfica (IG), Indicação de Procedência (IP) e Denominação de Origem (DO). Sendo este último comum à vinhos europeus [4]. Segundo esta Lei, a Indicação Geográfica é tomada como Indicação de Procedência ou Denominação de Origem, sendo IP “o nome geográfico (...) que se tenha tornado conhecido como centro de extração, produção ou fabricação de determinado produto (...)” e DO, “o nome geográfico (...) que designe produto ou serviço cujas qualidades ou características se devam exclusiva e essencialmente ao meio geográfico,

incluídos fatores naturais e humanos”. Ela também define os requisitos e condições necessárias para a solicitação da Indicação Geográfica de determinado produto (incluindo o vinho).

No Brasil, a primeira região a obter uma Indicação de Procedência foi o Vale dos Vinhedos, no Rio Grande do Sul, em 2002. E esta já se encontra em fase de desenvolvimento para a qualificação à Denominação de Origem. Cinco outras regiões também estão com projetos em desenvolvimento para a solicitação da IP, sendo que apenas uma não é do RS. A VALEEXPORT (Associação de Produtores e Exportadores de Hortigranjeiros e Derivados do Vale do São Francisco), em conjunto com a VINHOVASF (Instituto do Vinho do Vale do São Francisco), estão em busca da primeira IP para o Vale do Submédio São Francisco [133, 134]. Desta forma, há uma grande necessidade de se caracterizar os vinhos elaborados nestas regiões, descrevendo-os quanto a sua composição química.

Quanto maior o interesse pela classificação e caracterização de vinhos (ou de quaisquer outros sistemas químicos, físicos, biológicos...), maior a quantidade de variáveis que são obtidas neste processo. À medida que esta quantidade aumenta, maior é a dificuldade na análise dos dados obtidos. Em muitas ocasiões, a resposta desejada é representada por uma pequena fração destes dados, porém elas estão perdidas (ou inseridas) num verdadeiro mar de informações. A obtenção destes dados que são relevantes à conclusão do trabalho pretendido pode ser facilitada com auxílio de técnicas da Matemática e da Estatística.

1.8 Estudo Quimiométrico

O ramo do conhecimento que permite a obtenção de informações químicas de um sistema de natureza multivariada, utilizando-se de conhecimentos matemáticos e estatísticos é a Quimiometria.

A Quimiometria é a parte da Química que emprega estes métodos para planejar, definir e selecionar condições experimentais e obter, posteriormente, o máximo de informações com a análise dos dados obtidos. Ela possui técnicas que permitem encontrar, dentro do mar de informações, aquelas que podem possuir maior variação nos resultados e que, portanto, podem ser mais importantes para a realização do trabalho de classificação e descrição [135].

Quando se deseja avaliar se existe algum agrupamento natural nas informações contidas no conjunto de dados, sem deter conhecimento preliminar sobre possíveis classes, a análise de reconhecimento de padrões é de grande valia.

Estas técnicas permitem a visualização de gráficos bi ou tridimensionais que somados ao conhecimento do sistema em estudo, pode gerar entendimento e razões químicas para a presença (ou ausência) de agrupamentos. Entretanto, um lado negativo desta análise é que a não formação de grupos não é confirmatória da inexistência de agrupamentos naturais. Pode ser, apenas, que o conjunto de medidas realizadas não tem poder discriminante suficiente para a observação dos grupos, sendo necessário mais estudos [136].

As ferramentas mais comuns de reconhecimento de padrões são a Análise de Componentes Principais, do inglês Principal Components Analysis – PCA, e a Análise de Agrupamento Hierárquico, Hierarchical Cluster Analysis – HCA.

A técnica quimiométrica denominada Análise de Componentes Principais realiza uma rotação dos eixos originais (as variáveis estudadas) buscando novos eixos, as componentes principais – PC's, que apontam na direção de maior espalhamento (ou variação) dos dados originais (figura 8). Essas componentes principais representam combinações lineares dos eixos (variáveis) de partida.

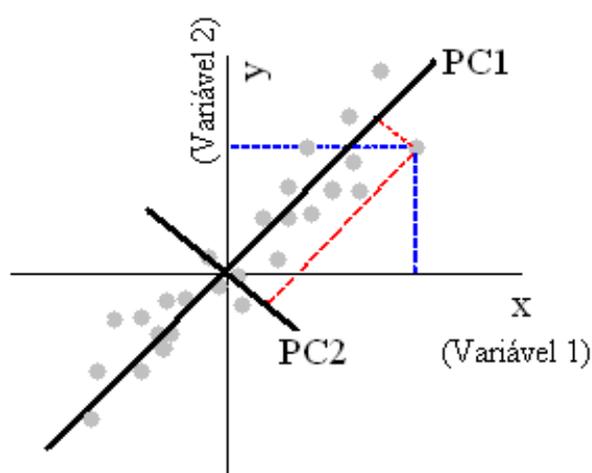


Figura 8: Figura ilustrativa do funcionamento de uma PCA.

Tais eixos, PC's, possuem algumas propriedades importantes na compreensão dos resultados [136]:

- i Cada componente principal é ortogonal às demais;
- ii O maior número de PC's que podem ser calculadas corresponde ao número de variáveis utilizadas, ou seja, p variáveis produzirão p PC's;

- iii A primeira componente principal é o eixo cuja direção descreve a maior variação dos dados, i.e., possui a maior variância. A segunda componente descreve a direção da segunda maior variância do sistema (figura 8) e assim por diante;
- iv Assim como cada ponto possui coordenada nas variáveis originais (figura 8, linhas tracejadas azuis), também as possuem nas PC's (linhas vermelhas). Estas últimas são denominadas “escores”;
- v As PC's são combinações lineares das variáveis originais. Os pesos, ou seja, a importância das variáveis em cada PC é dada pelo co-seno do ângulo formado entre a variável e a PC. Esses “pesos” são denominados “loadings”.

Visto que as primeiras componentes principais contêm a maior parte da variância do sistema, as últimas, quase sempre, não são úteis à resolução do problema. Desta forma, os eixos originais podem ser resumidos a uma quantidade inferior de PC's. Diminuindo-se, assim, a dimensionalidade do estudo. Desta forma, torna-se possível a observação de padrões, caso existam, com a utilização de gráficos bi ou tridimensionais.

Para a realização de tais procedimentos, a PCA se baseia em equação de autovalores e autovetores (equação 4) da matriz de dados pré-processada, M . Um pré-processamento pode ser definido como alguma manipulação matemática dos dados iniciais para uma análise primária e é usada para remoção de fontes irrelevantes de variação (ruído) [136].

$$\mathbf{M} \cdot \mathbf{v} = \lambda \cdot \mathbf{I} \cdot \mathbf{v} \quad (4)$$

Onde \mathbf{v} = autovetor; λ = autovalor e \mathbf{I} = matriz identidade.

Após a realização da análise, os autovalores, λ , estão relacionados à variância do sistema em estudo, ou seja, a quantidade de informação contida nos dados originais. Os autovetores são os pesos que cada variável possui nesta análise. Um algoritmo comumente empregado para o cálculo de PCA é a decomposição em valores singulares – SVD, acrônimo para Singular Value decomposition (equações 5.1 e 5.2) [137]:

$$\mathbf{X} = \mathbf{U} \cdot \mathbf{S} \cdot \mathbf{V}^t = \mathbf{T} \cdot \mathbf{V}^t \quad (5.1)$$

$$\mathbf{T} = \mathbf{X} \cdot \mathbf{V} = v_1 x_1 + v_2 x_2 + \dots + v_n x_n \quad (5.2)$$

Onde \mathbf{X} = matriz de dados original; x_i = elementos de \mathbf{X} ; $\mathbf{U}\mathbf{S}$ = matriz dos escores (\mathbf{T});

\mathbf{V} = matriz dos pesos e v_i = elementos de \mathbf{V} (pesos de cada variável x_i).

Uma outra técnica útil à classificação de vinhos, e complementar à análise de componentes principais, é a Análise de Agrupamento Hierárquico (*Hierarchical Cluster Analysis – HCA*).

HCA pode ser definido como o processo pelos quais os objetos podem ser classificados em grupos baseados em propriedades objetivas ou subjetivas do próprio objeto. Quanto mais próximos são os valores obtidos para as variáveis de duas amostras distintas, mais similares tais amostras serão [138].

A similaridade, ou dissimilaridade, entre duas amostras é comumente designada pela medida da distância entre elas no espaço linear definido pelas variáveis medidas. Esta similaridade é matematicamente definida por: $S_{lk} = [1 - (d_{lk}/d_{máx.})]$, enquanto que a dissimilaridade consiste em $D = (d_{lk} / d_{máx.})$, onde d_{lk} = distância entre os objetos (amostras) l e k e $d_{máx.}$ = distância máxima entre qualquer par das amostras em estudo. Quando $d_{lk} = d_{máx.}$, $S_{lk} = 0$ e $D_{lk} = 1$. Ou seja, não há similaridades (total dissimilaridade) entre as amostras l e k [138].

Existem diversas maneiras de se calcular a distância entre os objetos, sendo que uma fórmula geral para esta medida é dada pela equação 6:

$$D_{lk} = \left[\sum_{n=1}^N (x_{ln} - x_{kn})^2 \right]^{1/2N} \quad (6)$$

Quando $N = 2$ tem-se a tão conhecida distância Euclidiana. Para $N = 1$, tem-se a distância Manhattan (city Block), que possui a vantagem em relação à euclidiana de ser menos influenciada por pontos anômalos (outlier), já que a Manhattan não é quadrática [139].

Após se determinar quais pontos possuem menor distância, maior semelhança, estes dois são unidos e formam um novo ponto. A ligação deste novo ponto a um terceiro mais próximo pode ser realizada de várias formas, entre elas: (i) pelo centro de massa dos dois pontos iniciais, conhecida como ligação centróide; (ii) pelo ponto mais próximo ao terceiro, ligação simples e (iii) pelo ponto mais distante, ligação completa [139].

Quando se determina a distância entre todas as amostras, obtém-se a matriz de similaridade. Estes valores podem ser exibidos em um gráfico bidimensional, conhecido como dendograma.

Na literatura, encontram-se livros e artigos que podem ser consultados para melhor compreensão destas técnicas, inclusive com exemplos práticos voltados para a área de Química [136, 138 – 143].

Existem vários estudos que utilizam-se destas técnicas quimiométricas para elucidação de seus dados, tais quais os trabalhos de Alberghina et al (1991) com óleos de oliva Sicilianos [144], Diniz *et al* (2002) com baterias automotivas [145], Marchini *et al* (2005) com méis produzidos no estado de São Paulo [146], entre vários outros.

Em relação aos vinhos, estudos envolvendo Quimiometria são bem difundidos, como os trabalhos de Heredia *et al*, (1997) com vinhos espanhóis [147], Nogueira e Nascimento (1999) com vinhos portugueses [148] e Brenna e Pagliarini (2001) com vinhos italianos [149] são alguns exemplos. No Brasil, encontram-se apenas os trabalhos de Rizzon *et al*. (1999) com vinhos tintos secos produzidos no Rio Grande do Sul [40] e Andrade *et al* (2007) com vinhos comercializados em Recife [150].

Outra forma de se usar a quimiometria é para a predição de valores de parâmetros que são demorados e difíceis de se obterem pelos métodos tradicionais. Este objetivo é alcançado realizando-se uma calibração de algum instrumento mais simples para os valores desejados. Ou seja, construindo-se um modelo matemático que relacione a grandeza de saída do instrumento com a grandeza alvo a ser predita [151].

Os modelos são equações matemáticas na forma $\mathbf{S} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{B}$, onde \mathbf{B} é a matriz dos coeficientes do modelo de regressão, isto é, os valores que relacionam uma grandeza medida como resposta S com uma outra desejada C (comumente a concentração). Dependendo da forma de se calcular, obtêm-se modelos clássicos, $\mathbf{S} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{B}$, ou inversos, $\mathbf{C} = \mathbf{S} \cdot \mathbf{B}$ [136].

Estes também podem ser designados uni ou multivariados, de acordo com o número de constituintes de interesse. Pimentel *et al* publicaram recentemente dois artigos que discutem estas calibrações e podem ser consultados para melhor entendimento das diferenças entre ambos [152, 153].

Nos modelos ditos clássicos são necessários os espectros (resposta comumente utilizada) puros de cada substância que se deseja conhecer sua (s) propriedade (s) e são melhor aplicados à determinação de um único analito medido com uma única variável [153].

Na prática estes requisitos geralmente não são possíveis de serem satisfeitos, necessitando da utilização de modelos mais fortes, que não possuam tais restrições, como os modelos de calibração inversos. Neste modelo a concentração (propriedade de interesse mais comum) é a soma ponderada pelos pesos da regressão, b , das respostas das variáveis e é melhor aplicada à calibração multivariada [136].

Os coeficientes “ b ” são determinados pela equação [154]: $\mathbf{B} = (\mathbf{S}'\mathbf{S})^{-1}\mathbf{S}'\mathbf{C}$, o que leva problemas a alguns métodos inversos, como a Regressão Linear Múltipla – MLR, que necessita que o número de amostras sejam superiores ao de variáveis. Duas técnicas que não tem tal restrição são a Regressão por Componentes Principais – PCR (Principal Components

Regression) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais – PLS (Partial Least Square). Textos tutoriais encontram-se na literatura e descrevem algoritmos matemáticos para utilização de ambos [137, 155].

Nos dois casos há uma manipulação dos dados para a criação de fatores (combinações das variáveis originais) que agora são usados para a determinação dos coeficientes de regressão. Uma diferença básica entre os dois está na utilização (pelo PLS) ou não (PCR) das propriedades desejadas no cálculo dos fatores. Desta forma, PCR é algumas vezes tomada como uma MLR aplicada aos escores da PCA [151], $\mathbf{B} = (\mathbf{T}^T \cdot \mathbf{T})^{-1} \cdot \mathbf{T}^T \cdot \mathbf{C}$.

Após construção do modelo deve-se validá-lo para testar suas habilidades preditivas. A forma mais comum é a utilização da validação cruzada [151], que consiste em retirar amostras do conjunto de calibração e prevê-las com um modelo construído com as demais. É um método prático, além de não necessitar de mais amostras (fator custo da análise deve ser levado em conta). Outros fatores também devem ser considerados na validação do método, como número de fatores usados ou pontos anômalos (outlier) [137].

Assim como todo processo de medição possui erro, modelos PCR ou PLS também deixarão resíduos. Uma estimativa de tal erro é fornecida pela raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration).

Uma vez o modelo construído e validado, este é aplicado à determinação de novas amostras, com seu poder preditivo podendo ser indicado pela raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão – RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) e pelo coeficiente de correlação, r , da reta obtida entre os valores preditos e verdadeiros.

Estes dois métodos são bastante aplicados com finalidades analíticas [156 – 158]. Determinações de parâmetros em vinhos utilizando-se estas regressões também são estudadas, tais como a previsão de características sensoriais [159], compostos voláteis [160], metais [161] e parâmetros físico-químicos [162].

Marcelo Farias de Andrade

Capítulo 2:

Objetivos

“Se você não sabe para onde está indo, vai
acaba chegando em um lugar diferente”

(Yogi Berra)

Caracterizar vinhos finos, tintos e brancos, comerciais e experimentais, elaborados na região do Vale do Submédio São Francisco (VSMSF) e vinhos tintos comerciais elaborados no Rio Grande do Sul quanto aos seus teores de acidez titulável total, densidade, extrato seco, teor alcoólico, pH, teores de sódio, potássio, amônio e fósforo, e por seus espectros de infravermelho.

Realizar estudo quimiométrico com as técnicas de Análise por Componentes Principais e de Agrupamento Hierárquico visando a distinção entre amostras de vinhos comerciais e experimentais do VSMSF e vinhos comerciais elaborados por vinícolas do estado do Rio Grande Sul.

Realizar avaliação preliminar sobre a aplicação de técnicas quimiométricas de calibração multivariada, Regressão por Componentes Principais (PCR) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS), para previsão, a partir dos espectros de absorção molecular na região do infravermelho próximo (NIR), de parâmetros físicos e químicos estudados neste trabalho.

Marcelo Farias de Andrade

Capítulo 3:

Materiais e Métodos

“A teoria sempre acaba, mais cedo ou mais
tarde, assassinada pela experiência”
(Albert Einstein)

Os parâmetros físicos e químicos extrato seco total (Ext), densidade (den), acidez titulável total (Att) e teor alcoólico (EtOH) foram analisados de acordo com os métodos recomendados pela Association Official of Analytical Chemistry – AOAC [59]. Os parâmetros pH, concentração de potássio (K) e concentração de sódio (Na) foram analisados segundo os métodos oficiais da Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – OIV [58]. As concentrações de fósforo – PO_4^{3-} [105] e amônio – NH_4^+ [106] foram determinados segundo metodologias utilizadas para amostras de águas, as quais foram adaptadas para amostras de vinhos.

Os espectros de infravermelho (próximo e médio) foram obtidos num aparelho Perkin Elmer, modelo Spectrum GX, num ambiente termostaticado a temperatura de (20 ± 2) °C. Em ambas as faixas estudadas obteve-se uma média de 16 espectros, com resolução de 8 cm^{-1} , utilizando água destilada como branco. Para o infravermelho próximo foi utilizado um caminho ótico de 1 mm e janela de quartzo, enquanto que para o médio utilizou-se janela de KBr e sonda de Reflectância Total Atenuada – ATR.

As concentrações de sódio e potássio foram determinadas utilizando-se um fotômetro de chama Digimed, modelo NK 2004, alimentado com mistura ar / butano.

Depois de abertas, as amostras foram conservadas sobre refrigeração, a uma temperatura de 5 °C, até o término das análises, as quais foram realizadas em até quatro dias para concentração de sódio e potássio, dois dias para as concentrações de fósforo e amônio e no mesmo dia para a obtenção dos espectros de infravermelho e também pH, acidez, densidade, teor alcoólico e extrato seco.

3.1 pH

Determinação direta, em triplicata, de uma pequena alíquota do vinho em pH-metro NT2 com eletrodo de vidro previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,00 e 4,00 a 20 °C.

3.2 Acidez Titulável Total (Att)

Um volume de 30 mL da amostra de vinho foi transferida para erlenmeyer de 50 mL e então o frasco com a amostra foi aquecido até iminência de ebulição da mesma, permanecendo nesta condição por cerca de 30 segundos para eliminar o CO_2 . Agitou-se e resfriou-se rapidamente a amostra em banho de água.

Aqueceu-se 200 mL de água destilada até ebulição em erlenmeyer de 500 mL. Adicionou-se duas gotas de solução 0,5% de fenolftaleína e quantidade suficiente de NaHCO₃ até aparecimento de coloração levemente rósea (para neutralizar a acidez natural da água, caso exista). Adicionou-se 5,00 mL do vinho pré-aquecido e titulou-se com solução padronizada de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em triplicata.

O valor da acidez titulável total é expresso em meq L⁻¹ (= mmol L⁻¹) de H⁺ e é calculada pela igualdade de número de moles ou mais simplificada pela fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Att} &= c \cdot V_b / V_v; \text{ ou} \\ \text{Att} &= 200 \cdot c \cdot V_b \end{aligned} \quad (7)$$

Onde c = concentração da base, em mol L⁻¹; V_b = volume da base, em mL
e V_v = volume do vinho, em mL.

3.3 Densidade (den)

Método da gravidade específica.

Imergiu-se um picnômetro de 50 mL em banho de água à temperatura constante de 20 °C por 15 minutos. Após retirá-lo do banho, secou-se a vidraria, deixou-a em repouso por 5 minutos e determinou-se sua massa.

Preencheu-se o picnômetro com água destilada, deixando-o em banho de água por 15 (quinze) minutos. Retirou-o do banho, secou-se a vidraria, deixou-a em repouso por 5 (cinco) minutos e determinou-se sua massa.

Repetiu-se o procedimento adicionando-se a amostra de vinho no lugar da água destilada.

O valor da densidade é expresso em g mL⁻¹ e é calculado, em duplicata, pela fórmula:

$$\text{Den} = d_a \cdot \text{GE} \quad (8)$$

Onde d_a = densidade da água e GE = Gravidade Específica da amostra.

$$\text{GE} = (m_{p+v} - m_p) / (m_{p+a} - m_p) \quad (8)$$

m_{p+v} = massa do picnômetro + massa do vinho;

m_p = massa do picnômetro;

m_{p+a} = massa do picnômetro + massa de água.

3.4 Teor Alcoólico (EtOH)

Método da gravidade específica.

Conectou-se a um sistema de destilação um balão de fundo redondo de 250 mL contendo 100 mL do vinho e 50 mL de água destilada e destilou-se aproximadamente 100 mL da mistura, transferindo-se o destilado para balão volumétrico de 100 mL, aferindo-o com água destilada.

Imergiu-se um picnômetro de 50 mL em banho de água à temperatura constante de 20 °C por 15 minutos. Após retirá-lo do banho, secou-se a vidraria, deixou-a em repouso por 5 minutos e determinou-se sua massa.

Preencheu-se o picnômetro com água destilada, deixando-o em banho de água por 15 (quinze) minutos. Retirou-o do banho, secou-se a vidraria, deixou-a em repouso por 5 (cinco) minutos e determinou-se sua massa.

Repetiu-se o procedimento adicionando-se o destilado do vinho no lugar da água destilada.

O teor alcoólico, determinado em duplicata, é expresso em % v/v (°GL) e obtido por comparação da gravidade específica numa tabela fornecida pelo método de referência [59].

3.5 Extrato Seco Total (Ext)

Adicionou-se 25 mL do vinho em cadinho de porcelana de massa previamente determinada. Evaporou-se o vinho até consistência de xarope. Levou-se para estufa à temperatura de aproximadamente 105 °C por 2 (duas) horas, aguardou-se atingir a temperatura ambiente em dessecador e em seguida mediu-se a massa.

O valor do extrato seco, determinado em duplicata, é expresso em g L⁻¹ e calculado através da fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Ext} &= (m_{c+e} - m_c) / V; \text{ ou} \\ \text{Ext} &= 40*(m_{c+e} - m_c) \end{aligned} \quad (9)$$

Onde m_{c+e} = massa do cadinho + extrato; m_c = massa do cadinho e V = volume da amostra.

3.6 Concentração de Sódio (Na)

Foi construída uma curva analítica na faixa de 5,0 a 50,0 mg L⁻¹ em Na⁺ e as amostras foram diluídas a partir de 1 mL do vinho para um volume final de solução de 2 ou 3 mL,

dependendo da amostra, para adequarem-se a faixa de trabalho. A diluição das amostras e padrões foram realizadas com uma solução contendo 10,0 mL de álcool etílico absoluto; 700,0 mg de ácido cítrico; 300,0 mg de sacarose; 0,8 mL de glicerol; 348,0 mg de hidrogenotartarato de potássio; 368,0 mg de tartarato de amônio; 13,0 mg de cloreto de cálcio e 13,0 mg de cloreto de magnésio para 1 (um) litro de solução.

A concentração de sódio foi calculada através da curva analítica obtida e expressa em mg L^{-1} , sendo a análise realizada em quintuplicata.

3.7 Concentração de Potássio (K)

Foi construída uma curva analítica na faixa de 5,0 a 100,0 mg L^{-1} em K^+ e as amostras foram diluídas a partir de 1mL do vinho para 50mL de solução para adequarem-se à faixa de trabalho. A diluição das amostras e padrões foram realizadas com uma solução contendo 10,0 mL de álcool etílico absoluto; 700,0 mg de ácido cítrico; 300,0 mg de sacarose; 0,8 mL de glicerol; 368,0 mg de tartarato de amônio; 13,0 mg de cloreto de cálcio; 13,0 mg de cloreto de magnésio e 50,8 mg de cloreto de sódio para 1 (um) litro de solução.

A concentração de potássio foi calculada através da curva analítica obtida e expressa em g L^{-1} , sendo a análise realizada em quintuplicata.

3.8 Fósforo livre (PO_4^{3-})

Utilizou-se um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica em 880 nm que se baseia na reação do azul de molibdênio. A faixa de trabalho foi de 0,50 a 10,0 mg L^{-1} em fósforo (conforme apêndice A) e 1 mL das amostras foi diluído para 50 mL de solução com água destilada para adequarem-se a esta faixa.

A concentração de fósforo, determinada em quintuplicata, foi calculada através da curva analítica obtida e expressa em mg L^{-1} .

3.9 Amônio residual (NH_4^+)

Utilizou-se um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica em 697 nm que se baseia na reação do azul de indofenol. A faixa de trabalho foi de 0,50 a 50,0 mg L^{-1} em NH_4^+ (conforme apêndice B) e 1 mL das amostras foi diluído para volume final de solução de 2 ou 3 mL com água destilada, dependendo da amostra, para adequarem-se a esta faixa.

A concentração de amônio, determinada em quintuplicata, foi calculada através da curva analítica obtida e expressa em mg L^{-1} .

3.10 Análise Quimiométrica

As técnicas de Análise de Agrupamento Hierárquica – HCA e Análise de Componentes Principais – PCA foram realizadas utilizando-se o software STATISTICA®. Para a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais – PLS e Regressão por Componentes Principais – PCR utilizou-se o software Unscrambler.

Marcelo Farias de Andrade

Capítulo 4:

Resultados e Discussão

“Nenhum homem realmente produtivo pensa
como se estivesse escrevendo uma dissertação”.

(Albert Einstein)

Para melhor organização dos resultados obtidos, este capítulo será dividido em três partes:

- (1) Caracterização analítica dos vinhos;
- (2) Distinção das amostras e
- (3) Predição de valores.

4.1 Caracterização analítica dos vinhos

4.1.1 Parâmetros Clássicos

Os resultados das análises químicas para as amostras em todos os parâmetros estão mostrados nas tabelas C1 até C6 no apêndice C.

Na tabela 4 apresenta-se o esquema de cores utilizado para a diferenciação das regiões de origem das amostras de vinhos analisadas.

Tabela 4: Significado da codificação em cores das amostras de vinhos analisados.

Cor utilizada	Sigla	Origem do vinho
Azul	ET	Vale do São Francisco (Experimentais Tintos)
Preto	VSF	Vale do São Francisco (comerciais)
Verde	EB	Vale do São Francisco (Experimentais Brancos)
Vermelho	RS	Rio Grande do Sul (comerciais)

Para os vinhos comerciais, as divisões de acordo com as vinícolas de elaboração das amostras estão descritas na tabela 5.

Tabela 5: Divisão por vinícolas das amostras de vinhos comerciais analisadas.

VSF		RS	
Vinícola	Amostras	Vinícola	Amostras
A	VSF1 a VSF16	X	RS1 e RS2
B	VSF17 a VSF20	Y	RS3 e RS4
C	VSF21 a VSF23	Z	RS5 e RS6
D	VSF24 a VSF29	W	RS7 e RS8

Para todas 62 amostras analisadas, algumas características estão indicadas na tabela 6.

Tabela 6: Tipo de vinho, origem, código, tipo de uva e safra das amostras analisadas.

Tipo	Origem	Amostra	Uva	Safra	Amostra	Uva	Safra		
Branco	EB	EB1	Sauvignon Blanc	2007	EB6	Chenin Blanc	2006		
		EB2	Viognier	2007	EB7				
		EB3		2006	EB8				
		EB4		2006	EB9				
		EB5	Chenin Blanc	2006	EB10				
Tintos	ET	ET1	Barbera	2006	ET9	Tempranillo	2007		
		ET2	Periquita	2006	ET10				
		ET3	Petit Verdot	2007	ET11				
		ET4	Castelão	2006	ET12				
		ET5	Deckrot	2006	ET13		2006		
		ET6		2007	ET14				
		ET7	Alfrocheiro	2006	ET15				
		ET8							
	VSF	Cabernet Sauvignon	VSF1	Cabernet Sauvignon	2005	VSF15	Petit Syrah	2005	
			VSF2			VSF16			
			VSF3			VSF17	Corte	2005	
			VSF4			VSF18			
			VSF5			VSF19	Corte (reserva)	2005	
			VSF6			VSF20			
		Tannat	Tannat	VSF7	Tannat	2003	VSF21	Syrah	2005
				VSF8			VSF22	Cabernet Sauvignon + Syrah	2003
				VSF9		VSF23			
				VSF10		2005	VSF24	Syrah	2005
				VSF11			VSF25		
				VSF12			VSF26	Cabernet Sauvignon	2005
				VSF13			VSF27		
				VSF14		VSF28	Cabernet Sauvignon + Syrah	2004	
						VSF29			
				RS		Cabernet Sauvignon	RS1	Cabernet Sauvignon	2005
	RS2	RS6							
	RS3	RS7	Cabernet (Sauvignon + Franc)		2006				
	RS4	RS8							

Nota: corte = mistura de dois ou mais vinhos.

Os valores médios obtidos e seus coeficientes de variação (CV) para o pH, acidez (Att), densidade (den), extrato seco (Ext), teor alcoólico (EtOH) e concentrações de sódio (Na⁺), potássio (K⁺), fósforo (PO₄³⁻) e amônio (NH₄⁺) para as quatro subdivisões da origem do vinho estão indicados na tabela 7 abaixo.

Tabela 7: Valores médios e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros analisados nos vinhos das regiões em estudo.

	VSF		ET		EB		RS	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
pH	3,74	4	3,93	7	3,73	13	3,55	2
Att (meq L ⁻¹)	75,7	19	75,2	22	57,4	29	85,2	9
den (g mL ⁻¹)	0,996	0,09	0,994	0,2	0,990	0,2	0,995	0,1
EtOH (%v/v)	11,3	10	12,3	17	12,0	12	12,5	8
Ext (g L ⁻¹)	22,9	8	21,8	27	14,2	34	22,8	14
Na ⁺ (mg L ⁻¹)	46,0	53	16,0	21	34,3	26	16,9	33
K ⁺ (g L ⁻¹)	2,27	24	1,35	32	0,78	45	0,69	21
PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	250	14	148	62	88	58	136	12
NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	28,8	32	18,6	73	2,2	79	9,9	22

Nota: VSF – Vale do Submédio São Francisco, comerciais; ET – Vale do Submédio São Francisco, experimentais tintos; EB – Vale do Submédio São Francisco, experimentais brancos e RS – Rio Grande do Sul, comerciais.

Observa-se pela tabela 7 que, em relação ao pH, os maiores valores são encontrados para os vinhos elaborados na região do Vale do São Francisco (comerciais e experimentais), como esperado, já que esta região é mais ensolarada e tende a fornecer (dentre outras características) vinhos com menor acidez e, conseqüentemente, maior pH [16]. Porém, apresentam-se acima dos valores mais comuns para regiões temperadas, que são entre 2,7 e 3,7 [163]. Para os vinhos do VSF, este parâmetro pode indicar também que estes devem ser consumidos rapidamente, evitando-se, assim, possível ataque microbiano que leva a degradação dos mesmos [164]. Individualmente, observa-se grande variação principalmente nos vinhos experimentais, como, por exemplo, as amostras de vinhos da uva Chenin Blanc, EB6 x EB7 ou Viognier, EB2 x EB4 (ver tabela C1 no apêndice C).

Para as uvas Cabernet Sauvignon e Tannat – VSF1 a VSF14, observam-se que os vinhos comerciais do Vale apresentam valores de pH compatíveis com os valores obtidos na

literatura. Sendo os vinhos destas uvas conhecidos por possuírem pH mais elevado [164 – 166]. Numa comparação geral, observam-se valores de pH, para os vinhos do VSMSF, muito superiores aos vinhos portugueses [148] e espanhóis [49]. Sendo estes últimos valores compatíveis, em relação aos do RS aqui analisados.

Quanto à acidez nota-se que os vinhos brancos apresentaram valores muito baixos (tabela C1), diferentemente do que se esperaria, pois os maiores valores de acidez conferem melhor sabor a estes vinhos [16, 167]. Grande diferença no clima do Vale em relação às tradicionais regiões produtoras (semi-árido e temperado, respectivamente), a época do ano para a vindima (colheita) e ponto da vindima podem ser prováveis explicações para tais diferenças. Deve-se ressaltar a presença de borra e turvação no momento da abertura destas amostras para a análise, sendo também uma possível explicação para as diferenças de sua acidez em relação aos valores observados na literatura para vinhos brancos.

Quando comparados às recomendações da legislação brasileira, principalmente os vinhos brancos (tabelas C1, C2 e C3 no apêndice C), apresentam-se abaixo do limite inferior estabelecido, que é de 55 meq L⁻¹. Valores estes muito superiores aos europeus, tanto para tintos quanto para brancos [49, 148]. A acidez dos vinhos comerciais Cabernet Sauvignon e Tannat são equivalentes quando comparados com a literatura nacional [164, 165].

Outra informação que pode ser obtida quando se verificam os dados de pH e acidez somente do VSMSF (tabela C2) é que os vinhos de uma vinícola “A” (VSF1 a VSF16) apresentam os maiores e menores valores destes parâmetros. Tal diferença nestes parâmetros pode ser justificada pela presença da uva Syrah em outros vinhos comerciais das demais vinícolas do VSMSF estudadas – B, C e D.

A densidade do vinho é dependente da evolução da fermentação e, conseqüentemente, da concentração residual de açúcares e do teor alcoólico. Devido à própria natureza do processo e constituição química – presença das partes sólidas das uvas e conseqüente presença de antocianinas, taninos e substâncias polifenólicas nos tintos – [168], os vinhos brancos apresentam os menores valores de densidade. Todos estes valores são condizentes com os encontrados na literatura [49, 164 - 166].

Em relação à graduação alcoólica, apenas quatro amostras – EB1, ET3, ET4 e ET8 – não se enquadram nas recomendações da legislação nacional (8,6 a 14,0%), apresentando valores pouco acima do limite superior (tabela C1). Mesmo estando dentro das especificações legais, cerca de 62% das amostras (18 garrafas) do VSF apresentaram valores abaixo do indicado pelo respectivo rótulo. Quando comparados aos vinhos espanhóis [49], observa-se que os vinhos comerciais do VSF apresentam menores teores alcoólicos, porém, ainda superior aos valores reportados na literatura para vinhos do Rio Grande do Sul [164, 165].

O teor de extrato seco nos vinhos brancos foi o menor dos analisados. Os valores para vinhos tintos (maiores que os brancos devido à presença de maior quantidade de compostos não voláteis, como taninos, antocianinas, entre outras) foram muito próximos entre si. Os valores médios aqui determinados foram equivalentes aos da literatura (20 – 25 g L⁻¹ para tintos e 16 – 18 g L⁻¹ para brancos) [40, 49, 68, 164].

Quanto à composição mineral aqui estudada, as concentrações de sódio em algumas poucas amostras de vinhos comerciais do VSMSF foram superiores ao valor 79 mg L⁻¹ (limite superior teórico segundo a legislação nacional). Conforme era de se esperar, os vinhos brancos apresentaram altos valores, possivelmente, devido à utilização de produtos enológicos em sua elaboração (Na₂SO₃, por exemplo). Os maiores valores médios encontrados foram para vinhos comerciais do VSMSF. Porém, como pode ser visto na tabela C6 (ver apêndice), este valor foi impulsionado pelas amostras VSF17 a VSF20, VSF24 a VSF29. Estes valores elevados podem ser causados por métodos enológicos diferenciados por suas vinícolas ou mesmo por questões do tipo de solo onde as uvas foram plantadas, já que estas se encontram em cidades diferentes dos demais (figura 2, página 5). Na literatura encontram-se valores bastante variados, indo desde 2 a 4 mg L⁻¹ de sódio para vinhos tintos gaúchos [164, 165, 169] até superiores a 25 mg L⁻¹ de sódio em tintos mineiros [65]. Sendo que os vinhos brancos estão sempre em concentrações superiores aos tintos [65, 79].

Para as concentrações de potássio observa-se grande diferença entre os valores encontrados nos vinhos tintos analisados. Os vinhos provenientes do VSF possuem valores superiores também aos da literatura consultada [65, 79, 164, 165, 169]. Tal fato pode ser atribuído a algum método enológico específico destas vinícolas, tal como um processo muito prolongado de maceração / extração do mosto ou por questões inerentes ao solo, como origem natural do potássio nas rochas ou adubação excessiva e / ou remanescente no solo onde anteriormente eram cultivadas uvas de mesa.

Da mesma forma que para o potássio, a concentração de fósforo nos vinhos do VSF são as mais elevadas, enquanto que as concentrações em vinhos brancos são as menores. Corroborando a justificativa dada acima de alta intensidade / tempo prolongado de maceração quando da vinificação ou devida às questões do solo, como origem natural ou adubação excessiva e/ ou remanescente no mesmo. Os vinhos do RS foram aqueles com valores mais próximos aos encontrados na literatura, que variou de 62 a 107 mg L⁻¹ para fósforo total [164, 165, 169].

Não se obteve valores na literatura para as concentrações de amônio, sendo apenas expressas as concentrações de nitrogênio total [164, 165, 170]. Entretanto, segundo Curvelo-Garcia [111], os valores de amônio devem estar em torno de 20 mg L⁻¹, dependendo da ação

microbiana e do tipo do vinho. As concentrações de amônio estão em torno de 10% dos teores de nitrogênio total, de acordo com algumas referências [164, 165, 169]. Neste trabalho, vinhos brancos apresentaram os menores teores e, em alguns casos, a concentração estava abaixo do limite de detecção do método enquanto que para vinhos tintos comerciais do Vale do São Francisco foram encontrados os maiores teores.

Ainda de acordo com a tabela 7, verifica-se que os vinhos comerciais elaborados no Rio Grande do Sul (RS) apresentam os menores valores de coeficientes de variação (CV) para a maioria dos parâmetros. O menor número de amostras desta região analisada pode ser uma justificativa para tal ocorrência. Porém, isto pode também ser um indicador de maior similaridade entre as amostras desta região produtora e, possivelmente também, de maior controle enológico e de qualidade na elaboração de seus vinhos.

4.1.2 Espectros de Infravermelho

Todas as atribuições aqui realizadas são baseadas nos livros do Dyer [112] e Silverstein [115] para a região do infravermelho médio e em tabelas expostas nos trabalhos de Kaye [120] e Cozzolino [171] para a região do infravermelho próximo.

4.1.2.1 Infravermelho Médio – MID

Os espectros típicos de absorvância no infravermelho médio obtidos para cada região vinícola estudada estão indicados nas figuras 9 (comerciais do RS e VSMSF) e 10 (experimentais do VSMSF – Brancos e Tintos).

Nestes gráficos percebem-se valores negativos de absorção em duas regiões. Acima de 3000 cm^{-1} e entre 1600 e 1650 cm^{-1} . Isto devido à utilização de água como branco da análise, pois esta região é comum às vibrações de deformação axial e angular, respectivamente, do grupo O–H. Podendo acarretar erros na interpretação deste grupo funcional. Estas faixas podem interferir também na determinação de grupos N–H.

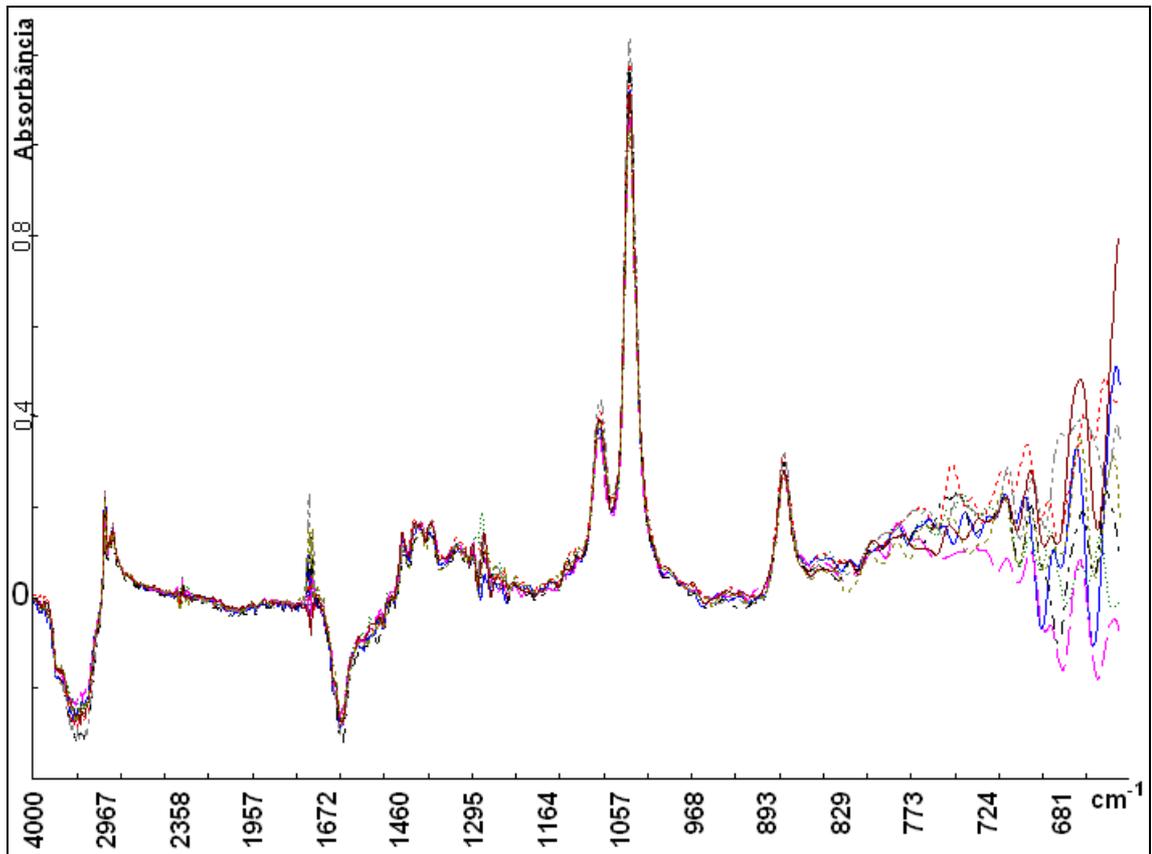


Figura 9: Espectros de absorvância no MID dos vinhos tintos comerciais elaborados no RS e VSMSF.

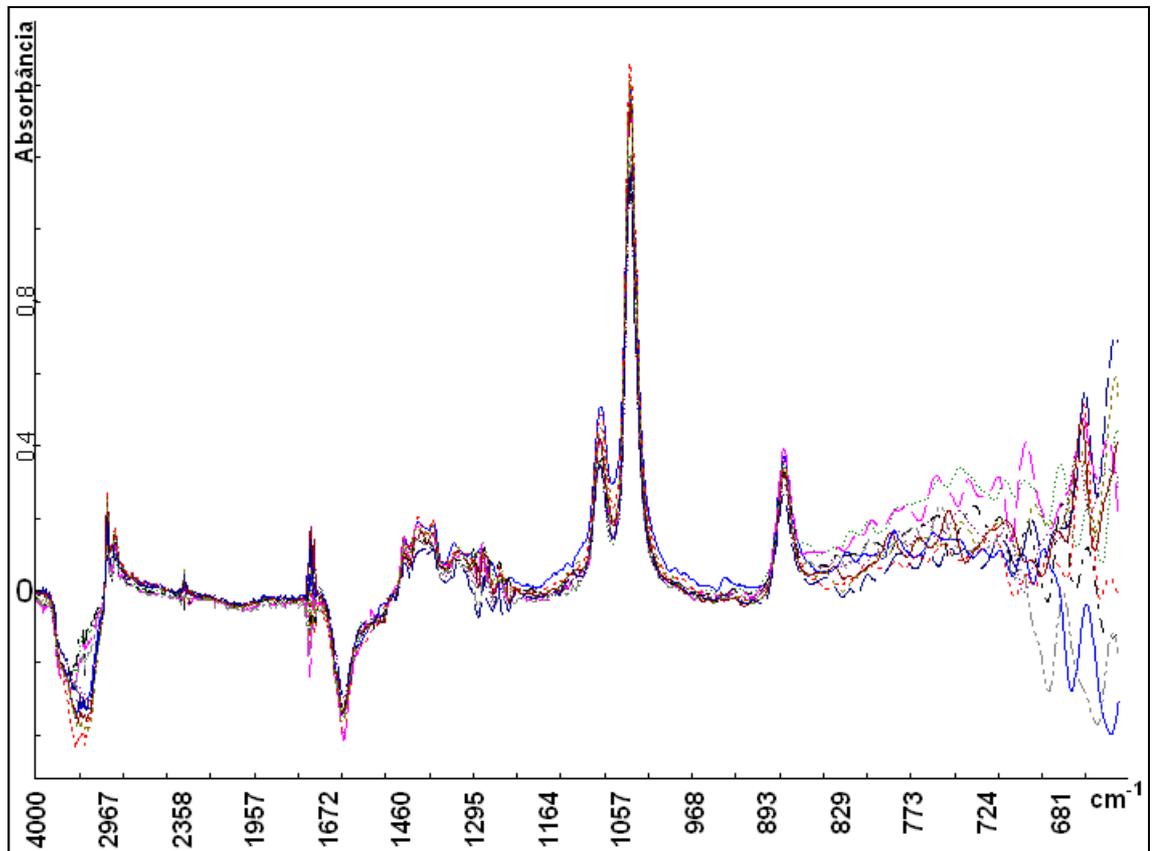


Figura 10: Espectros de absorvância no MID dos vinhos brancos e tintos experimentais elaborados no VSMSF.

Nos espectros apresentados nas figuras 9 e 10, observam-se alguns picos que podem

ser atribuídos a alguma vibração fundamental de moléculas orgânicas. A tabela 8 abaixo indica estas possíveis atribuições. Verificando-se também que a região do espectro abaixo de 1000 cm^{-1} apresenta grande dispersão e não provê informação nestes gráficos sobre grupos comuns a todas as amostras. O que era de se esperar, pois esta é a região de “impressão digital” do espectro e poderá ser útil na distinção das amostras na análise quimiométrica por componentes principais.

Tabela 8: Vibrações atribuídas aos picos dos espectros MID*.

$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}$	Intensidade	Atribuição
2980	fraca	C – H
2900	fraca	C – H
1710 ~ 1750	fraca	C = O
1550 ~ 1450	fraca	C=C
1080	Média	C – O
1045	Forte	C – O, C – N
880	Média	C – H, C – N, C – O

* segundo referências [112, 115].

Definições exatas de quais grupos funcionais estão presentes é dificultada pela grande mistura de compostos existentes no vinho. Portanto, a vibração correspondente à carbonila, C = O, pode ser tanto de ácido, quanto cetona, aldeído ou outro composto que a possua. Fazendo-se necessária a utilização de outras técnicas analíticas – tais como GC, GC-MS, HPLC, RMN... – quando se deseja conhecer a composição dos mesmos.

Sabe-se presença abundante de compostos aromáticos no vinho, esta informação também é indicada pela presença do grupo C=C. Porém, a ausência do pico característico de C–H aromático acima de 3000 cm^{-1} pode ser justificada tanto pela depressão causada pela banda de O–H (suprimida no branco da análise) quanto pelas substituições do anel que podem deslocar sua frequência para valores menores. Desta forma, o pico a 2980 cm^{-1} pode ser referente à vibração C–H [112, 115].

4.1.2.2 NIR

Os espectros típicos de absorvância no infravermelho próximo obtidos para cada região vinícola estudada estão indicados nas figuras 11 (comerciais do RS e VSMSF), 12 (experimentais do VSMSF – Brancos) e 13 (experimentais do VSMSF – Tintos).

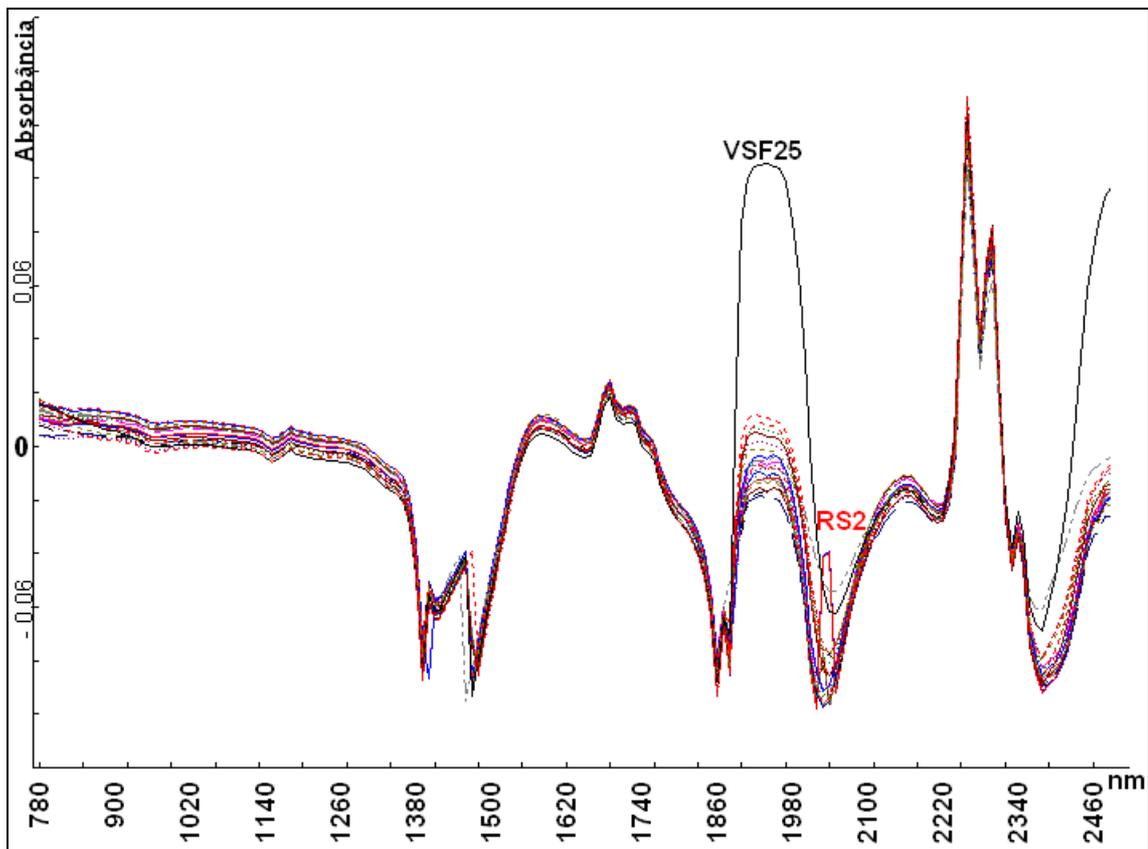


Figura 11: Espectros de absorvância no NIR dos vinhos tintos comerciais elaborados no RS e VSMSF.

Realizando um exame visual rápido nos dois espectros da figura 11, observa-se a existência de amostras que se apresentam com características um pouco diferenciada das demais de seu grupo. O vinho RS2 apresenta um pico próximo a 2050 nm, enquanto que a amostra VSF25 possui uma banda de absorção intensa em cerca de 1950 nm. Esta faixa é característica de O–H de água, álcoois e fenóis e também de C–H de aldeído e S–H. É mais provável atribuir tais picos ao aldeído, por ter sido utilizada água como branco na análise e a ausência de pico S–H na faixa de 2600 a 2550 cm^{-1} , no MID.

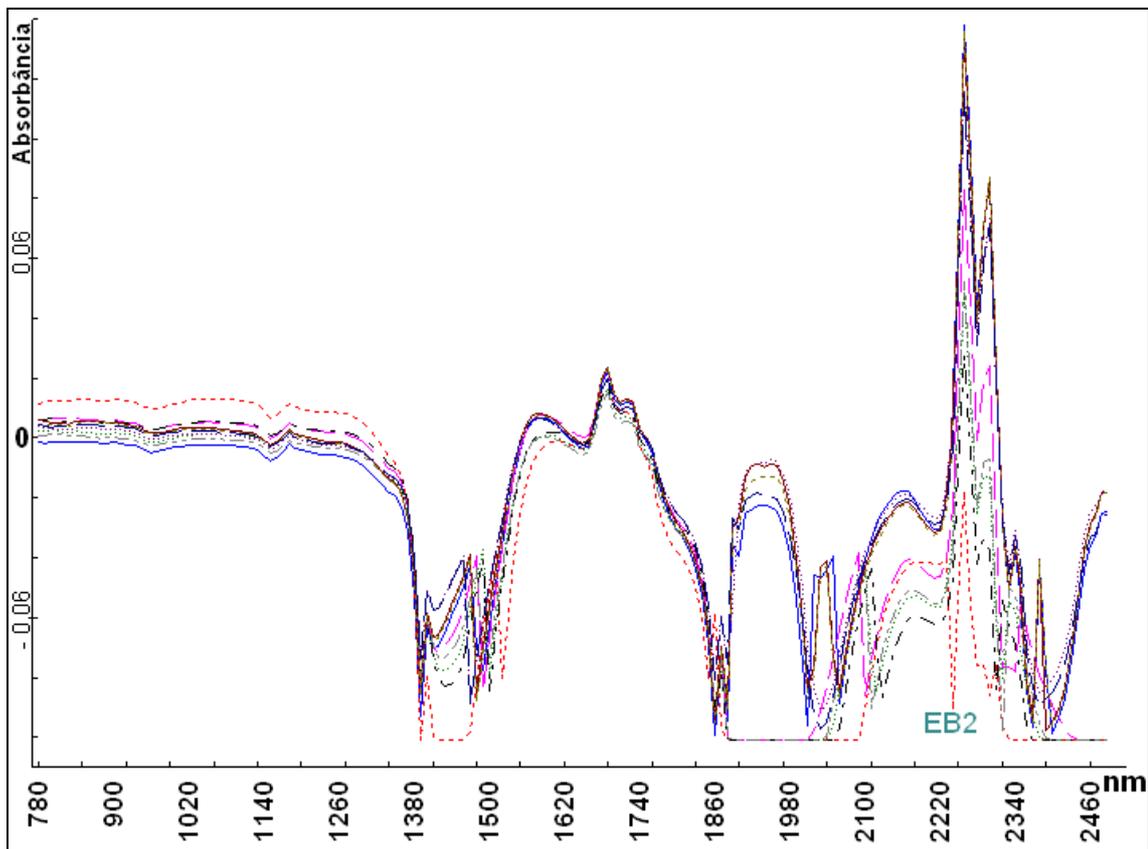


Figura 12: Espectros de absorvância no NIR dos vinhos brancos experimentais elaborados no VSMSF.

Também se observa este pico diferenciado (1950 nm) em algumas amostras tintas experimentais. Outras amostras apresentaram-se muito mais anômalas, tanto para vinhos branco como para os tintos, indicando possível erro na obtenção de tais espectros (EB2, ET6 e ET12, por exemplo).

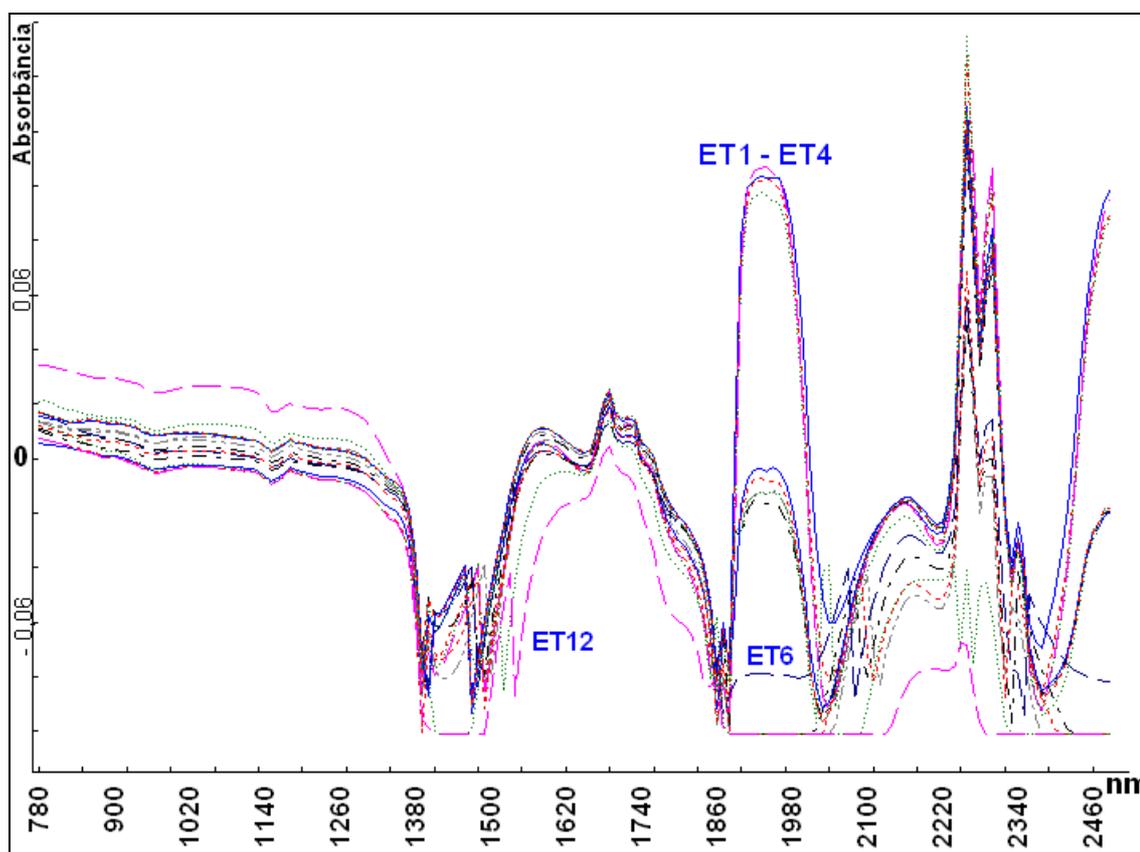


Figura 13: Espectros de absorvância no NIR dos vinhos tintos experimentais elaborados no VSMSF.

Comparando-se os espectros de vinhos tintos e brancos, nota-se um pico comum aos brancos na faixa de 2050 nm. Pico este também presente na amostra **RS2**, do Rio Grande do Sul, sugerindo possível corte deste com um vinho branco.

Algumas atribuições podem ser realizadas para os picos observados nos espectros NIR. A tabela 9 mostra estas atribuições.

Tabela 9: Vibrações atribuídas aos picos dos espectros NIR*.

λ (nm)	Intensidade	Atribuição
1450	Média	N – H
1600	Fraca	C – H
1720	Fraca	C – H
1950	Média	C – H
2050	Média	C – H
2250	Forte	C = C
2300	Forte	C – H

*segundo referências [120, 171].

4.2 Distinção das amostras utilizando Quimiometria

4.2.1 Análise por Componentes Principais

4.2.1.1 Parâmetros físicos e químicos

Devida à ampla variação dos valores dos parâmetros analisados, recorreu-se a um autoescalamento dos dados como pré-tratamento das variáveis.

A variância que coube a cada componente da PCA está indicada na tabela 10 abaixo. Observa-se que as três componentes principais iniciais contêm mais de 76% da informação original, obtendo-se, desta forma, uma boa redução da multidimensionalidade do estudo.

Tabela 10: Variância atribuída as cinco primeiras componentes principais da PCA realizada com os dados físico-químicos.

Componente	% Variância	% variância acumulada
PC1	43,53	43,53
PC2	17,75	61,28
PC3	15,29	76,57
PC4	9,06	85,63
PC5	5,33	90,96

Na figura 14 indica-se a importância e direção de cada variável estudada (gráfico de pesos) para as duas primeiras componentes, através do gráfico de PC1 x PC2. Nela também estão indicadas as equações que descrevem PC1 e PC2 em função destas variáveis.

As variáveis que representam a primeira componente principal são os parâmetros fósforo, densidade, amônio, extrato seco e potássio. Logo, as amostras que apresentarem maiores teores destes, ou seja, vinhos mais densos, estarão localizados à esquerda da PC1 no gráfico de escores devido aos sinais negativos nos pesos de cada um.

A segunda componente, PC2, é dominada pelas variáveis pH (principalmente) e, em menor proporção, por acidez, teor alcoólico e concentração de sódio. No gráfico de escores, vinhos que possuírem maiores teores de pH e teor alcoólico e baixos teores de acidez e de sódio, estarão localizados na parte superior do eixo y – PC2(+).

Vinhos que possuírem elevados teores de pH (não considerando o fator SO₂, utilizado como conservante) e baixos teores de álcool poderão estar susceptíveis a ataque microbiano. Para verificar se há alguma amostra nestas condições, é necessária a avaliação de demais

componentes principais obtidas.

$$PC1 = -0,463 PO_4^{3-} - 0,444 \text{ den} - 0,412 NH_4^+ - 0,411 \text{ Ext} - 0,411 K^+$$

$$PC2 = 0,634 \text{ pH} - 0,474 \text{ Att} + 0,428 \text{ EtOH} - 0,338 Na^+$$

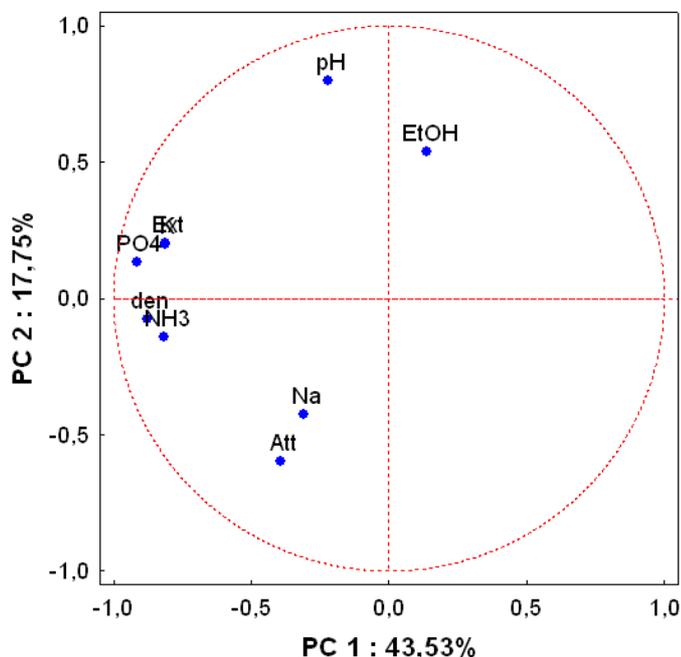


Figura 14: Gráfico de pesos de PC1 x PC2 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas.

A figura 15 indica a importância de cada variável estudada para a terceira componente, através do gráfico de PC1 x PC3. Nela também estão indicadas as equações que descrevem PC1 e PC3.

A terceira componente indica que vinhos com maiores teores de sódio e potássio estarão na parte superior do gráfico de escores – PC3(+) – e aqueles que possuem maiores teores de álcool, acidez e extrato serão apresentados na parte inferior do mesmo – PC3(-). Nesta componente houve uma inversão de sinal na contribuição do teor alcoólico, mantendo-se as posições para pH e acidez, em comparação ao gráfico PC1 x PC2, na figura 14. O que pode contribuir para o discernimento entre as amostras com elevado pH (possivelmente susceptíveis a ataque microbiano) daquelas com maior graduação alcoólica.

$$PC1 = -0,463 PO_4^{3-} - 0,444 \text{ den} - 0,412 NH_4^+ - 0,411 \text{ Ext} - 0,411 K^+$$

$$PC3 = -0,479 \text{ EtOH} + 0,429 Na^+ - 0,426 \text{ Att} - 0,363 \text{ Ext} + 0,352 K^+$$

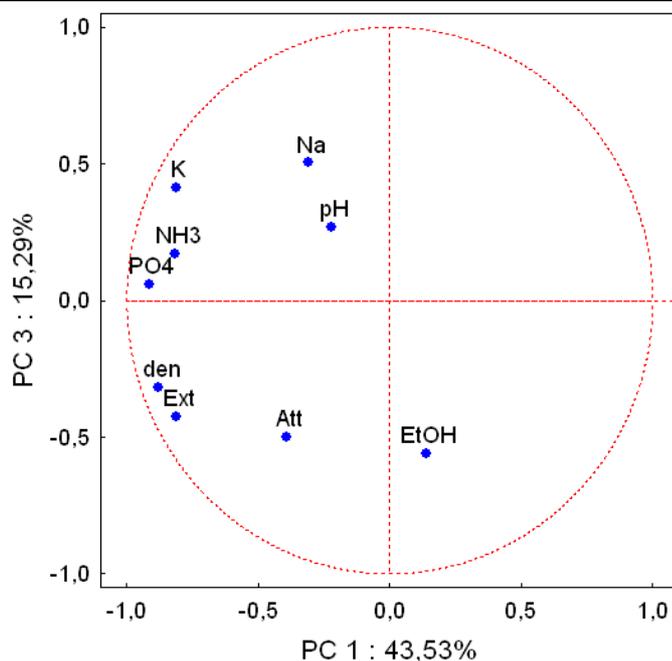


Figura 15: Gráfico de pesos de PC1 x PC3 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas.

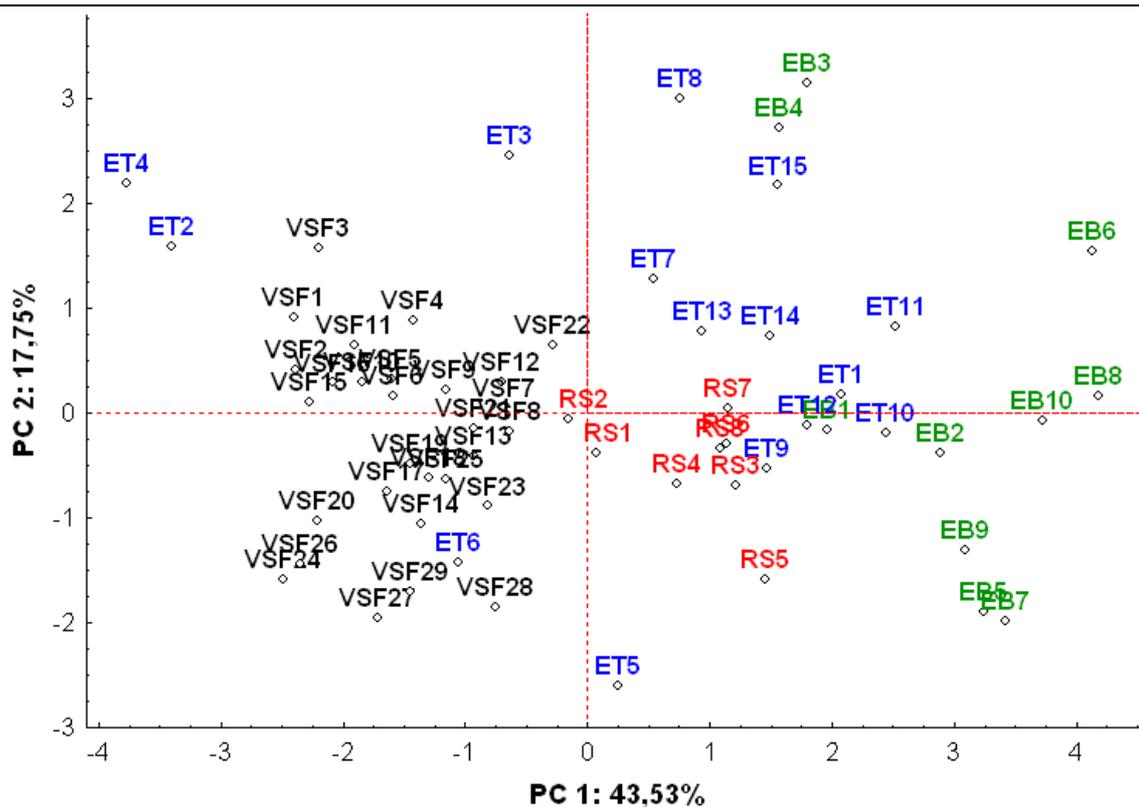
Visualizando-se o gráfico de escores de PC1 x PC2, figura 16, podem-se visualizar dois grandes grupos, de acordo com sua localização em PC1.

O primeiro grupo é constituído por amostras codificadas em preto e por algumas amostras em azul (ET2, ET3, ET4 e ET6). Tais amostras podem ser caracterizadas por possuírem, segundo a interpretação dos pesos das variáveis, como aquelas com maiores teores de potássio, extrato seco, fósforo, amônio e densidade.

O segundo grupo é formado por amostras codificadas em verde, azul, e vermelho, caracterizadas por possuírem menores valores destes parâmetros.

Com tais informações, e com o significado da codificação de cores utilizada (indicada na tabela 4, página 38), pode-se inferir que houve uma tendência de separação das amostras analisadas.

Os vinhos comerciais do VSMSF, segundo estas análises, são mais densos que os vinhos experimentais elaborados no VSMSF e os comerciais elaborados no Rio Grande do Sul. Apesar da pequena quantidade de amostras proveniente do sul do Brasil (oito garrafas) quando comparadas aos demais estudados (25 experimentais e 29 comerciais do VSMSF), tal afirmação continuará sendo feita devido à formação de um sub-grupo com estes vinhos. Ou seja, devido à grande similaridade destes vinhos entre si.



Preto = VSMFS – comerciais; Azul = VSMFS Experimentais – Tintos; Verde = VSMFS Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

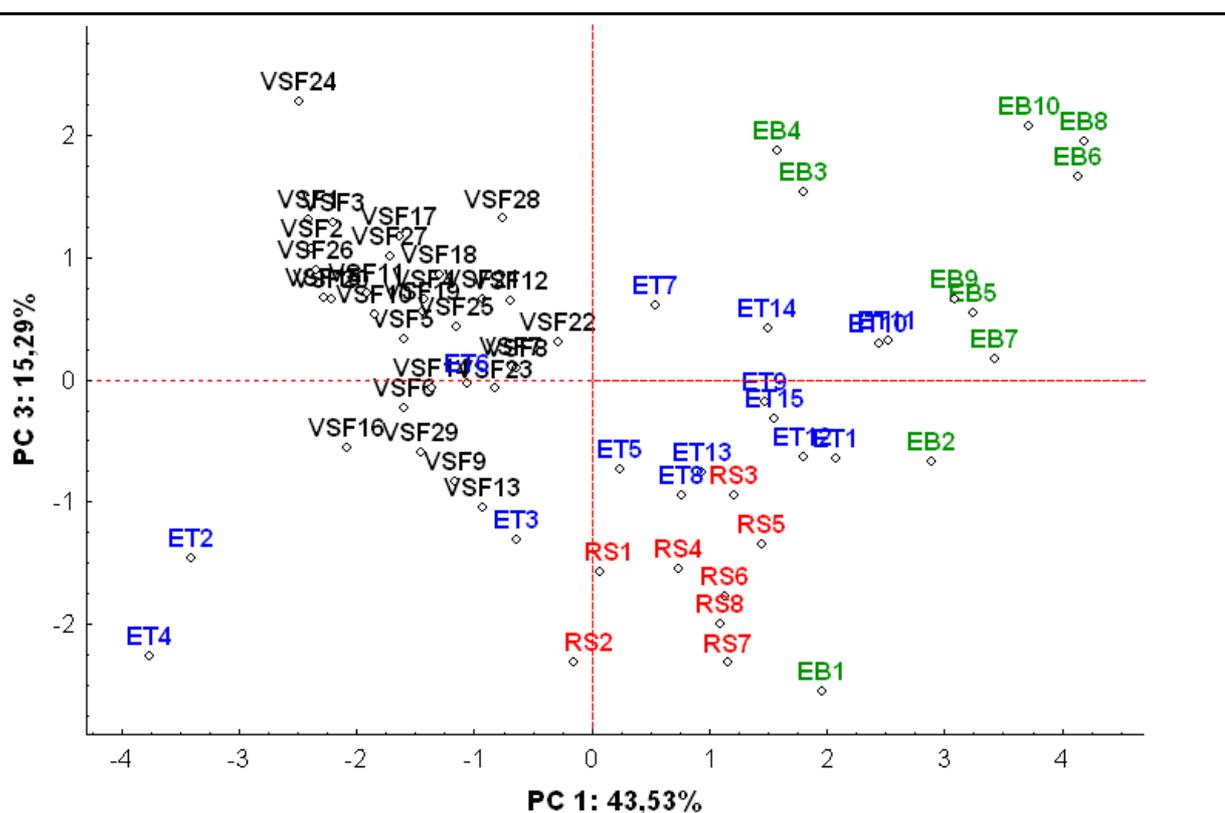
Figura 16: Gráfico de escores de PC1 x PC2.

Uma visualização nas tabelas C2 e C6 confirmam as maiores densidades e extrato seco para os vinhos do Vale, bem como altas concentrações de amônio, fósforo e potássio. Já as tabelas C1 e C5 explicam a presença das amostras ET2, ET4 e ET6 próxima ao grupo de vinhos comerciais do VSF. Estes três vinhos possuem os teores dos parâmetros analisados muito mais próximos aos vinhos comerciais do Vale do que com os outros experimentais elaborados na mesma região. Como foi analisada apenas uma única amostra de tais vinhos, não se pode afirmar com certeza, mas atribuí-se tal evento às características próprias das uvas Castelão, Periquita e também da Deckrot.

Com o resultado da PCA também se sugere que os vinhos brancos possuem menores densidade, extrato seco e, ao contrário do que se poderia esperar, acidez. Justificando a distância do grupo em relação aos demais analisados.

As informações contidas em PC3, mostradas no gráfico de PC1 x PC3 (figura 17), mostram que os vinhos provenientes do RS são aqueles com maior teor alcoólico, maior acidez e de baixo teor salino (Na^+ e K^+). Observando-se que os vinhos tintos experimentais apresentam-se com características mais próximas a estas, podendo indicar similaridades no

processo enológico.



Preto = VSM SF – comerciais; Azul = VSM SF Experimentais – Tintos; Verde = VSM SF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 17: Gráfico de escores de PC1 x PC3.

Comparando-se os gráficos das figuras 16 e 17, percebeu-se que algumas amostras que se encontravam na parte superior do eixo y (PC2 +) na figura 16 foram deslocadas para o canto inferior no eixo y em PC3 (-) no gráfico da figura 17, mais especificamente, ET2, ET3, ET4, ET8, ET15, sugerindo que estas são caracterizadas por apresentarem maior teor alcoólico e menor pH. Isto pode ser verificado na tabela C1 (anexo). Já outras (EB3, EB4, EB6, ET7, ET14, VSF1, VSF3 e VSF4) não variaram as posições, indicando seus altos valores de pH e, conseqüente, riscos de degradação (instabilidade química).

Uma outra informação pertinente ao estudo é que vinhos comerciais podem ser mistura de castas, safras, etc. Devendo possuir um mínimo de 70% de uma variedade “V” para ser denominado “vinho V”. Além do mais, eles são filtrados a fim de se eliminar alguns compostos indesejáveis (como borras e partículas em suspensão), perdendo-se também alguns benéficos – perdendo um pouco de “qualidade”. Já os vinhos experimentais são elaborados com 100% de uma variedade e não são filtrados, para que se possa avaliar o potencial enológico das diferentes cultivares. Portanto, uma análise comparativa apenas entre vinhos

comerciais se faz necessária para avaliar diferenças de regiões (Vale do São Francisco contra Rio Grande do Sul) bem como entre vinhos somente do Vale, experimentais versus comerciais.

A figura 18 mostra o gráfico de pesos de PC1 x PC2 para a análise de componentes principais realizada somente com os vinhos comerciais. Nela observa-se que houve variação na importância das variáveis nas componentes principais quando comparadas ao gráfico de pesos de PC1 x PC2 para todas as amostras (ver figura 14).

$$PC1 = -0,481 K^+ - 0,413 \text{ pH} - 0,413 PO_4^{3-} - 0,358 NH_4^+ + 0,282 \text{ EtOH.}$$

$$PC2 = 0,650 Na^+ - 0,413 \text{ den} - 0,404 \text{ Ext.}$$

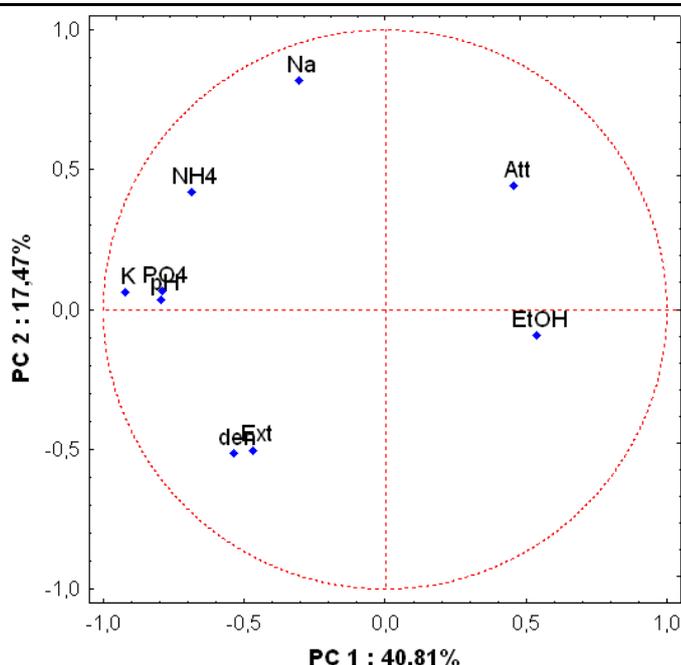
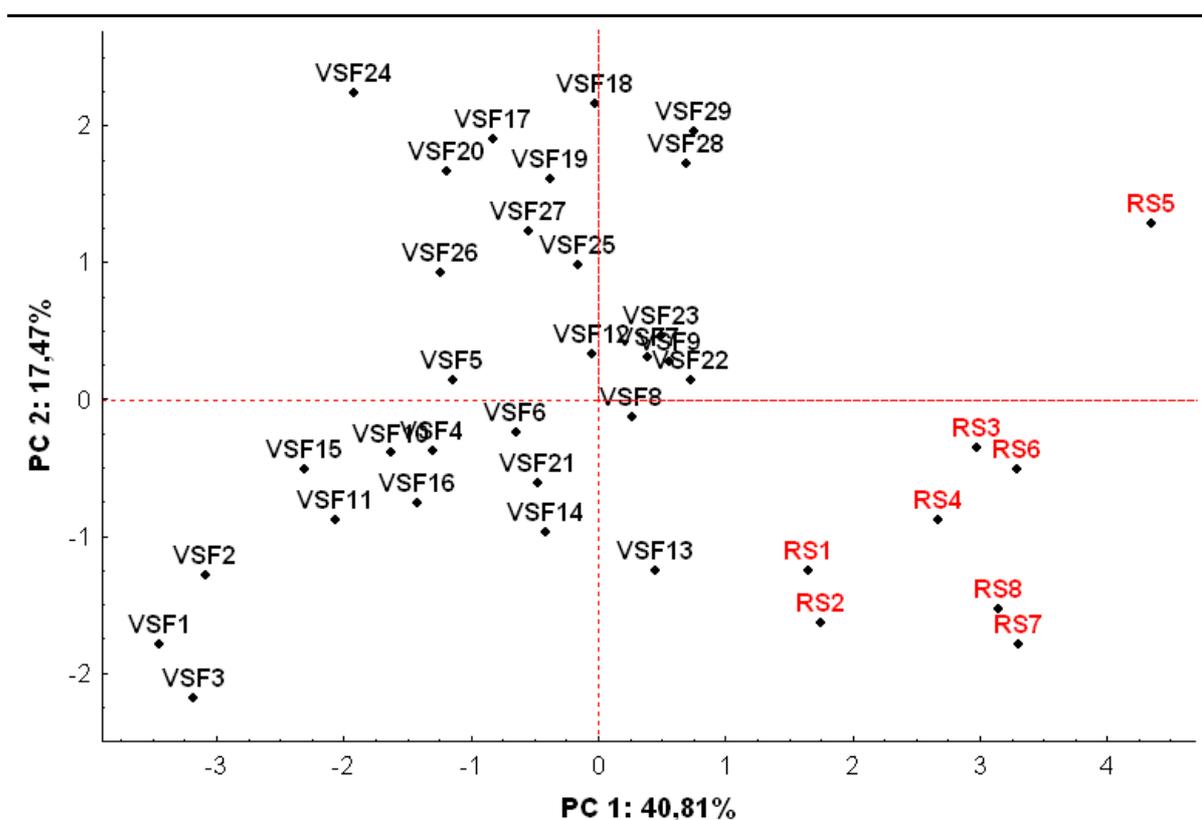


Figura 18: Gráfico de pesos de PC1 x PC2 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas para os vinhos comerciais.

Teor alcoólico, pH, concentração de fósforo, amônio e potássio são os mais importantes em PC1, enquanto que densidade, extrato seco e concentração de sódio caracterizam PC2. Devido a esta distribuição das variáveis, possíveis diferenças quanto à região de elaboração poderão ser visualizadas em PC1.

O gráfico de escores de PC1 x PC2, que possui mais de 58 % da informação, está indicado na figura 19. Nela percebe-se que a tendência de separação entre os vinhos comerciais elaborados no Vale do São Francisco e no Rio Grande do Sul permanece, sendo os vinhos gaúchos caracterizados por maior teor alcoólico e, em menor proporção, acidez e também por baixo teor salino (Na^+ , K^+ , PO_4^{3-} , NH_4^+), sugerindo a grande importância do

clima e do solo nas características de um vinho.



Preto = VSMSF – comerciais; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 19: Gráfico de escores de PC1 x PC2 para os vinhos comerciais analisados.

A análise de componentes principais de vinhos elaborados apenas na região do Vale, experimentais e comerciais, fornece o gráfico de pesos mostrado na figura 20.

Comparando-se as equações obtidas com as fornecidas na figura 14 para PC1 e PC2 observa-se que, com exceção de pequenas variações em valores numéricos, não há diferenças na importância das variáveis na distinção das amostras quando é realizada a PCA com todos os vinhos ou somente com os vinhos elaborados na região do Vale do Submédio São Francisco.

Vinhos mais densos, com maiores teores de densidade e extrato seco, e com maiores concentrações de fósforo, potássio e amônio estarão à esquerda – PC1(-) – do gráfico, enquanto que vinhos que se caracterizem por maiores valores de pH e teor alcoólico e menores valores de concentração de sódio e acidez estarão localizados no lado superior do eixo PC2.

$$PC1 = -0,457 \text{ den} - 0,449 \text{ PO}_4^{3-} - 0,424 \text{ Ext} - 0,409 \text{ K}^+ - 0,398 \text{ NH}_4^+$$

$$PC2 = 0,601 \text{ pH} + 0,461 \text{ EtOH} - 0,429 \text{ Na}^+ - 0,392 \text{ Att.}$$

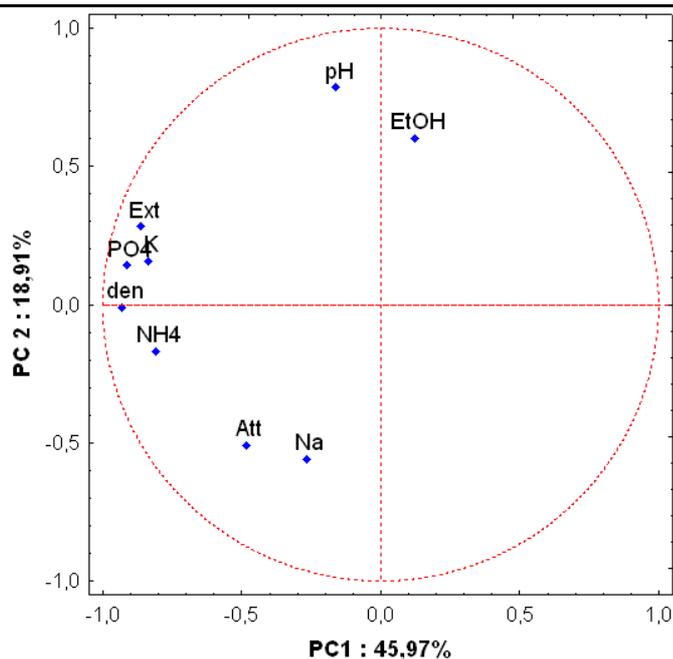
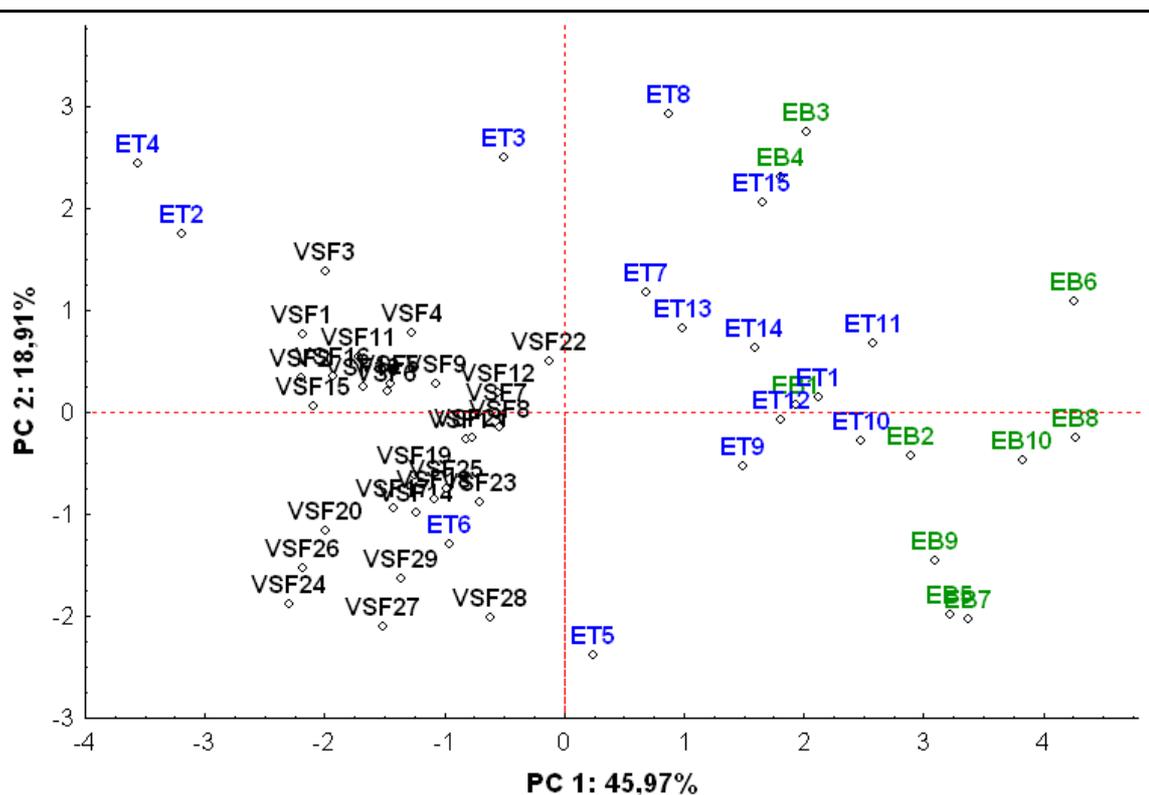


Figura 20: Gráfico de pesos de PC1 x PC2 e suas respectivas equações em função das variáveis estudadas para os vinhos elaborados no VSMSF.

O resultado desta análise, em termos do gráfico de escores de PC1 x PC2, que possui cerca de 65% da informação, está mostrado na figura 21.

Nesta figura continua a tendência de separação entre vinhos comerciais e experimentais a qual foi observada na PCA para todas as amostras analisadas. Onde os vinhos comerciais possuem os maiores teores de densidade e extrato seco, e com maiores concentrações de fósforo, potássio e amônio.

Observa-se também que algumas amostras tintas experimentais – ET2 a ET6 – possuem características que as enquadram melhor próximas aos vinhos comerciais, como pode ser visualizado nas tabelas C1 e C5, com seus maiores valores de densidade, extrato, fósforo e amônio, por exemplo, quando comparadas aos demais vinhos experimentais.



Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos.

Figura 21: Gráfico de escores de PC1 x PC2 para os vinhos elaborados no VSMSF.

4.2.1.2 Espectros Infravermelhos.

A análise de componentes principais também foi realizada com os espectros de infravermelho, onde o pré-processamento realizado foi centrar na média. Na figura 22 e 23 estão indicados os pesos na região NIR e MID, respectivamente.

Pela figura 22 pouca ou nenhuma informação útil da região NIR pode ser adquirida antes de 1350 nm. Observa-se também que a PC1 (contendo 77,3% da informação) é dominada prioritariamente pela faixa de 1870 a 2000 nm. Atribuída às vibrações de O–H e S–H. A PC2 (contendo 8,7% da informação), além de possuir sinal contrário nesta mesma faixa, domina o restante do espectro. As principais influências destas componentes estão em 1450 nm (N–H), 1550 nm (C–H), 2100 ~ 2150 nm (O–H ou C–H aldeído) e 2250 ~ 2300 nm (C–H alcanos e aromáticos).

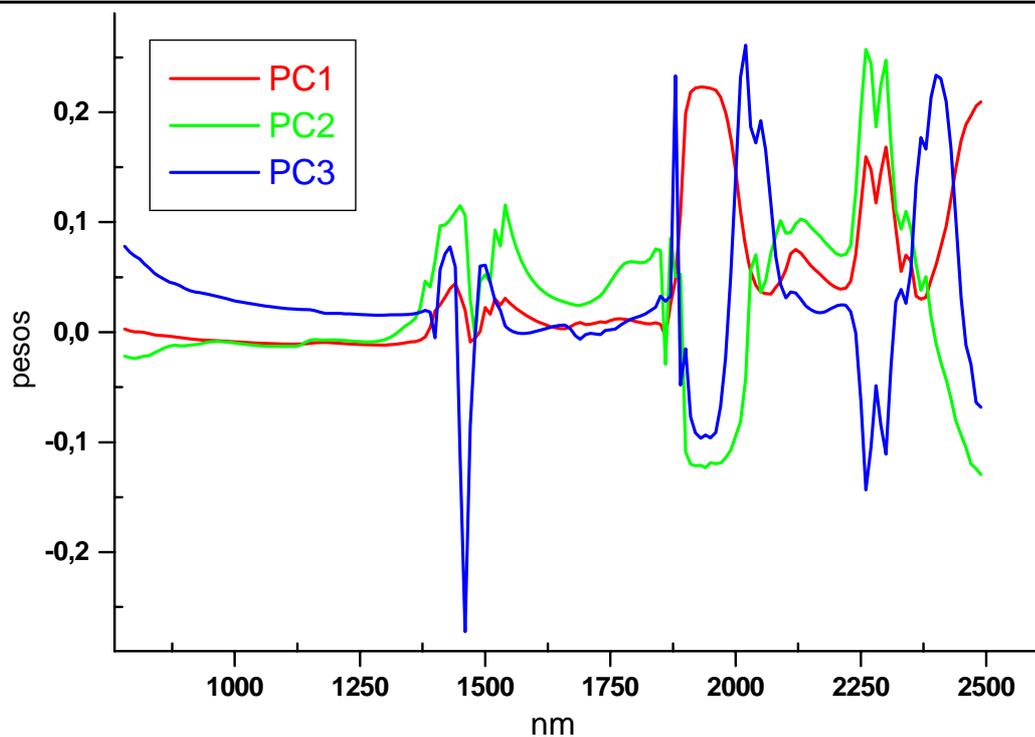


Figura 22: Gráficos de pesos para a PCA na região NIR.

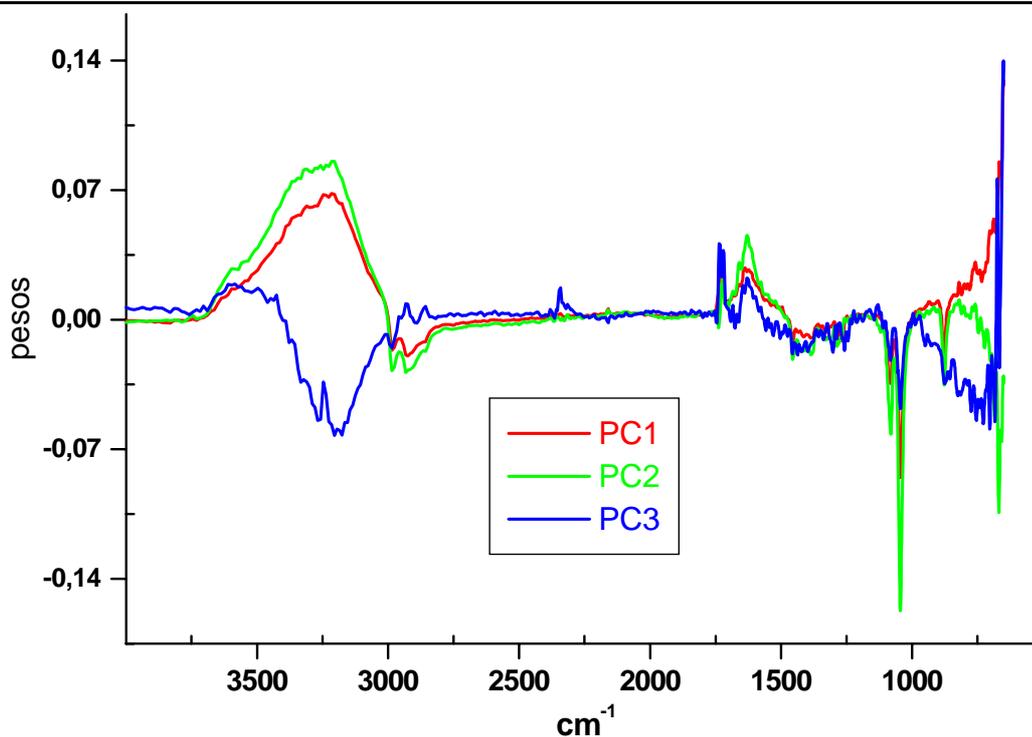


Figura 23: Gráficos de pesos para a PCA na região MID.

Na figura 23, não há informação útil na faixa de 2800 a 1800 cm^{-1} e, a exceção da região abaixo de 800 cm^{-1} , PC1 (contendo 61,7% da variância) e PC2 (16,6%) tem informação nas mesmas faixas de número de onda. Sendo as principais a banda centrada em

cerca de 3250 cm^{-1} , comumente atribuída à vibração de deformação axial de O–H (ausente nos espectros MID das figuras 9 e 10 por ter sido utilizada água como branco), um pico a 1630 cm^{-1} , região referente à deformação axial de C=C, dois intensos picos em 1080 e 1040 cm^{-1} , possíveis atribuições para as vibrações de deformação axial C–O (ou também possível S–O e P–O) e um pico fraco próximo a 880 cm^{-1} , sendo possível diversas atribuições tais como deformação angular de C–H alifáticos e aromáticos, de O–H e N–H.

Os gráficos de escores para ambas as faixas estão mostrados na figura 24 e 25 abaixo.

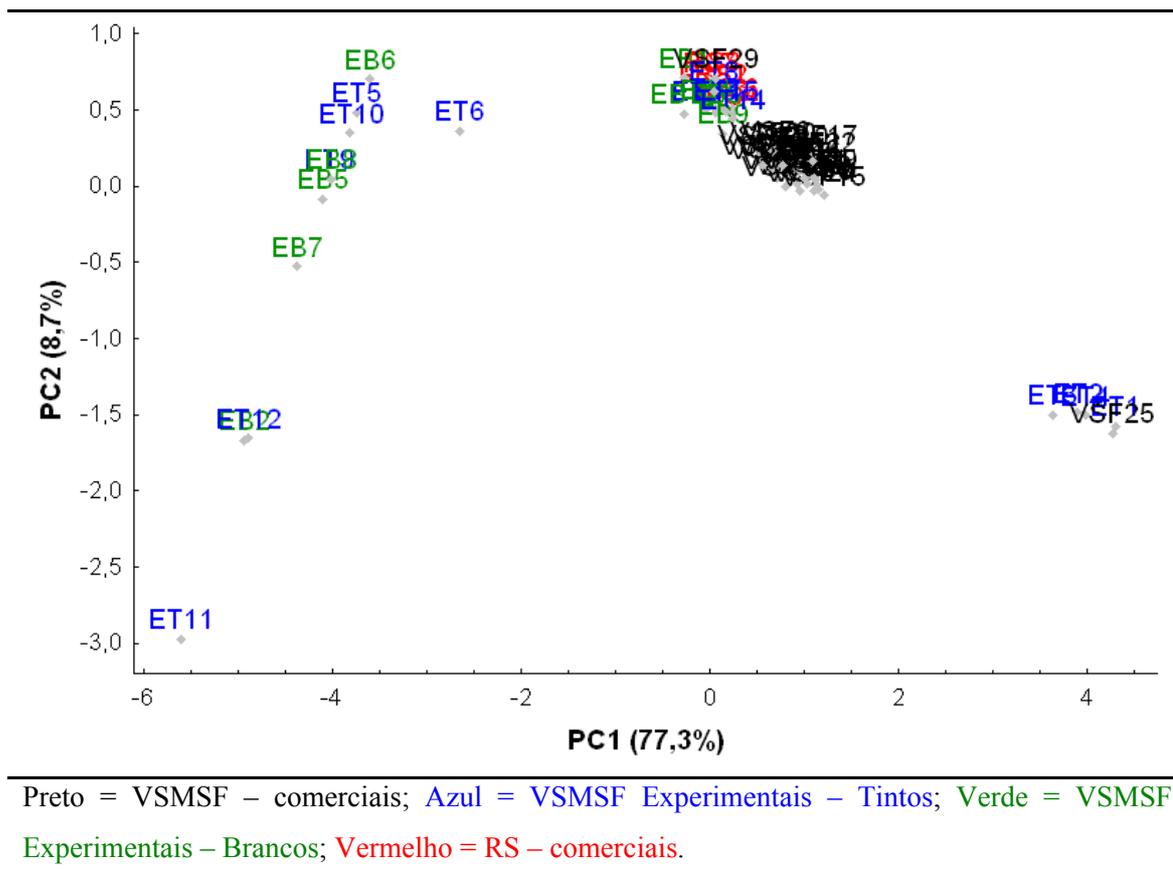
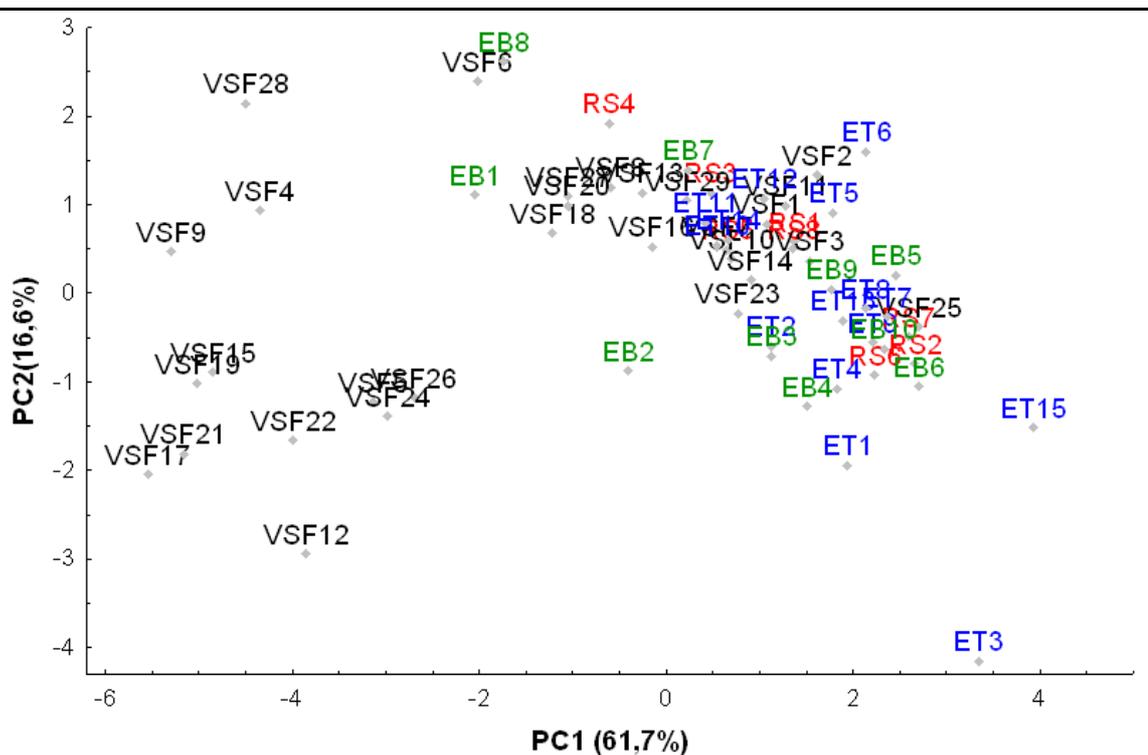


Figura 24: Gráficos de escores de PC1 x PC2 para a PCA dos espectros na região NIR.

Observa-se na figura 24 que as amostras que apresentaram alguns picos diferenciados dominaram a análise e destacaram-se. Deixando as demais amostras muito agrupadas. Mesmo assim, ainda é possível visualizar uma pequena separação de grupos entre os vinhos comerciais do VSF (em preto) e do RS (em vermelho) e alguns experimentais (azul e verde) no canto superior esquerdo da figura. Esta separação decorre da influência das vibrações N–H e C–H. Um grupo também foi formado com as amostras que se destacaram por apresentarem pico a 1950 nm (VSF25, ET1, ET2, ET3 e ET4), atribuída às vibrações S–H.

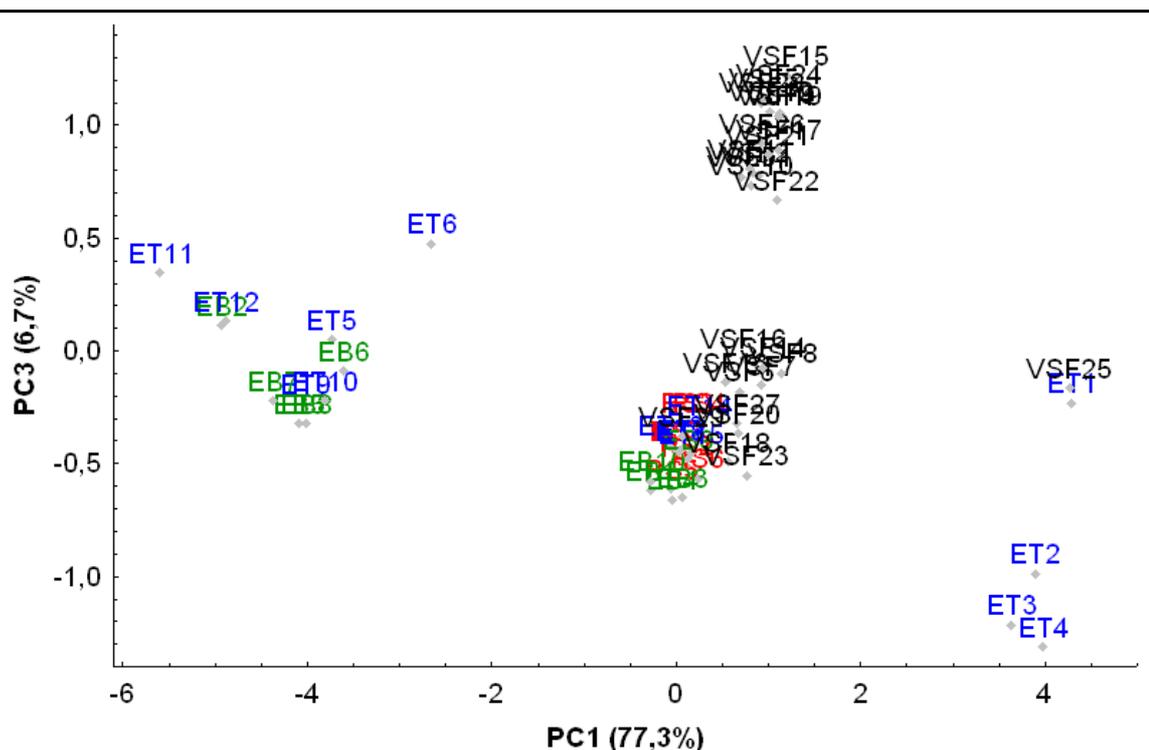


Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 25: Gráficos de escores de PC1 x PC2 para a PCA dos espectros na região MID.

Na figura 25 observa-se dois grandes grupos. Um formado por amostras do VSF com valores negativos tanto de PC1 como PC2, possivelmente devido à região de 1050 cm^{-1} (vibrações C–O e C–N). Outro grupo heterogêneo foi formado pelas amostras das três regiões estudadas com valores positivos em PC1 e negativos em PC2, região espectral abaixo de 800 cm^{-1} , e valores neutros em PC1 e positivos em PC2, região próxima a 1700 cm^{-1} .

Analisando a influência da terceira componente para a região NIR, figura 26, verifica-se que as amostras continuam em destaque. Porém, agora verifica-se que os vinhos do VSF separaram-se do outro grupo formado por mistura de vinhos das três regiões produtoras. Tal fato se deu pela influência das faixas de 1875, 2050 e 2400 nm (C–H de alcanos e aldeído).



Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 26: Gráficos de escores de PC1 x PC3 para a PCA dos espectros na região NIR.

A região do infravermelho médio mostrou uma melhor separação, em relação à PC1 x PC2, com a utilização da terceira componente, figura 27. A exceção de uma mistura presente na diagonal positiva do gráfico houve boa distinção entre as amostras do VSF com as demais analisadas, sendo esta separação devida à faixa acima de 3000 cm^{-1} , região das principais vibrações de deformação de O–H e N–H.

Observam-se também nos gráficos de escores das PCA no NIR e no MID que existem algumas amostras comerciais do VSMSF que apresentam características próximas às dos vinhos experimentais e comerciais do Rio Grande do Sul, sugerindo possível semelhança no processo enológico destas ou diferenças tanto no processo quanto no solo do Vale para a separação de amostras comerciais elaboradas no VSMSF.

Como esta separação de vinhos comerciais do Vale não foi visualizada na PCA dos dados físico-químicos, supõe-se que existem certas substâncias na composição química de alguns dos vinhos do Vale que os diferenciem dos demais, bem como os deixem com características mais parecidas com vinhos experimentais e comerciais do RS.

Outra informação útil que deve ser mencionada aqui é que as amostras foram analisadas em grupos separados, totalizando cinco datas diferentes. O que pode ter contribuído para a diferenciação de certas amostras experimentais na PCA dos espectros

infravermelhos, devido à alguma variação de energia no aparelho quando da aquisição dos espectros.

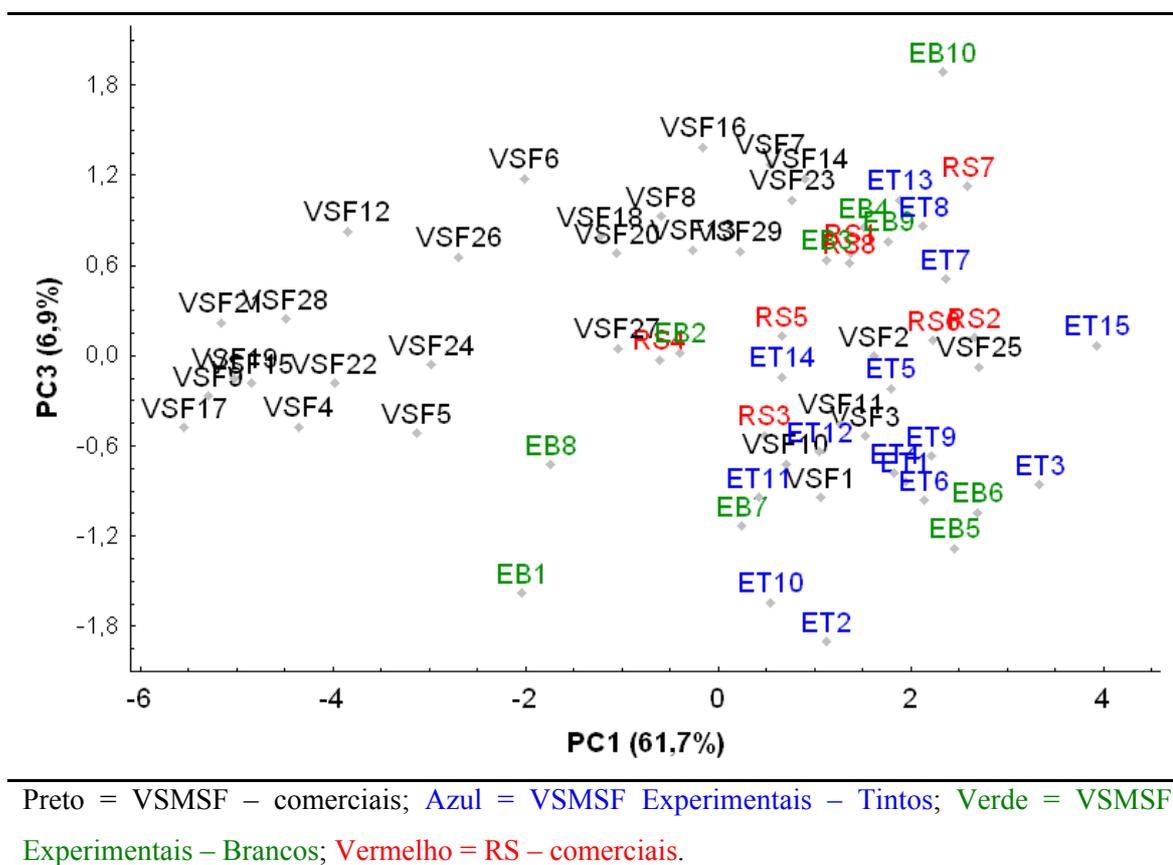


Figura 27: Gráficos de escores de PC1 x PC3 para a PCA dos espectros na região MID.

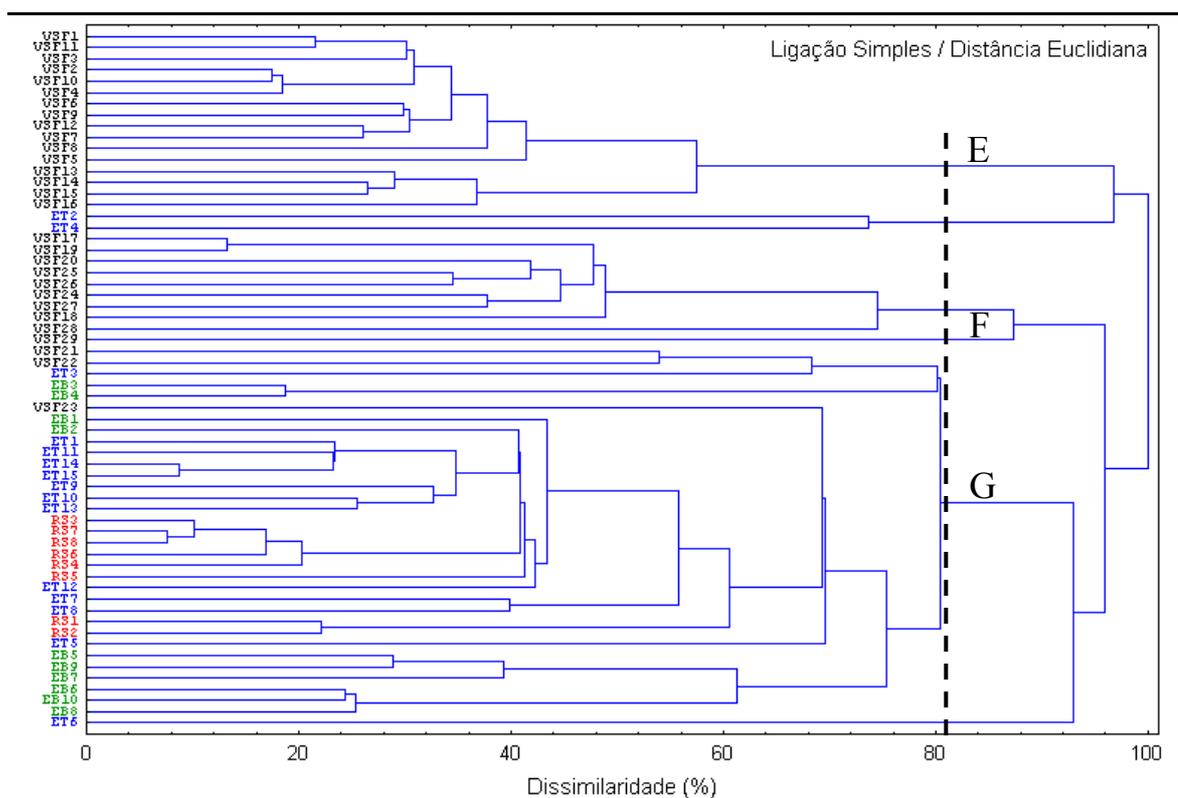
4.2.2 Análise de Agrupamento Hierárquico.

4.2.2.1 Parâmetros físico-químicos.

Os dendogramas obtidos na análise de agrupamentos utilizando-se os dados físico-químicos estão indicados nas figuras 28, 29, 30 e 31 abaixo:

Interpretando-se o dendograma da figura 28, percebem-se três grupos de amostras (E, F e G) e vinhos que se apresentam bem distintos dos demais (ET2, ET4, e ET6). Nesta mesma figura é possível observar que vinhos experimentais do Vale (em azul e verde) possuem maior semelhança com aqueles elaborados na região sul do Brasil (em vermelho), formando o grupo “G”, e que vinhos comerciais do VSF (em preto) apresentam-se como dois grupos, E e F. Um deles é composto por vinhos da vinícola “A” (grupo E) e o outro pelas demais vinícolas (B, C e D), formando o grupo F. Os vinhos da vinícola C, VSF21, VSF22 e VSF23, são aqueles que

se apresentam mais semelhantes aos experimentais.

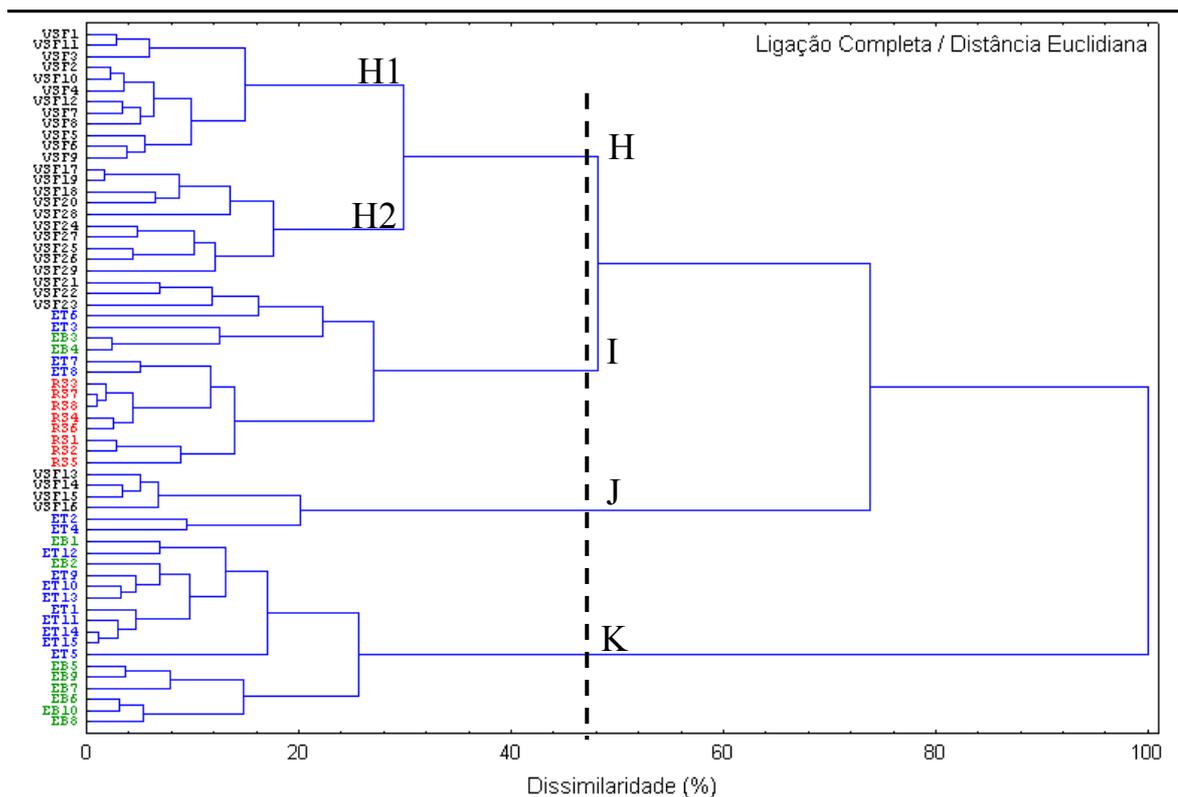


Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 28: Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Euclidiana e ligação simples.

Com a mudança do tipo de ligação utilizada (de simples para completa), figura 29, não se observam grandes mudanças nos grupamentos antes visualizados. Um grupo H pode ser observado sendo composto por vinhos comerciais do Vale. Neste grupo há dois subgrupos, H1, composto por vinhos da vinícola “A”, e H2, contendo vinhos elaborados pelas vinícolas “B” e “D”.

Os vinhos da vinícola “C” continuam mais próximos aos experimentais do Vale que, juntamente com as amostras gaúchas, formam os demais grupos observados – I, J e K.



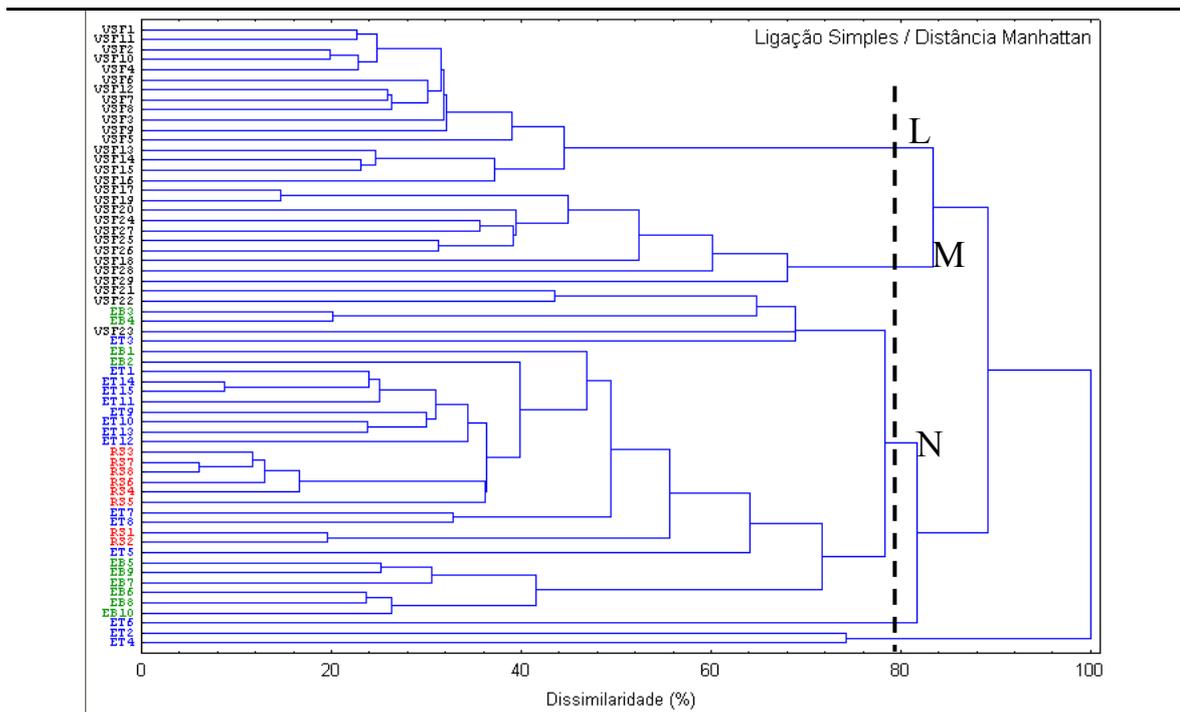
Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 29: Dendrograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Euclidiana e ligação completa.

A mudança da forma de medição de distância (Manhattan ao invés de Euclidiana), figura 30, também proporciona a alocação dos vinhos comerciais provenientes do Vale do São Francisco em agrupamentos separados (grupos L e M) dos demais analisados, principalmente os elaborados pela vinícola “A” – grupo L.

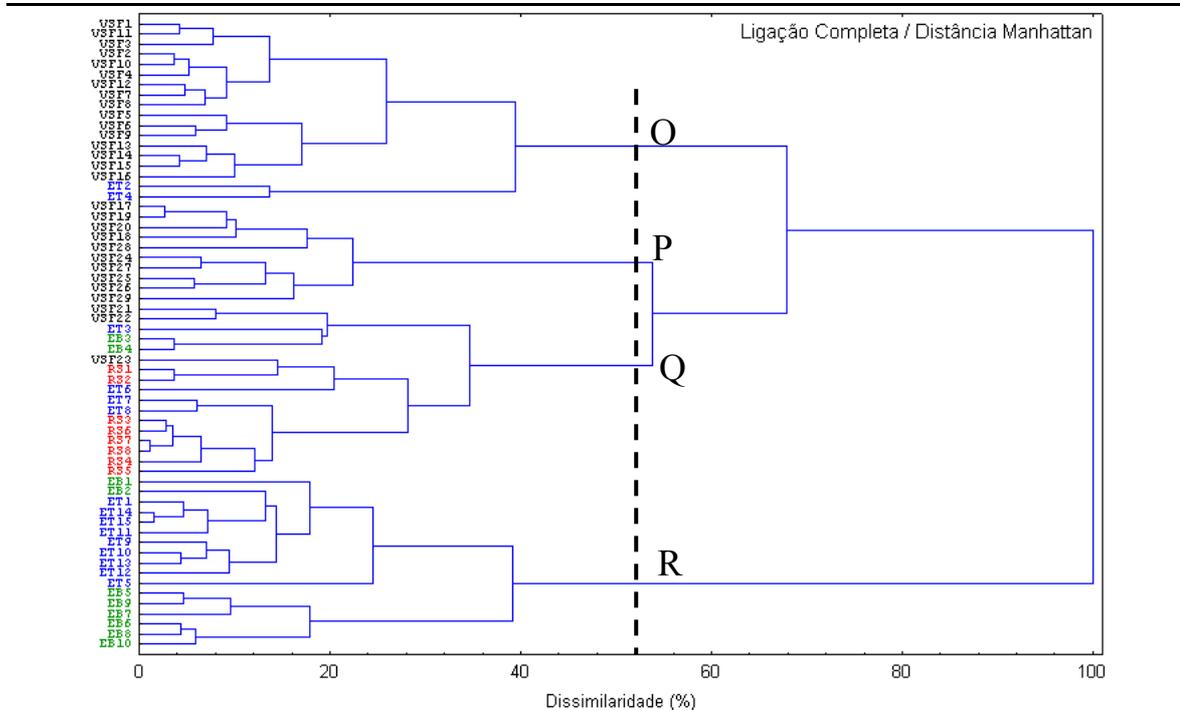
Na mudança do tipo de ligação mantendo-se a forma anterior de calcular distância (figura 31), também ocorre uma separação dos vinhos comerciais do VSMSF. O primeiro contendo os provenientes da vinícola “A” e o segundo com os das vinícolas “B”, “C” e “D”. Percebendo-se também que as amostras da vinícola “C” assemelham-se mais aos experimentais.

Estes resultados para a análise de agrupamento sugerem o que já foi indicado pela análise de componentes principais. Que os vinhos comerciais elaborados na região do Vale do São Francisco podem ser distintos de vinhos elaborados na região sul do Brasil, bem como há a possibilidade (necessitando de estudo mais aprofundado) de distinção entre amostras elaboradas no VSF.



Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 30: Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Manhattan e ligação simples.

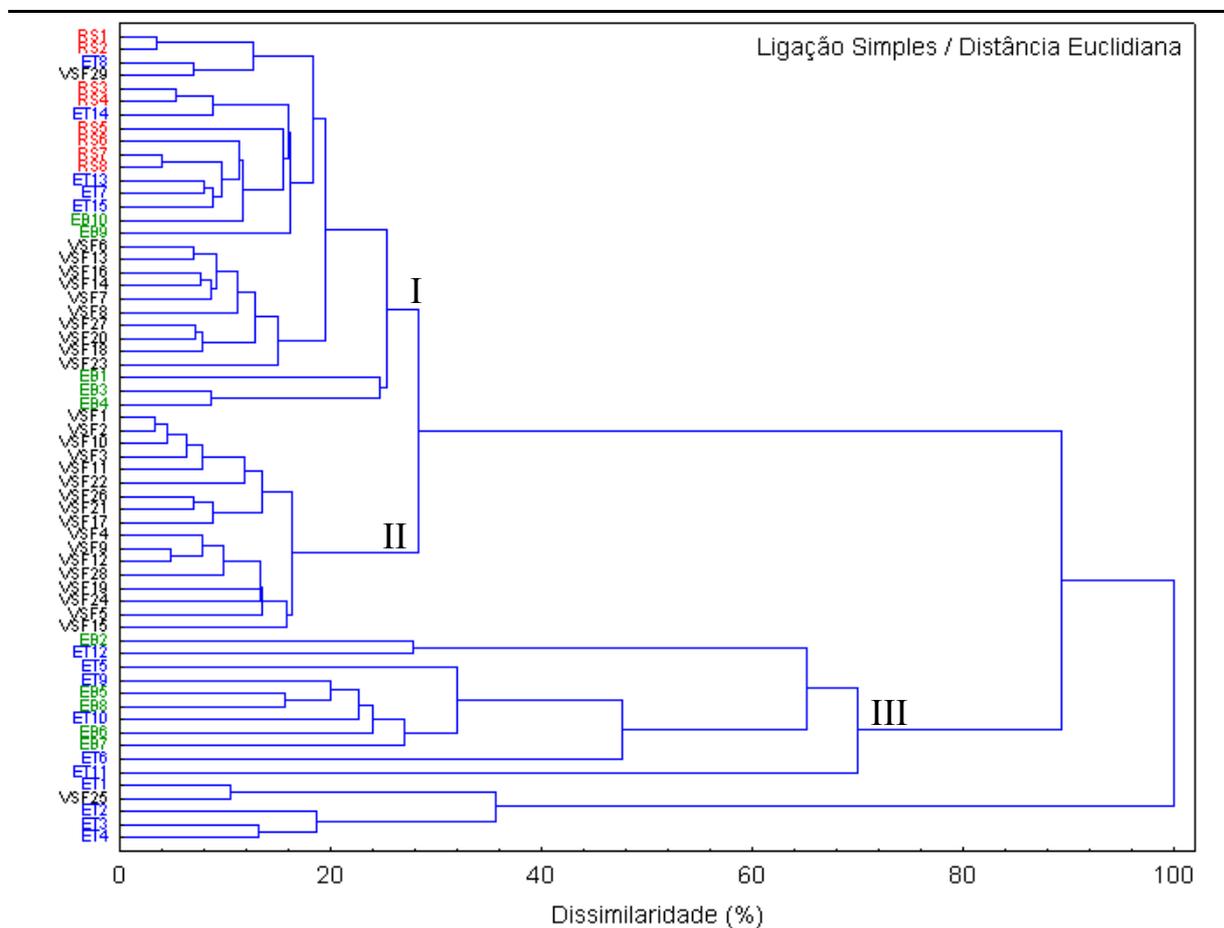


Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 31: Dendograma obtido com a análise hierárquica dos dados físico-químicos utilizando-se distância Manhattan e ligação completa.

4.2.2.2 Espectros Infravermelhos.

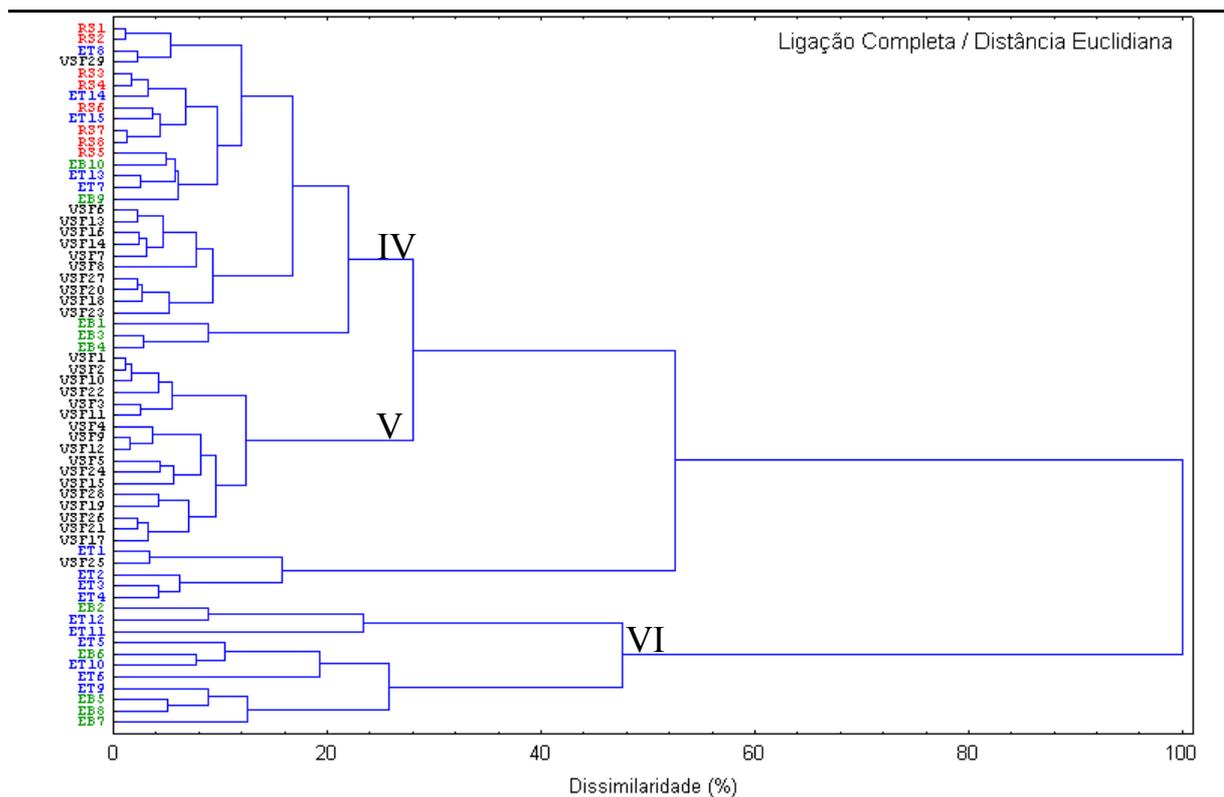
A mesma análise foi realizada com os espectros infravermelhos. As figuras 32 e 33 mostram os dendogramas obtidos para a região NIR.



Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 32: Dendrograma obtido com a análise hierárquica dos espectros NIR com distância euclidiana e ligação simples.

Da mesma forma que para o gráfico de escores da PC1 x PC2 com NIR (figura 24), verifica-se uma pequena mistura de vinhos do RS, experimentais e comerciais do VSMSF – grupo I, na figura 32, e grupo IV, na figura 33. Também se destacam em ambos os dendogramas as amostras experimentais ET1 até ET4 em um grupo isolado, bem como um grande número de amostras comerciais do VSF formando um subgrupo – grupo II, figura 32, e grupo V, figura 33, e um grupo formado por amostras experimentais, grupos III e VI, tanto tintas como brancas.

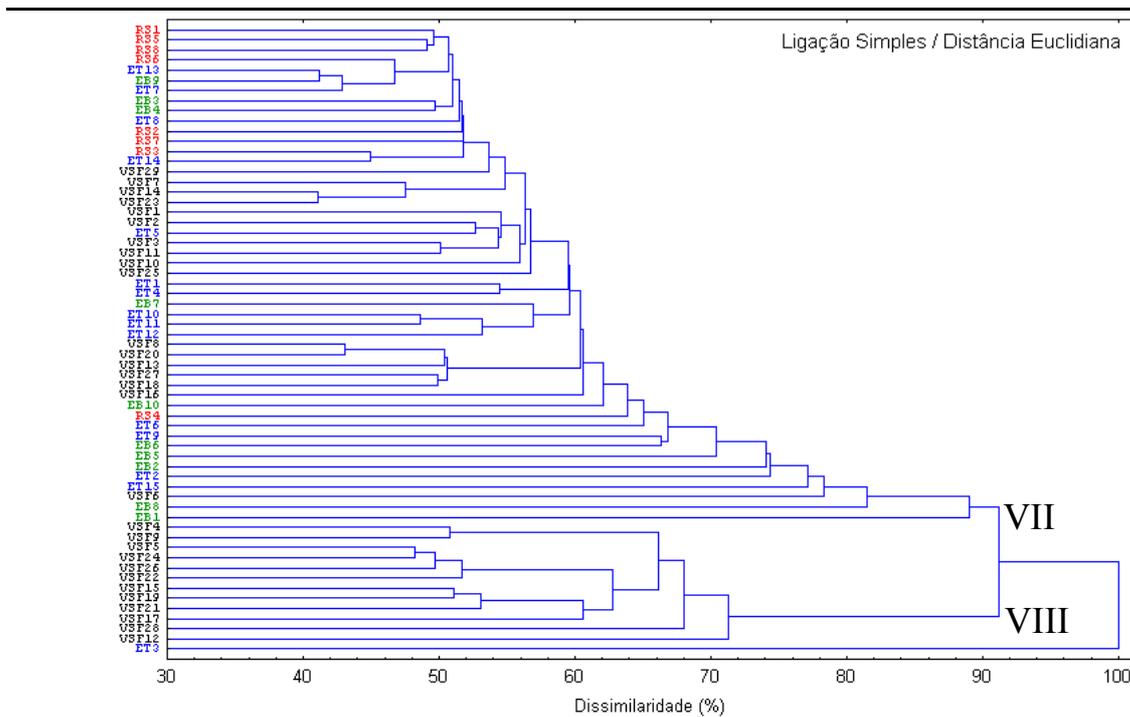


Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 33: Dendrograma obtido com a análise hierárquica dos espectros NIR com distâncias euclidianas e ligação completa.

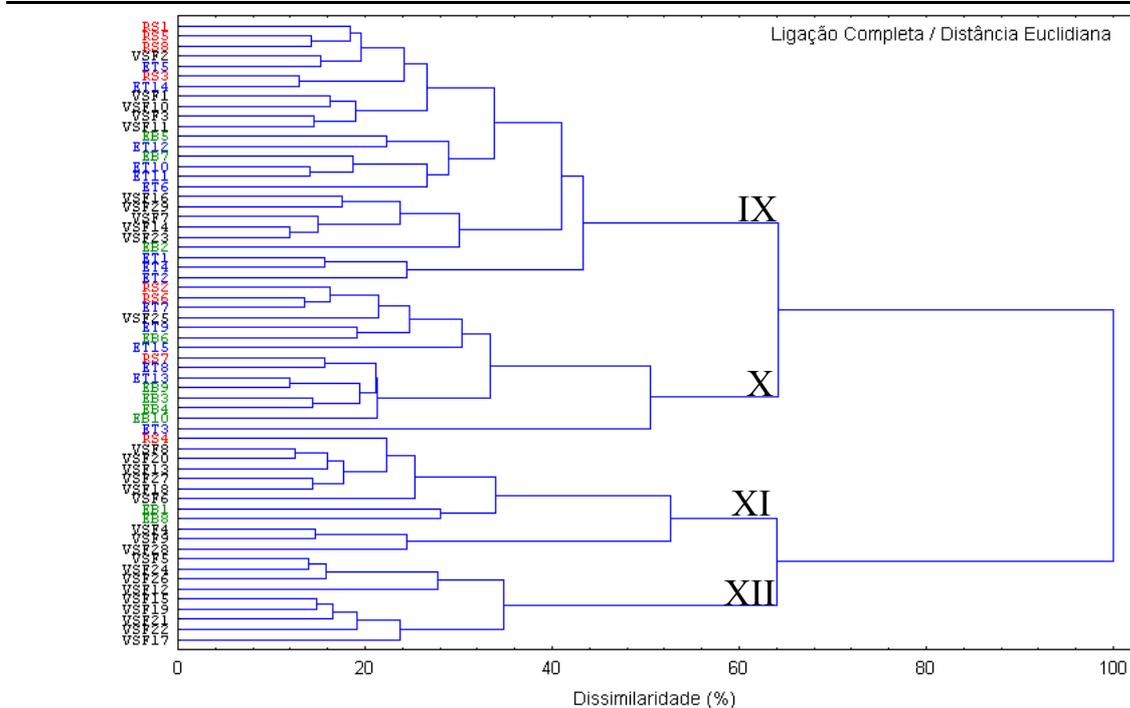
Com a região do infravermelho médio, figuras 34 e 35, apesar da relativa desorganização com a utilização de ligação simples como técnica de agrupamento, ainda percebe-se um grupo formado por amostras comerciais do VSF. Igualmente a informação fornecida pela PCA, também há uma mistura de amostras das três regiões vinícolas. Sendo melhor visualizado com o dendrograma da figura 35.

Apesar de algumas poucas reorganizações em termos de agrupamentos, observando-se todos os dendogramas das figuras acima, nota-se que vinhos provenientes do VSF tendem a formar agrupamentos distintos, mesmos com a mudança do tipo de ligação ou da forma de medida de distância realizada. Indicando que este grupo, o dos vinhos proveniente do Vale do São Francisco, é robusto. Ou seja, corroborando o que foi indicado pela análise de componentes principais, segundo os parâmetros determinados neste trabalho, os vinhos do Vale do São Francisco possuem características diferenciadas das demais amostras aqui analisadas.



Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 34: Dendrograma obtido com a análise hierárquica dos espectros MID com distância euclidiana e ligação simples.



Preto = VSMSF – comerciais; Azul = VSMSF Experimentais – Tintos; Verde = VSMSF Experimentais – Brancos; Vermelho = RS – comerciais.

Figura 35: Dendrograma obtido com a análise hierárquica dos espectros MID com distância euclidiana e ligação completa.

4.3 Previsão usando PLS / PCR.

Observando-se a figura 24 (pág. 59), que mostra o gráfico de escores de PC1 x PC2 para a PCA dos espectros NIR, verifica-se que algumas amostras encontram-se muito distintas das demais, devido a picos diferenciados em certas faixas do espectro, como pode ser visto nas figuras 11, 12 e 13. Portanto, 16 amostras foram descartadas por poderem influenciar negativamente na regressão. Sendo o conjunto total de vinhos para a regressão, utilizando-se os espectros de infravermelho próximo, agora reduzido a 46 amostras. Destas, 34 foram para construção e validação do modelo e as 12 restantes para teste.

Realizou-se regressão pelos métodos PCR e PLS para a predição de valores dos parâmetros extrato seco, densidade, teor alcoólico e acidez total. Tais variáveis foram escolhidas por estarem intimamente ligadas à qualidade dos vinhos bem como suas ligações com o espectro infravermelho. Pois etanol, açúcares residuais, aminoácidos, polifenóis, densidade e extrato seco, possuem ligações químicas que absorvem fortemente na região do infravermelho próximo e médio. Já a acidez é determinada pela estrutura das moléculas existentes e que podem ter suas ligações O–H rompidas (ionização).

A validação do modelo desenvolvido foi realizada por validação cruzada. Todos os dados foram centrados na média e a faixa de calibração consistiu em amostras com os valores cobrindo toda a variação obtida para cada variável.

Os resultados destas análises estão sumarizados na tabela 11.

Tabela 11: Número de fatores (NF), REMSEC e coeficiente de correlação (r) para as regressões PCR e PLS com os espectros NIR para alguns parâmetros analisados.

Parâmetro	PCR			PLS			Oficial*
	NF	REMSEC	R	NF	REMSEC	R	Erro médio
Acidez	13	5,7	0,938	9	5,4	0,944	3
Densidade	7	0,00056	0,947	6	0,00056	0,948	0,00002
Extrato	8	1,5	0,947	6	1,3	0,932	0,02
Álcool	1	1,0	0,651	1	1,0	0,656	0,4

Os baixos coeficientes de correlação para o modelo de previsão do teor alcoólico podem ser atribuídos às deformações dos picos no NIR referentes às suas vibrações, pois se utilizou água como branco da análise.

Pelo menor valor de REMSEC, menor número de fatores (NF) necessários e maior r, o PLS apresentou-se melhor como modelo de previsão quando comparado com PCR nesta

análise.

Com o modelo construído, fez-se a previsão dos valores destes parâmetros em outras amostras de vinhos. Os resultados para acidez total e densidade estão expressos na tabela 12.

Tabela 12: Resultados da predição dos valores de acidez total e densidade em amostras de vinhos com PCR e PLS desenvolvidos.

	Acidez total (mmol L ⁻¹)			Densidade (g mL ⁻¹)		
	PCR	PLS	Oficial*	PCR	PLS	Oficial*
REMSEP =	8	7		0,0007	0,0005	
R =	0,779	0,8385		0,921	0,9399	
1	54	51	45	0,990	0,991	0,991
2	62	63	58	0,993	0,994	0,993
3	72	73	63	0,994	0,994	0,994
4	57	58	66	0,995	0,995	0,994
5	63	63	69	0,996	0,995	0,995
6	67	63	74	0,995	0,995	0,995
7	75	76	76	0,995	0,995	0,996
8	82	79	79	0,995	0,995	0,996
9	64	66	81	0,995	0,995	0,996
10	83	85	85	0,996	0,996	0,996
11	76	80	88	0,996	0,996	0,997
12	85	83	88	0,995	0,996	0,997

* refere-se aos valores obtidos utilizando o método oficial.

Para verificar se há diferenças significativas nos valores obtidos pelos dois métodos, PCR e PLS, na predição da acidez, aplicou-se o teste t, com 95% de confiança, para as colunas 2 e 3 da tabela 12 (acidez total) em relação à quarta coluna da mesma (método oficial). Este teste também foi aplicado para as colunas 5 e 6 desta tabela, na determinação da densidade, e observou-se que não há diferença significativa de ambos os métodos para a determinação de ambos, acidez e densidade. Esta afirmação pode ser melhor visualizada nos gráficos de valores predito x referência (regressões usando-se PLS), respectivamente, nas figura 36 e 37.

Com relação à precisão dos valores encontrados com as regressões, aplicando-se teste F para 95% de confiança às mesmas colunas da tabela 12, verifica-se que não há diferenças estatísticas entre PCR / PLS e o método oficial na determinação da acidez, põem tal diferença

ocorre com a determinação da densidade.

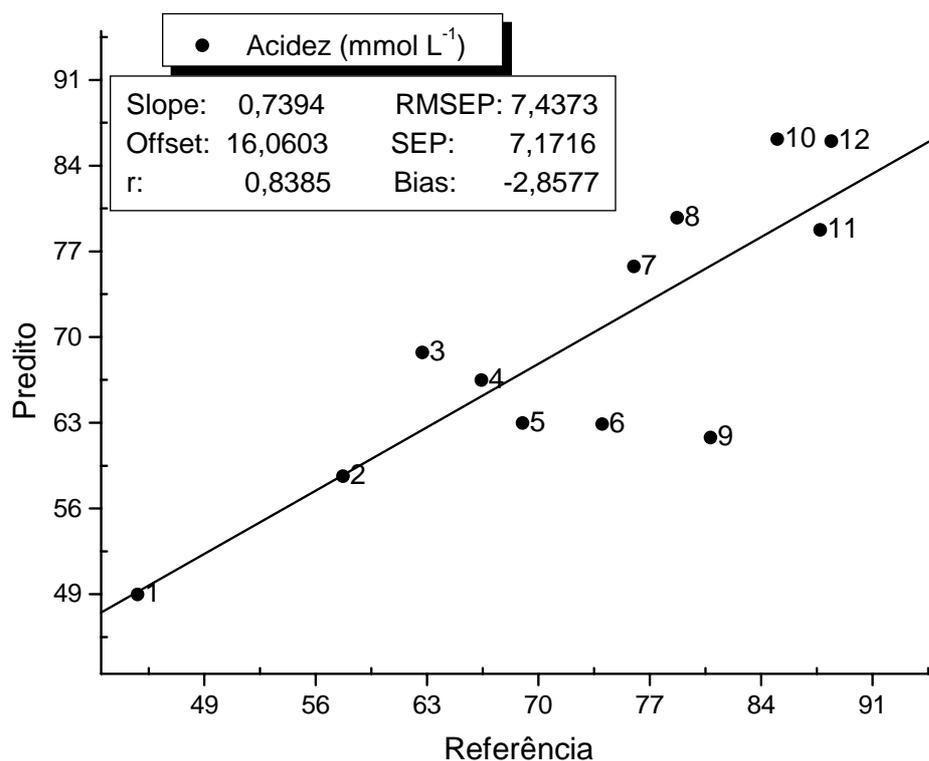


Figura 36: Gráfico de valores predito x referência para a predição da acidez total.

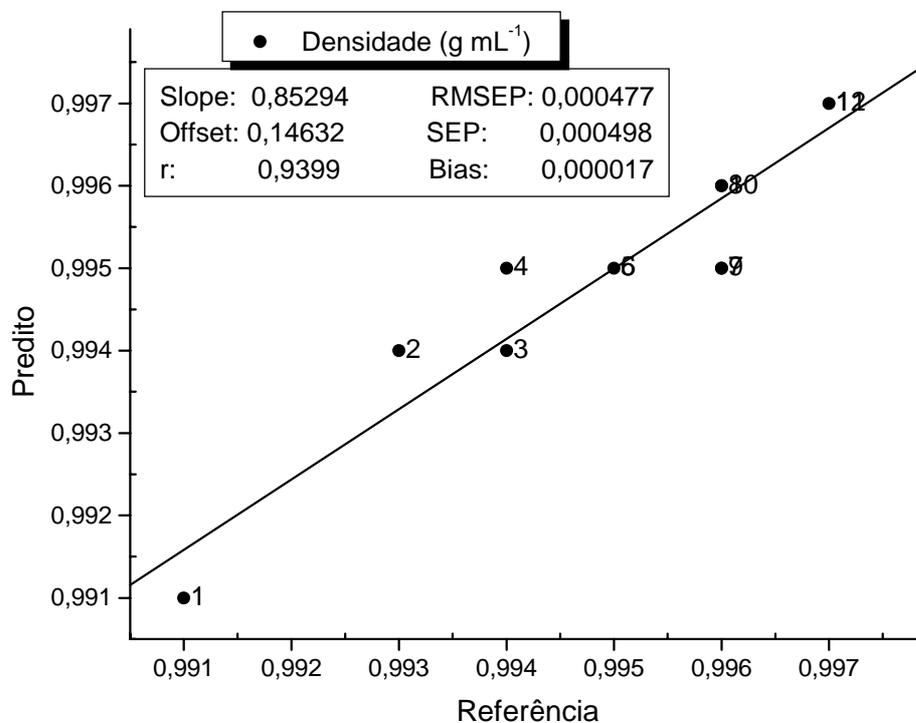


Figura 37: Gráfico de valores predito x referência para a predição da densidade.

Os valores obtidos para a predição do extrato seco e teor alcoólico utilizando-se os modelos construídos estão sumarizados na tabela 13.

Tabela 13: Resultados da predição dos valores de extrato seco e teor alcoólico em amostras de vinhos com PCR e PLS desenvolvidos com o espectro NIR.

	Extrato seco (g L ⁻¹)			Teor alcoólico (%v/v)		
	PCR	PLS	Oficial*	PCR	PLS	Oficial*
REMSEP =	1,7	1,7		1,1	1,8	
r =	0,847	0,8534		-0,037	0,2617	
1	17	13	17,52	11	11	9,9
2	19	19	19,86	12	12	10,4
3	20	21	20,74	11	11	10,8
4	20	21	21,05	11	11	10,9
5	21	21	21,77	12	12	11,3
6	21	21	22,31	13	13	11,6
7	20	20	22,64	12	12	12,0
8	23	23	23,39	11	11	12,3
9	22	22	23,75	13	13	12,8
10	24	25	24,80	11	11	13,3
11	23	23	26,74	12	12	14,4
12	25	26	26,83	10	10	16,0

*refere-se aos valores obtidos utilizando o método oficial

Na predição do teor de extrato seco, do mesmo modo que na análise da tabela 12, o teste t, para 95% de confiança, indica que tanto PCR quanto PLS possuem médias equivalentes tanto entre si quanto em relação ao método oficial. A figura 38 mostra o gráfico de valores predito x referência (usando-se somente PLS) para o extrato seco, indicando boa resposta do modelo.

Aplicando-se o teste F, para 95% de confiança, verifica-se que, em relação ao método oficial, há diferença significativas nas precisões dos dois modelos.

Quanto ao teor alcoólico, tanto PCR quanto PLS não se mostraram satisfatórios para as predições, figura 39 para predição usando PLS. Tal fato pode ser justificado pela utilização de água como branco da análise e conseqüente interferências nas análises (ver figura 11, pág. 46, por exemplo).

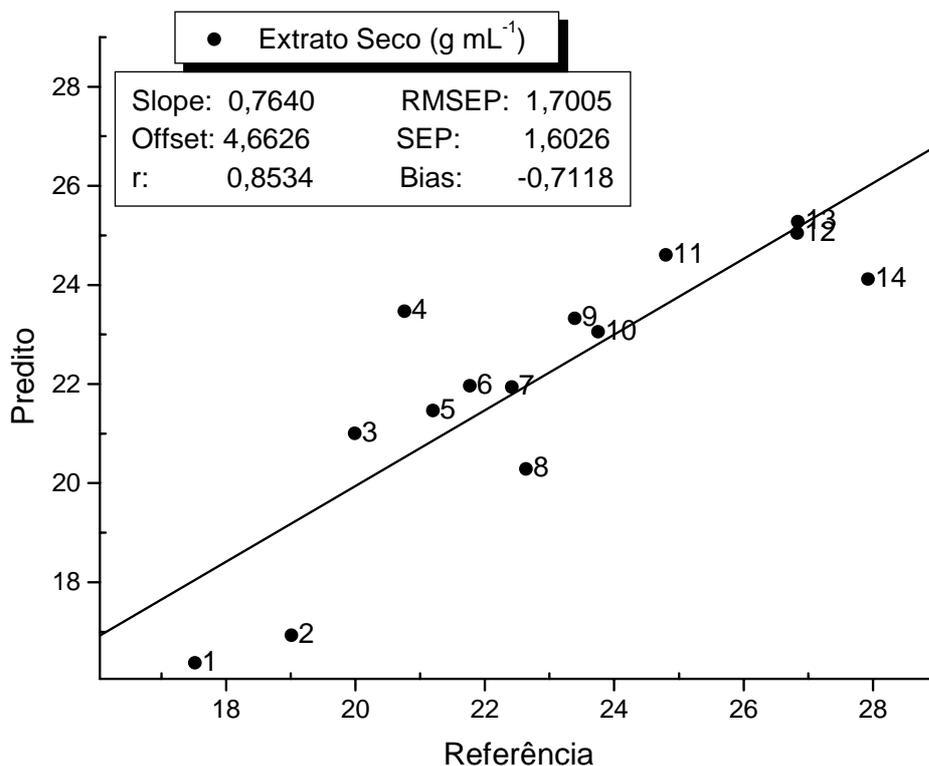


Figura 38: Gráfico de valores predito x referência para a predição do extrato seco.

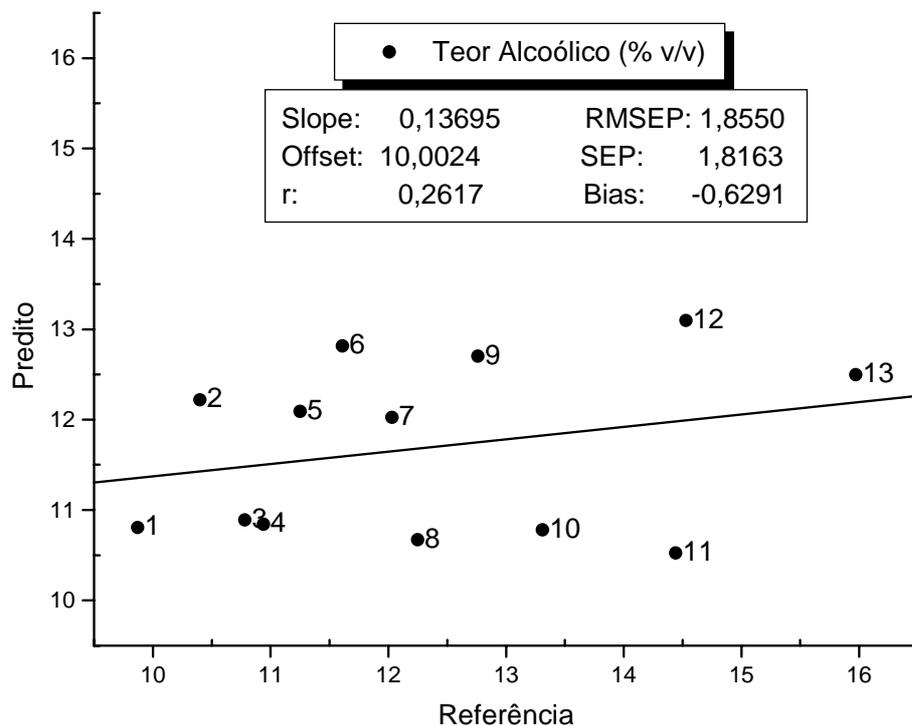


Figura 39: Gráfico de valores predito x referência para a predição do teor alcoólico.

Estes resultados preliminares mostram que os modelos podem ser utilizados, mas devem ser trabalhados para melhorar as precisões obtidas. Diferentes pré-processamentos, mais amostras e utilização de ar como branco da análise serão ainda testados com este fim.

Marcelo Farias de Andrade

Capítulo 5:

Finalizações

“Há três métodos para ganhar sabedoria: primeiro por reflexão, que é o mais nobre; segundo, por imitação, que é o mais fácil e terceiro, por experiência, que é o mais amargo”.

(Confúcio)

5.1 Conclusões

Vinhos elaborados na região do Vale do Submédio do São Francisco, tintos e brancos experimentais e tintos comerciais, bem como algumas amostras de vinhos tintos do Rio Grande do Sul – para fins comparativos – foram caracterizados quanto aos seus teores de densidade, extrato seco, pH, acidez total, teor alcoólico, sódio, potássio, amônio e fósforo e também em relação aos seus espectros de infravermelho (próximo e médio).

5.2 Perspectivas

Utilizar técnicas analíticas de alta performance, como RMN, GC e HPLC, para a determinação de outros parâmetros, buscando uma melhor caracterização dos vinhos do VSMSF;

Desenvolvimento e aplicação de metodologias de análise por injeção em fluxo visando automação na análise de parâmetros em vinhos;

Melhorar os estudos de regressão, por meio de testes com vários pré-processamentos, utilização de mais amostras e mudança do branco dos espectros de infravermelho como sendo o ar.

Marcelo Farias de Andrade

Capítulo 6:

Apêndices e Referências

“Espere o melhor,
prepare-se para o pior
e aceite o que vier”.
(Provérbio Chinês)

6.1 Apêndice A:

Determinação de P-PO_4^{3-} em vinhos utilizando Análise por Injeção em Fluxo com detecção espectrofotométrica.

A metodologia aqui seguida é descrita no livro do Karlberg e Pacey [105].

Soluções.

- Reagente R1 (reagente colorido): solução a 2% de molibdato de amônio contendo solução 0,3% de tartarato de antimônio e potássio e ácido sulfúrico a $1,3 \text{ mol L}^{-1}$;
- Reagente R2: ácido ascórbico 1% em água;
- Padrões de P-PO_4^{3-} : preparados nas concentrações de 0,5 a $10,0 \text{ mg L}^{-1}$. A partir de diluições de uma solução estoque 250 mg L^{-1} em P-PO_4^{3-} ;
- Amostras: as amostras foram diluídos em 1mL do vinho para 50 mL de solução para adequarem-se a faixa de trabalho.

Procedimento

O diagrama do sistema em fluxo utilizado está representado na figura A1. O volume de injeção foi de $50 \mu\text{L}$, temperatura do banho = $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e utilizou-se água destilada como transportador.

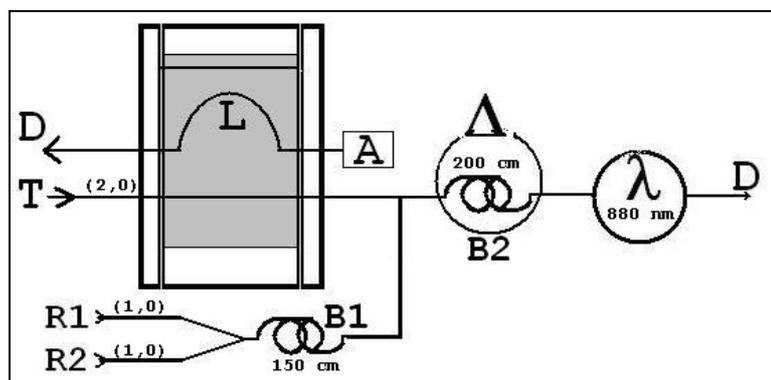


Figura A1: Diagrama de sistema em fluxo utilizado na análise de fósforo. D = descarte; T = transportador; L = Loop (alça de amostragem); A = Amostra/ padrão; R1, R2 = Reagentes; B1, B2 = Bobinas de reação, Δ = Aquecimento e λ = espectrofotômetro a 880nm.

Para verificar se o sistema responde linearmente à concentração do analito, fez-se uma curva analítica com adição de padrão. A solução 10 mg L⁻¹ de fósforo foi utilizada para fornecer concentrações finais de 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0 mg L⁻¹ do analito. Realizou-se tal procedimento com cinco amostras diferentes. A figura A2 mostra um dos resultados obtidos

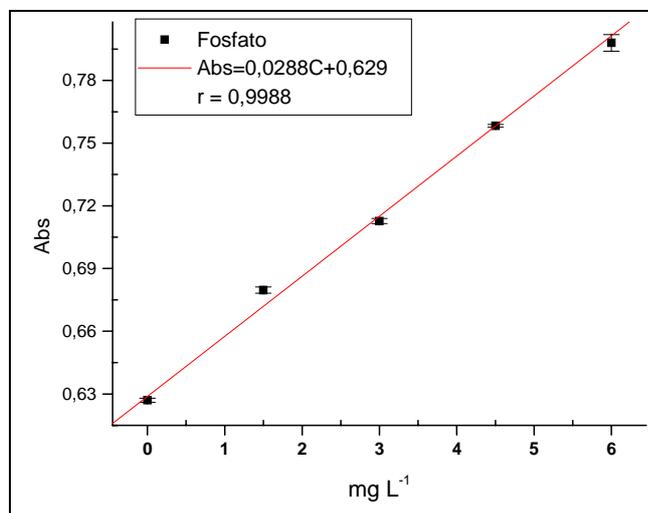


Figura A2: Curva analítica obtida para adição de padrão na determinação de PO₄³⁻ em vinhos

Posteriormente construiu-se uma curva analítica na faixa de 0,50 a 10,0 mg L⁻¹ em fósforo, adquirindo-se as absorbâncias médias (n = 6). Obteve-se CV ≤ 2,0% na faixa de trabalho, R² = 0,9942, frequência analítica de 70 determinações por hora e limite de detecção (tomado como três vezes o desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da reta) = 0,30 mg L⁻¹. O desvio padrão do branco foi tomado como uma média de 8 injeções de água destilada.

Com a curva analítica construída, fez-se a leitura de 14 amostras de vinhos, 10 tintos e 4 brancos, com e sem adição de solução padrão de fósforo, verificando a taxa de recuperação. As concentrações deste padrão adicionado variaram de acordo com a concentração obtida para a amostra sem adição, para não serem superiores às concentrações obtidas, bem como para manter-se dentro da curva de calibração. A tabela A1 indica os resultados obtidos, onde as quatro primeiras amostras são de vinhos brancos.

Tabela A1: Concentração de fósforo nas amostras de vinhos determinados pelo método proposto, pela adição padrão, concentração de padrão adicionada e a taxa de recuperação.

Amostra	Método proposto (mg L ⁻¹).	Adição de padrão (mg L ⁻¹).	Padrão adicionado (mg L ⁻¹).	Recuperação (%)
1	1,51	2,50	1,0	99,3
2	3,21	5,31	2,0	105,1
3	3,23	5,14	2,0	95,5
4	1,09	2,11	1,0	102,0
5	1,82	2,86	1,0	103,8
6	7,02	8,94	2,0	95,8
7	3,31	5,27	2,0	97,9
8	1,96	2,94	1,0	97,7
9	5,10	7,16	2,0	103,2
10	4,82	6,77	2,0	97,7
11	3,08	4,95	2,0	93,7
12	2,46	3,56	1,0	110,5
13	2,75	3,73	1,0	98,1
14	2,39	3,40	1,0	101,1

Verifica-se que a taxa de recuperação variou entre 93,7 e 105,1 % (exceto para uma amostra, cujo valor foi de 110,5%), mostrando boa recuperação do analito e a possibilidade de utilização da mesma na análise direta de fósforo em vinhos, tanto tinto como branco.

6.2 Apêndice B:

Determinação de NH_4^+ livre em vinhos utilizando Análise por Injeção em Fluxo com detecção espectrofotométrica.

A metodologia aqui seguida é descrita por Nóbrega *et al* [106] para águas.

Soluções.

- Reagente R1 (reagente colorido): solução 1,25% (m/v) de salicilato de sódio contendo 5% (m/v) de citrato de sódio preparada em solução de hidróxido de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$;
- Reagente R2: Solução a 0,10% de hipoclorito de sódio preparada em solução de hidróxido de sódio $0,15 \text{ mol L}^{-1}$;
- Padrões de NH_4^+ : preparados nas concentrações de 0,5 a $50,0 \text{ mg L}^{-1}$. A partir de diluições de uma solução estoque 200 mg L^{-1} em NH_4^+ ;
- Amostras: as amostras foram diluídos em 1mL do vinho para 2 ou 3 mL de solução, dependendo da amostra, para adequarem-se a faixa de trabalho.

Procedimento

O diagrama do sistema em fluxo utilizado está representado na figura B1. Nesta figura, o volume de injeção foi de $200 \mu\text{L}$, temperatura do banho = $36 \text{ }^\circ\text{C}$ e utilizou-se solução $0,35 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio como transportador.

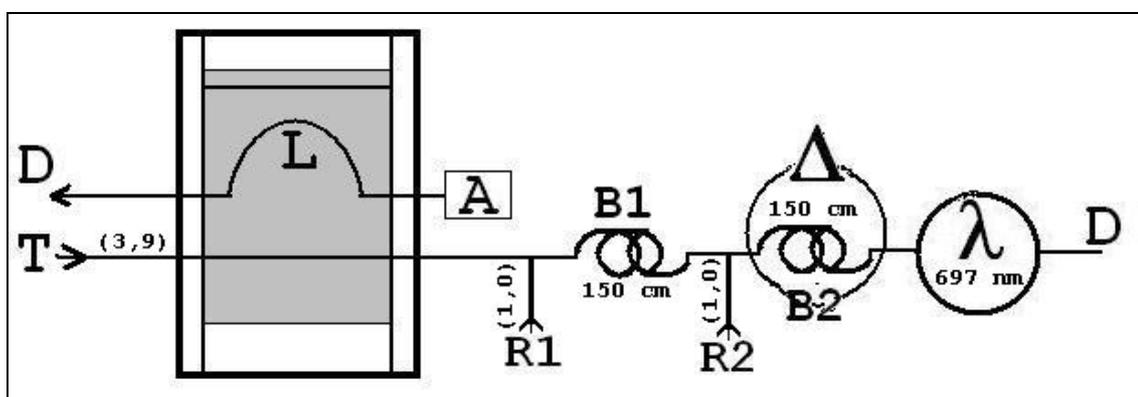


Figura B1: Diagrama do sistema em fluxo utilizado na análise de amônio. D = descarte; T = transportador; L = Loop (alça de amostragem); A = Amostra/ padrão; R1, R2 = Reagentes; B1, B2 = Bobinas de reação, Δ = Aquecimento e λ = Espectrofotômetro a 697 nm.

Para verificar se o sistema responde linearmente com o analito, fez-se uma curva analítica com adição de padrão. A solução 10 mg L^{-1} de NH_4^+ foi utilizada para fornecer concentrações finais de 1, 2, 3 e 4 mg L^{-1} do analito. Realizou-se tal procedimento com cinco amostras diferentes. A figura b2 mostra um dos resultados obtidos.

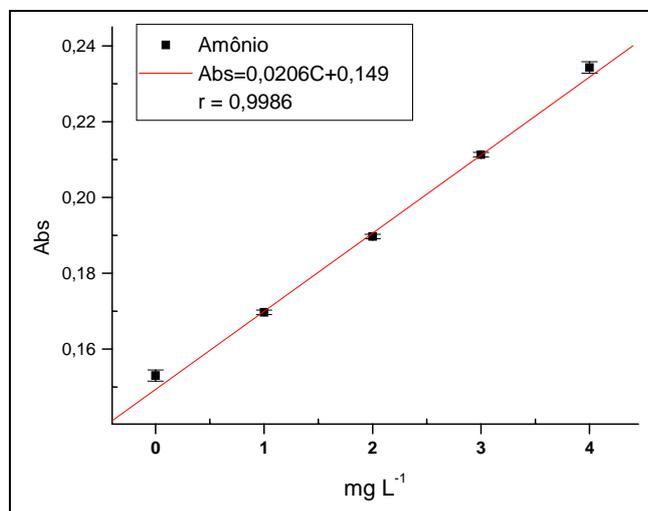


Figura B2: Curva analítica obtida para adição de padrão na determinação de NH_4^+ em vinhos.

Posteriormente, construiu-se uma curva analítica na faixa de $0,50$ a $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ em amônio, adquirindo-se as absorbâncias médias ($n = 6$). Obteve-se $\text{CV} < 5,0\%$ na faixa de trabalho, $R^2 = 0,9985$, frequência analítica de 60 determinações por hora e limite de detecção (tomado como três vezes o desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da reta) $= 0,27 \text{ mg L}^{-1}$. O desvio padrão do branco foi tomado como uma média de 8 injeções de água destilada.

Com a curva analítica construída, fez-se a leitura de 12 amostras de vinhos, 8 tintos e 4 brancos, com e sem adição de padrão de amônio, verificando a taxa de recuperação. As concentrações deste padrão adicionado variaram de acordo com a concentração obtida para a amostra sem adição, para não serem superiores as concentrações obtidas, bem como para manter-se dentro da curva de calibração. A tabela B1 indica os resultados obtidos, onde as quatro primeiras amostras são de vinhos brancos.

Tabela B1: Concentração de amônio nas amostras de vinhos determinados pelo método proposto, pela adição padrão, concentração de padrão adicionada e a taxa de recuperação.

Amostra	Método proposto (mg L ⁻¹)	Adição padrão (mg L ⁻¹)	Padrão adicionado (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
1	1,5	3,8	2,0	112,3
2	5,2	7,2	2,0	102,0
3	5,3	7,6	2,0	113,5
4	nd	1,9	2,0	95,0
5	8,4	13,8	5,0	107,7
6	12,1	16,7	5,0	92,5
7	9,1	14,1	5,0	99,1
8	16,0	17,8	2,0	92,0
9	11,6	16,3	5,0	93,2
10	6,8	11,4	5,0	92,8
11	8,1	12,8	5,0	94,5
12	7,3	12,4	5,0	102,8

nd = Não detectado, abaixo do limite de detecção do método.

Verifica-se que a taxa de recuperação variou entre 92,0 e 113,5 %, mostrando boa recuperação do analito e que, portanto, a coloração, além de outros constituintes do vinho, não interferem na análise realizada. Desta forma, há a possibilidade de utilização da mesma na análise direta de amônio em vinhos.

6.3 Apêndice C

Resultados obtidos pelas análises físico-químicas nos vinhos.

Tabela C1: Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, com n replicatas) de pH, acidez (Att), densidade (Den), teor alcoólico (EtOH) e extrato seco (Ext) para os vinhos tintos e brancos experimentais elaborados no VSMSF.

Amostra	pH	Att (meq L⁻¹)	Den (g mL⁻¹)	EtOH (% v/v)	Ext (g L⁻¹)
n	3	3	2	2	2
EB1	3,19 ± 0,04	66 ± 3	0,99456 ± 0,00002	14,5 ± 0,2	24,61 ± 0,02
EB2	3,39 ± 0,04	69 ± 3	0,98968 ± 0,00002	13,6 ± 0,2	16,72 ± 0,02
EB3	4,50 ± 0,04	38 ± 3	0,99077 ± 0,00002	12,8 ± 0,3	16,77 ± 0,02
EB4	4,55 ± 0,04	43 ± 2	0,99071 ± 0,00002	11,6 ± 0,3	17,52 ± 0,02
EB5	3,37 ± 0,04	79 ± 4	0,98945 ± 0,00002	10,4 ± 0,5	13,16 ± 0,01
EB6	4,06 ± 0,04	41 ± 3	0,98704 ± 0,00002	13 ± 1	10,33 ± 0,01
EB7	3,26 ± 0,04	78 ± 4	0,99025 ± 0,00002	10,8 ± 0,1	11,99 ± 0,01
EB8	3,75 ± 0,04	46 ± 3	0,98748 ± 0,00002	11,4 ± 0,1	8,28 ± 0,01
EB9	3,44 ± 0,04	70 ± 2	0,99054 ± 0,00002	11,1 ± 0,3	12,70 ± 0,02
EB10	3,77 ± 0,04	44 ± 2	0,98956 ± 0,00002	11 ± 1	9,46 ± 0,01
ET1	3,45 ± 0,04	55 ± 3	0,99259 ± 0,00002	13,3 ± 0,1	17,96 ± 0,02
ET2	4,31 ± 0,04	99 ± 4	0,99623 ± 0,00002	13,9 ± 0,1	29,98 ± 0,03
ET3	4,17 ± 0,04	68 ± 3	0,99488 ± 0,00002	14,6 ± 0,6	29,19 ± 0,03
ET4	4,23 ± 0,04	89 ± 4	0,99812 ± 0,00002	14,3 ± 0,2	37,53 ± 0,04
ET5	3,39 ± 0,04	102 ± 4	0,99537 ± 0,00002	9,0 ± 0,3	18,96 ± 0,02
ET6	3,80 ± 0,04	96 ± 4	0,99642 ± 0,00002	8,7 ± 0,1	19,34 ± 0,02
ET7	4,16 ± 0,04	59 ± 3	0,99418 ± 0,00002	10,4 ± 0,2	22,31 ± 0,03
ET8	4,25 ± 0,04	63 ± 3	0,99342 ± 0,00002	16,0 ± 0,6	21,20 ± 0,03
ET9	3,67 ± 0,04	81 ± 4	0,99141 ± 0,00002	11,2 ± 0,4	19,23 ± 0,02
ET10	3,73 ± 0,04	71 ± 3	0,98954 ± 0,00002	10,9 ± 0,2	17,08 ± 0,02
ET11	3,79 ± 0,04	85 ± 4	0,99148 ± 0,00002	12,0 ± 0,6	19,28 ± 0,02
ET12	3,88 ± 0,04	63 ± 3	0,98998 ± 0,00002	12,5 ± 0,2	15,68 ± 0,02
ET13	4,02 ± 0,04	81 ± 4	0,99416 ± 0,00002	12,5 ± 0,4	20,17 ± 0,03
ET14	3,94 ± 0,04	59 ± 3	0,99328 ± 0,00002	10,8 ± 0,1	19,01 ± 0,02
ET15	4,13 ± 0,04	58 ± 3	0,99256 ± 0,00002	14,0 ± 0,2	19,86 ± 0,03

Tabela C2: Valores e respectivos limites de confiança (a 95%) para pH, acidez (Att), densidade (Den), teor alcoólico (EtOH) e extrato seco (Ext) para os vinhos tintos comerciais elaborados no VSMSF.

Amostra	pH	Att (meq L⁻¹)	Den (g mL⁻¹)	EtOH (% v/v)	Ext (g L⁻¹)
n	3	3	2	2	2
VSF1	3,94 ± 0,04	55 ± 2	0,99683 ± 0,00002	9,9 ± 0,2	26,84 ± 0,02
VSF2	3,97 ± 0,04	69 ± 3	0,99644 ± 0,00002	9,4 ± 0,2	26,83 ± 0,02
VSF3	3,88 ± 0,04	45 ± 1	0,99657 ± 0,00002	10,9 ± 0,2	26,52 ± 0,02
VSF4	3,88 ± 0,04	66 ± 3	0,99524 ± 0,00002	11,7 ± 0,7	22,43 ± 0,01
VSF5	3,88 ± 0,04	79 ± 2	0,99528 ± 0,00002	11,5 ± 0,4	22,16 ± 0,01
VSF6	3,79 ± 0,04	85 ± 4	0,99604 ± 0,00002	12,3 ± 0,4	22,55 ± 0,02
VSF7	3,69 ± 0,04	74 ± 3	0,99468 ± 0,00002	12,1 ± 0,2	20,92 ± 0,02
VSF8	3,67 ± 0,04	76 ± 3	0,99498 ± 0,00002	10,8 ± 0,2	20,74 ± 0,02
VSF9	3,69 ± 0,04	87 ± 2	0,99622 ± 0,00002	14,4 ± 0,6	19,64 ± 0,01
VSF10	3,82 ± 0,04	72 ± 3	0,99520 ± 0,00002	10,8 ± 0,2	24,80 ± 0,02
VSF11	3,82 ± 0,04	61 ± 2	0,99570 ± 0,00002	10,9 ± 0,2	25,08 ± 0,02
VSF12	3,73 ± 0,04	66 ± 3	0,99412 ± 0,00002	11,4 ± 0,2	20,91 ± 0,01
VSF13	3,47 ± 0,04	78 ± 3	0,99637 ± 0,00002	11,8 ± 0,5	23,39 ± 0,02
VSF14	3,46 ± 0,04	76 ± 3	0,99718 ± 0,00002	10 ± 1	22,42 ± 0,02
VSF15	3,86 ± 0,04	76 ± 2	0,99645 ± 0,00002	10,3 ± 0,5	23,62 ± 0,01
VSF16	3,83 ± 0,04	85 ± 4	0,99717 ± 0,00002	12,5 ± 0,2	23,40 ± 0,02
VSF17	3,75 ± 0,04	74 ± 2	0,99430 ± 0,00002	11,2 ± 0,2	21,77 ± 0,02
VSF18	3,74 ± 0,04	75 ± 3	0,99434 ± 0,00002	13,0 ± 0,2	21,49 ± 0,02
VSF19	3,75 ± 0,04	76 ± 3	0,99454 ± 0,00002	12,3 ± 0,6	21,77 ± 0,02
VSF20	3,79 ± 0,04	86 ± 4	0,99550 ± 0,00002	11,8 ± 0,5	23,75 ± 0,02
VSF21	3,59 ± 0,04	56 ± 3	0,99553 ± 0,00002	10,7 ± 0,4	23,36 ± 0,01
VSF22	3,60 ± 0,04	51 ± 2	0,99436 ± 0,00002	13,3 ± 0,2	20,76 ± 0,01
VSF23	3,67 ± 0,04	84 ± 4	0,99573 ± 0,00002	11,4 ± 0,4	21,60 ± 0,03
VSF24	3,83 ± 0,04	88 ± 2	0,99562 ± 0,00002	9,8 ± 0,4	22,26 ± 0,02
VSF25	3,81 ± 0,04	84 ± 4	0,99528 ± 0,00002	11,9 ± 0,2	22,57 ± 0,02
VSF26	3,63 ± 0,04	88 ± 3	0,99605 ± 0,00002	10,6 ± 0,2	24,24 ± 0,02
VSF27	3,58 ± 0,04	84 ± 4	0,99606 ± 0,00002	10,2 ± 0,2	23,47 ± 0,02
VSF28	3,50 ± 0,04	80 ± 2	0,99441 ± 0,00002	9,8 ± 0,4	20,46 ± 0,01
VSF29	3,79 ± 0,04	119 ± 4	0,99471 ± 0,00002	12,2 ± 0,5	23,99 ± 0,03

Tabela C3: Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, com n replicatas) para pH, acidez (Att), densidade (Den), teor alcoólico (EtOH) e extrato seco (Ext) para os vinhos tintos comerciais elaborados no Rio Grande do Sul.

Amostra	pH	Att (meq L⁻¹)	Den (g mL⁻¹)	EtOH (% v/v)	Ext (g L⁻¹)
n	3	3	2	2	2
RS1	3,65 ± 0,04	86 ± 4	0,99506 ± 0,00002	12,1 ± 0,9	26,74 ± 0,03
RS2	3,65 ± 0,04	90 ± 4	0,99559 ± 0,00002	13,6 ± 0,4	27,92 ± 0,03
RS3	3,55 ± 0,04	79 ± 4	0,99461 ± 0,00002	11,3 ± 0,2	19,99 ± 0,03
RS4	3,56 ± 0,04	87 ± 4	0,99584 ± 0,00002	12,0 ± 0,4	21,05 ± 0,03
RS5	3,45 ± 0,04	101 ± 4	0,99256 ± 0,00002	11,2 ± 0,3	18,66 ± 0,02
RS6	3,59 ± 0,04	85 ± 4	0,99397 ± 0,00002	12,8 ± 0,4	22,64 ± 0,03
RS7	3,48 ± 0,04	76 ± 4	0,99574 ± 0,00002	13,9 ± 0,9	23,05 ± 0,03
RS8	3,48 ± 0,04	79 ± 4	0,99568 ± 0,00002	12,9 ± 0,6	22,64 ± 0,03

Tabela C4: Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, em quintuplicata) para fósforo (PO₄³⁻), amônio (NH₄⁺), sódio (Na⁺) e potássio (K⁺) para os vinhos tintos comerciais elaborados no Rio Grande do Sul.

Amostra	PO₄³⁻ (mg L⁻¹)	NH₄⁺ (mg L⁻¹)	Na⁺ (mg L⁻¹)	K⁺ (g L⁻¹)
RS1	157 ± 3	13,12 ± 0,03	25,4 ± 0,2	0,84 ± 0,01
RS2	164,8 ± 0,3	13,23 ± 0,06	25,96 ± 0,02	0,824 ± 0,006
RS3	123 ± 1	9,6 ± 0,1	14,7 ± 0,1	0,755 ± 0,005
RS4	132,3 ± 0,2	9,4 ± 0,1	15,8 ± 0,1	0,868 ± 0,007
RS5	142,3 ± 0,9	9,0 ± 0,1	14,39 ± 0,01	0,602 ± 0,007
RS6	124,2 ± 0,4	9,4 ± 0,1	14,39 ± 0,01	0,637 ± 0,004
RS7	124,2 ± 0,4	7,64 ± 0,03	12,28 ± 0,01	0,489 ± 0,003
RS8	124,2 ± 0,6	7,80 ± 0,07	12,6 ± 0,1	0,526 ± 0,002

Tabela C5: Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, em quintuplicata) para fósforo (PO_4^{3-}), amônio (NH_4^+), sódio (Na^+) e potássio (K^+) para os vinhos tintos e brancos experimentais elaborados no VSMSF.

Amostra	PO_4^{3-} (mg L^{-1})	NH_4^+ (mg L^{-1})	Na^+ (mg L^{-1})	K^+ (g L^{-1})
EB1	70,4 ± 0,2	nd	15,9 ± 0,2	0,437 ± 0,007
EB2	105,7 ± 0,3	5,31 ± 0,06	29,93 ± 0,02	0,498 ± 0,001
EB3	180 ± 2	3,37 ± 0,09	25,96 ± 0,02	1,42 ± 0,01
EB4	176 ± 1	4,6 ± 0,1	31,23 ± 0,02	1,40 ± 0,01
EB5	52,6 ± 0,1	nd	41,1 ± 0,2	0,638 ± 0,005
EB6	64,2 ± 0,4	nd	38,6 ± 0,4	0,603 ± 0,008
EB7	38,1 ± 0,1	nd	33,3 ± 0,2	0,620 ± 0,005
EB8	73,4 ± 0,7	nd	38,6 ± 0,4	0,647 ± 0,005
EB9	59,9 ± 0,4	nd	43,5 ± 0,3	0,777 ± 0,006
EB10	57,0 ± 0,2	nd	44,5 ± 0,5	0,716 ± 0,006
ET1	92,4 ± 0,3	19,3 ± 0,3	14,47 ± 0,04	0,677 ± 0,001
ET2	343 ± 2	49,5 ± 0,2	18,41 ± 0,04	1,966 ± 0,009
ET3	202,8 ± 0,6	11,3 ± 0,2	21,0 ± 0,4	1,80 ± 0,02
ET4	363 ± 2	29,0 ± 0,3	20,39 ± 0,04	2,10 ± 0,04
ET5	99,6 ± 0,3	32,4 ± 0,1	14,47 ± 0,04	0,840 ± 0,004
ET6	178 ± 2	43,5 ± 0,1	8,14 ± 0,03	1,34 ± 0,05
ET7	139,7 ± 0,8	8,70 ± 0,08	15,8 ± 0,5	1,61 ± 0,02
ET8	155,0 ± 0,6	9,3 ± 0,1	15,8 ± 0,5	1,77 ± 0,02
ET9	107,8 ± 0,7	14,3 ± 0,1	20,39 ± 0,04	1,14 ± 0,01
ET10	98,1 ± 0,2	10,2 ± 0,6	15,8 ± 0,2	0,805 ± 0,008
ET11	79,1 ± 0,1	9,0 ± 0,1	17,76 ± 0,04	1,00 ± 0,01
ET12	82,8 ± 0,2	10,6 ± 0,4	16,44 ± 0,04	1,082 ± 0,002
ET13	96,0 ± 0,2	10,75 ± 0,06	14,47 ± 0,04	1,34 ± 0,01
ET14	90,4 ± 0,3	10,08 ± 0,09	13,33 ± 0,01	1,287 ± 0,009
ET15	89,4 ± 0,6	10,59 ± 0,04	13,33 ± 0,01	1,430 ± 0,004

nd = não detectado. Abaixo do limite de detecção do método.

Tabela C6: Valores e respectivos limites de confiança (a 95%, em quintuplicata) para fósforo (PO_4^{3-}), amônio (NH_4^+), sódio (Na^+) e potássio (K^+) para os vinhos tintos comerciais elaborados no VSMSF.

Amostra	PO_4^{3-} (mg L⁻¹)	NH_4^+ (mg L⁻¹)	Na^+ (mg L⁻¹)	K^+ (g L⁻¹)
VSF1	264 ± 3	31,5 ± 0,3	28 ± 2	3,1 ± 0,1
VSF2	256 ± 1	29,2 ± 0,7	28 ± 2	3,0 ± 0,1
VSF3	260 ± 7	27 ± 1	23 ± 1	3,6 ± 0,1
VSF4	253 ± 1	25,3 ± 0,6	26,2 ± 0,7	2,9 ± 0,2
VSF5	279 ± 1	27,5 ± 0,5	28,9 ± 0,8	2,5 ± 0,1
VSF6	264 ± 3	22,0 ± 0,9	32,6 ± 0,4	2,59 ± 0,01
VSF7	260,3 ± 0,8	18,5 ± 0,4	36,3 ± 0,4	2,07 ± 0,01
VSF8	260 ± 1	17,0 ± 0,3	20 ± 2	2,07 ± 0,01
VSF9	272 ± 1	20,0 ± 0,2	41 ± 1	2,30 ± 0,09
VSF10	257 ± 3	34,5 ± 0,5	25 ± 1	2,6 ± 0,1
VSF11	264 ± 5	36,3 ± 0,6	25 ± 1	2,6 ± 0,1
VSF12	266 ± 1	20,0 ± 0,2	31,0 ± 0,9	2,30 ± 0,09
VSF13	303 ± 3	17,7 ± 0,3	19,4 ± 0,4	1,43 ± 0,01
VSF14	302 ± 3	20,1 ± 0,2	31 ± 2	1,77 ± 0,01
VSF15	306,1 ± 0,7	30,1 ± 0,3	29,4 ± 0,8	2,7 ± 0,2
VSF16	317 ± 2	25,8 ± 0,4	32 ± 1	2,22 ± 0,01
VSF17	232,6 ± 0,9	49,2 ± 0,1	62 ± 5	1,92 ± 0,01
VSF18	225 ± 1	39,4 ± 0,2	85,2 ± 0,4	1,77 ± 0,01
VSF19	230 ± 0,2	47,2 ± 0,5	58 ± 2	1,70 ± 0,07
VSF20	238 ± 1	47,9 ± 0,4	77 ± 4	1,84 ± 0,01
VSF21	202,5 ± 0,3	34,5 ± 0,2	31,0 ± 0,9	1,97 ± 0,08
VSF22	180,8 ± 0,8	36,7 ± 0,1	32 ± 2	1,97 ± 0,08
VSF23	178,2 ± 0,5	30,4 ± 0,4	43 ± 1	1,65 ± 0,01
VSF24	231 ± 2	29,0 ± 0,2	102 ± 5	3,2 ± 0,1
VSF25	242 ± 2	19,3 ± 0,1	73,0 ± 0,4	1,80 ± 0,01
VSF26	244 ± 1	32,6 ± 0,2	72 ± 2	2,7 ± 0,1
VSF27	239 ± 1	28,3 ± 0,3	89 ± 1	1,77 ± 0,01
VSF28	204,2 ± 0,9	20,6 ± 0,3	72 ± 3	2,14 ± 0,09
VSF29	232,3 ± 0,9	18,0 ± 0,2	80 ± 1	1,63 ± 0,01

6.4 Referências

- [1] Convite ao vinho: história, degustação e pequeno guia de vinhos; **PERCUSSI, Luciano**. Editora Nova Alexandria, São Paulo – SP. 1998.
- [2] Vinhos do Brasil e do mundo, para conhecer e beber; **AMARANTE, José O. Albano do**. Summus editorial LTDA, 6ª edição. São Paulo – SP. 1983.
- [3] Conheça o mundo do vinho e do queijo; **CASSONE, Luigi**. Editora Gaia, São Paulo – SP. 1995.
- [4] <http://www.academiadovinho.com.br/biblioteca/historia.htm>. Acessada em 19/05/2008.
- [5] UVIBRA – União Brasileira de Vitivinicultura, disponível em: http://www.uvibra.com.br/dados_estatisticos.htm. Acessada em 13/05/2008.
- [6] Embrapa Uva e Vinho, disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama2007_vitivinicola_mundial.pdf. Acessada em 13/05/2008.
- [7] Embrapa Uva e Vinho, disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama2006_vitivinicultura.pdf. Acessada em 13/05/2008.
- [8] União Brasileira de Vitivinicultura. Disponível em: http://www.uvibra.com.br/pdf/import_vinhos_espumantes_2002_fev2008.pdf Acessada em 13/05/2008.
- [9] Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br/servicos/vitivinicultura/producao/1995_1999.html. Acessada em 14/05/2008.
- [10] Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba – CODEVASF. Disponível em: <http://www.codevasf.gov.br/osvales>. Acessada em 14/05/2008.
- [11] Companhia Hidro Elétrica do São Francisco – CHESF. Disponível em: http://www.chesf.gov.br/riosaofrancisco_historia.shtml. Acessada em 14/05/2008.
- [12] www.valedosaofrancisco.com.br. Acessada em 14/05/2008.
- [13] TEIXEIRA, A. H. de C.; DE SOUZA, R. A.; RIBEIRO, P. H. B.; REIS, V. C. da S.; DOS SANTOS, M. das G. L.; Aptidão agroclimática da cultura da videira no estado da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 2002. 6, 107.
- [14] FEITOSA, C. A. M; Efeitos do CPPU e GA₃ no cultivo da uva ‘Itália’ na região do Submédio São Francisco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2002. 24, 348.

- [15] Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama2007_vitivinicultura.pdf. Acessada em 14/05/2008.
- [16] Arte & Vinho; **Miranda, Fernando**; Axcel Books do Brasil Editora LTDA.; Rio de Janeiro – RJ. 2001.
- [17] www.botticelli.com.br. Acessada em 19/05/2008.
- [18] www.vinibrasil.com.br. Acessada em 19/05/2008.
- [19] www.miolo.com.br. Acessada em 19/05/2008.
- [20] www.vinhogarziera.com.br. Acessada em 19/05/2008.
- [21] www.sitedovinhobrasileiro.com.br. Acessada em 19/05/2008.
- [22] Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido – CPATSA, EMBRAPA SEMI-ÁRDO. Disponível em: <http://www.cpatosa.embrapa.br>. Acessada em 13/05/2008.
- [23] Brasil, lei nº 7.678, de 08 de Novembro de 1988. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/1980-1988/L7678.htm. Acessada em 14/05/2008.
- [24] Brasil, Lei nº 10970, de 12 de novembro de 2004. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2004/Lei/L10.970.htm. Acessada em 14/05/2008.
- [25] Iniciação à enologia; **PACHECO, Aristides de Oliveira**. Editora SENAC, São Paulo–SP. 1995.
- [26] Biochemistry; **LEHNINGER, Albert L.**; Worth Publishers INC. 2th edition, New York–NY. 1975.
- [27] Biochemistry; **VOET, Donald and VOET, Judith G.**; John Wiley & Sons, INC. 2th edition, New York–NY. 1995.
- [28] GÓMEZ-PLAZA, E., GIL-MUNOZ, R. LÓPEZ-ROCA, J. M., MARTÍNEZ-CUTILLAS, A. e FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. L.; Maintenance of colour composition of a red wine during storage. Influence of prefermentative practices, maceration time and storage. *Lebensmittel-Wissenschaft und-technologie*. 2002, 35. 46.
- [29] BOULTON, R.; The Copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review; *American Journal of Enology and Viticulture*. 2001, 52. 67.
- [30] QUEIROZ, C. R. A. A.; de MORAIS, S. A. L. e do NASCIMENTO, E. A.; Caracterização dos taninos da aroeira-preta; *Revista Árvore*. 2002. 26, 485.
- [31] MALACRIDA, C. R. e da MOTTA, S.; Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2005. 25, 659.

- [32] CSOMÓS, E.; HÉBERGER, K. and SIMON-SARKADI, L.. Principal Components Analysis of Biogenic Amines and Polyphenols in Hungarian Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50, 3768.
- [33] COSTIN, J. W.; BARNETT, N. W.; LEWIS, S. W.; MCGILLIVERY, D. J.; Monitoring the total phenolic/antioxidant levels in wine using flow injection analysis with acidic potassium permanganate chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 499, 47.
- [34] Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 270, de 17 de Novembro de 1988. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2938>. Acessada em 20/05/2008.
- [35] 101 dicas essenciais: Vinho; **STEVENSON, Tom**. Editora Ediouro, 4ª edição, Rio de Janeiro – RJ. 1997.
- [36] NETTO, J. A. *et al.* Exigências hídricas da videira na região do Submédio São Francisco. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2000, 35, 1559.
- [37] RIZZON, L. A. e MIELE, A.; Efeito da safra vitícola na composição da uva, do mosto e do vinho Isabel da Serra Gaúcha, Brasil. *Ciência Rural*. 2006, 36, 959.
- [38] LEÃO, P. C. de S. e PEREIRA, Fernando M.; Avaliação de seis variedades de uvas sem sementes no Submédio São Francisco. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2001. 36, 607.
- [39] LEÃO, P. C. de S.; Comportamento de cultivares de uva sem sementes no Submédio São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2002. 24, 734.
- [40] RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J.; ZANUZ, M. C.; Efeito de três processos de vinificação sobre a composição Química e a qualidade do vinho Carbenet Franc. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 1999, 34, 1285.
- [41] Brasil, PORTARIA 229, de 25/10/1988. Disponível em: http://www.uvibra.com.br/legislacao_portaria229.htm. Acessada em 20/05/2008.
- [42] MATHERS, A. P., BECK, J.E. and SCHOENEMAN, R. L.; Polarographic determination of tartrates in wines. *Analytical Chemistry*, 1951, 23. 1767.
- [43] BANICK, W. M. And SMITH, G. F.; The Insitu determination of iron and copper in wine. *Analytica Chimica Acta*, 1957. 16, 464.
- [44] MARTIN, G. E., SULLO, J. e SCHOENEMAN, R. L.; Determination of fixed Acids in Commercial Wines by Gas-Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1971, 19, 995.
- [45] KITCHIN, R. W., WILLIS, R. E. and COOK, R. L.; Detection of methanol in wines by microwave spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 1981. 53, 1190.

- [46] CABAROGLU, T.; Methanol contents of Turkish varietal wines and effect of processing. *Food Control*. 2005, 16, 177.
- [47] FANG, Y. e QIAN, M. C.; Sensitive quantification of sulfur compounds in wine by headspace solid-phase microextraction technique; *Journal of Chromatography A*. 2005, 1080, 177.
- [48] MCLEOD, S. E DAVEY, D. E.; Rapid microstill determination of free and total sulfite in wine with conductimetric detection. *Analytica Chimica Acta*. 2007, 600, 72.
- [49] DÍAZ, C.; CONDEA, J. E.; CLAVERIE, C.; DÍAZ, E.; TRUJILLO, J. P. P.; Conventional enological parameters of bottled wines from the Canary Island (Spain); *Journal of Food Composition and Analysis*, 2003. 16, 49.
- [50] HERNÁNDEZ, G. G.; de LA TORRE, A. H. e LEÓN, J. J. A.; Boron, sulphate, chloride and phosphate contents in musts and wines of the Tacoronte-Acentejo D.O.C. region (Canary Islands). *Food Chemistry*. 1997, 60, 339.
- [51] HUERTA, M. D.; SALINAS, M. R.; MASOUD, T.; ALONSO, G. L.; Wine differentiation according to color using conventional parameters and volatile components. *Journal of Food Composition and Analysis*. 1998, 11, 363.
- [52] RIZZON, L. A. e MIELE, A.; Acidez na vinificação em tinto das uvas *Isabel*, *Cabernet Sauvignon* e *Cabernet Franc*. *Ciência Rural*. 2002, 32, 511.
- [53] RIZZON, L. A., ZANUZ, M. C. e MIELE, A.; Evolução da acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícolas do Rio Grande do Sul. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 1998, 18, 179.
- [54] SILVA, T. G.; REGINA, M. de A.; ROSIER, J. P.; RIZZON, L. A.; CHALFUN, N. N. J.; Diagnóstico vinícola do sul de Minas Gerais I: Caracterização Físico-Química dos vinhos; *Ciência Agrotec*. 1999. 23, 632.
- [55] ANJOS, M. J.; BARROSO, R. C.; LOPES, R. T.; DE JESUS, E. F. O.; SIMABUCO, S. M.; CASTRO, C. R. F.; EDXRF analysis of red and white wines from Brazil. *X-Ray Spectrometric*. 2004, 33, 407.
- [56] SILVA, K.R.B. *et al.* Optical Sensor for sulfur dioxide determination in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54, 8697.
- [57] PAIXÃO, T. R. L. C., CORBO, D. e BERTOTTI, M.; Amperometric determination of ethanol in beverages at copper electrodes in alkaline medium. *Analytica Chimica Acta*. 2002, 472, 123.
- [58] Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – OIV. Recueil des Methodes Internationales D'Analyse des Vins et des Moûts. Vol.1. Paris, 2005.

[59] Association of Official Analytical Chemists – AOAC. Official Methods of Analysis, 15th edition, 1990.

[60] RIZZON, L. A., MIELE, A. e MENEGUZZO, J. ; Efeito da relação das fases líquida e sólida da uva na composição química e na característica sensorial do vinho Cabernet. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 1999, 19, 424.

[61] MANFRÓI, L.; MIELE, A.; RIZZON, L. A.; BARRADAS, C. I. N.; Composição Físico-Química do vinho Cabernet Franc proveniente de videiras conduzidas no sistema lira aberta. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2006, 26, 290.

[62] GÓMEZ-PLAZA, E; GIL-MUÑOZ.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; MARTÍNEZ, A.; Color and phenolic compounds of a young red wine as discriminanting variables of its ageing status. *Food Research International*. 1999. 32, 503.

[63] SALTON, M. A., DAUDT, C. E. e RIZZON, L. A.; Influência do dióxido de enxofre e cultivares de videira na formação de alguns compostos voláteis e na qualidade sensorial do destilado de vinho. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2000, 20, 302.

[64] GONZÁLEZ-MARCO, A., JIMÉNEZ-MORENO, N. e ANCÍN-AZPILICUETA, C.; Concentração of volatile compounds in Chardonnay wine fermented in stainless steel tanks and oak barrels. *Food Chemistry*. 2008, 108, 213.

[65] SILVA, T. G.; REGINA, M. de A.; ROSIER, J. P.; RIZZON, L. A.; CHALFUN, N. N. J.; Diagnóstico vinícola do sul de Minas Gerais II: Teores de minerais dos vinhos. *Ciência Agrotec*. 1999, 23, 638.

[66] ALMEIDA, C. M. R. e VASCONCELOS, M. T. S. D.; Multielement composition of wines and their precursors including provenance soil and their potentialities as fingerprints of wine origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, 4788.

[67] SIVERTSEN, H. K.; HOLEN, B.; NICOLAYSEN, F.; RISVIK, E.; Classification of French red wines according to their geographical origin by the use of multivariate analyses; *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79, 107.

[68] MIELE, A. e RIZZON, L. A.; Efeito de elevadas produtividades do vinhedo nas características físico-químicas e sensoriais do vinho Merlot. *Ciência Rural*. 2006, 36, 271.

[69] DARÍAS-MARTÍN, J.; SOCAS-HERNÁNDEZ, A.; DÍAZ-ROMERO, C.; DÍAZ-DÍAZ, E.; Comparative study of methods for determination of titrable acidity in wines. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2003, 16, 555.

[70] GUERRA, C. C., DAUDT, C. E. e RIZZON, L. A.; Evolução dos teores dos ácidos tartárico e málico durante a maturação de uvas tintas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 1992, 27, 479.

- [71] RIZZON, L. A. e MIELE, A.; Concentração de ácido tartárico dos vinhos da Serra Gaúcha. *Ciência Rural*. 2001, 31, 893.
- [72] LANGE'S Handbook of Chemistry. McGraw-Hill, 13th, 1985.
- [73] RIZZON, L. A. e MIELE, A.; Extrato seco total de vinhos brasileiros: comparação de métodos analíticos. *Ciência Rural*. 1996, 26, 297.
- [74] WALKER, T.; MORRIS, J.; THRELFALL, R.; MAIN, GARY; Analysis of wine components in Cynthiana and Syrah wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, 1543.
- [75] BORGES, S. S., FRIZZARIN, R. M. e REIS, B. F.; An automatic flow injection analysis procedure for photometric determination of ethanol in red wine without using a chromogenic reagent. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006, 385, 197.
- [76] AMARAL, F. M. e CARO, M. S. B.; Investigation of different pre-concentration methods for NMR analyses of Brazilian white wine. *Food Chemistry*. 2005, 93, 507.
- [77] RIZZON, L. A. e SALVADOR, M. B. G.; Teores de cátions dos vinhos da microregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311)., *Comunicado Técnico, CNPUV-Embrapa*. 1987, 4, 1.
- [78] KMENT, P.; MIHALJEVIC, M.; ETTLER, V.; SEBEK, O.; STRNAD; L.; ROHLOVÁ, L.; Differentiation of Czech wines using multielement composition – A comparison with vineyard soil. *Food Chemistry*. 2005, 91, 157.
- [79] SPERKOVÁ, J. e SUCHÁNEK, M.; Multivariate classification of wines from different Bohemian regions (Czech Republic). *Food Chemistry*. 2005, 93, 659.
- [80] KWAN, W., KOWALSKI, B. R. e SKOGERBOE, R. K.; Pattern recognition analysis of elemental data. Wines of *Vitis vinifera* cv. Pinot Noir from France and the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1979, 27, 1321.
- [81] Quantum Chemistry. **LEVINE, Ira N.**; Prentice-Hall do Brasil, Rio de Janeiro. 4th edition, 1991.
- [82] Applied Atomic Spectroscopy. Vol. 2. **GROVE, E. L.**; Prentice-Hall, New York, 1978.
- [83] Flame Photometry. **DEAN, John A.**; McGraw-Hill. New York. 1960.
- [84] Princípios de Análise Instrumental. **SKOOG, D.A., HOLLER, E. J. e NIEMAN, T. A.**; Bookman. Porto Alegre, 2002.
- [85] Análise Química Quantitativa. **HARRIS, D. C.** LTC, Rio de Janeiro, 2005.
- [86] Análise Química Quantitativa. **VOGEL, A. I.**; Editora LTC, Rio de Janeiro – RJ. 6^a edição, 2002.

- [87] FOGAÇA, A. de O., DAUDT, C. E. e DORNELES, F.; Potássio em uvas II – Análise peciolar e sua correlação com o teor de potássio em uvas viníferas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2007, 27, 597.
- [88] REIS, B. F.; Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. *Química Nova*. 1996. 19, 51.
- [89] RUZICKA, J. e HANSEN, E. H.; Flow injection analysis. Part 1: A new concept of fast continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta*. 1975. 78, 145.
- [90] VAN DER LINDEN, W. E. Classification and definition of analytical methods based on flowing media. *Pure & Applied Chemistry*. 1994. 66, 2493.
- [91] REIS, B. F., GINÉ, M. F. e KRONKA, E. A. M.; A análise química por injeção em fluxo contínuo. *Química Nova*. 1989. 12, 82.
- [92] REIS, B. F. GINÉ, M. F., ZAGATTO, E. A. G., LIMA, J. L. F. C. e LAPA, R. A.; Multicommutation in flow analysis. Part1. Binary sampling: concepts, instrumentation, and spectrophotometric determination of iron in plant digests. *Analytica Chimica Acta*. 1994. 293, 129.
- [93] LAVORANTE, A. F., FERES, M. A. e REIS, B. F.; Multi-commutation in flow analysis: A versatile tool for the development of the automatic analytical procedure focused on the reduction of reagent consumption. *Spectroscopy Letters*. 2006. 39, 631.
- [94] LAVORANTE, A. F.; REIS, B. F. ; DE LA GUARDIA, M.; TORRALBA, E. R. e RUBIO, A. M.; Micropumping multicommutation turbidimetric analysis of waters. *Talanta*. 2007. 73, 742.
- [95] Flow Injection Analysis: Instrumentation and Applications. **TROJANOWICZ, Marek**. World Scientific. London, 2000.
- [96] COUTO, C. M. C. M. e MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; Detectores potenciométricos para sistema de análise por injeção em fluxo, evolução e aplicação. *Química Nova*. 2000. 23, 774.
- [97] VIEIRA, J. A., REIS, B. F., KRONKA, E. A. M., PAIM, A. P. S. e GINÉ, M. F.; Multicommutation in flow analysis. Part6. Binary sampling for wide concentration range turbidimetric determination of sulphate in plant digest. *Analytica Chimica Acta*. 1998. 366, 251.
- [98] MERVARTOVA, K., POLASEK, M. e CALATAYUD, J. M.; Recent applications of flow-injection and sequential-injection analysis techniques to chemiluminescence determination of pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007. 45, 367.

[99] TRAVERSI, R. *et al*; Ultra-sensitive flow injection analysis (FIA) determination of calcium in ice cores at ppt level. *Analytica Chimica Acta*. 2007. 594, 219.

[100] CALATAYUD, J. M., ASCENÇÃO, J. G. e ALBERT-GARCÍA, J. R.; FIA-fluorimetric determination of the pesticide 3-indolyl acetic acid. *Journal of Fluorescence*. 2006. 16, 61.

[101] GODOY, M. L. D. P., GODOY, J. M., KOWSMANN, R., DOS SANTOS, G. M. e DA CRUZ, R. P.; U-234 and Th-230 determination by FIA-ICP-MS and application to uranium-series disequilibrium in marine samples. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2006. 88, 109.

[102] LÁZARO, F., CASTRO, M. D. L. e VALCÁRCEL, M.; Individual and simultaneous determination of ethanol and acetaldehyde in wines by flow injection analysis and immobilized enzymes. *Analytical Chemistry*. 1987. 59, 1859.

[103] THEMELIS, D. G. TZANAVARAS, P. D., ANTHEMIDES, A. M. e STRATIS, J. A.; Direct, selective flow injection spectrophotometric determination of calcium in wines using methylthymol blue and an on-line cascade dilution system. *Analytica Chimica Acta*. 1999. 402, 259.

[104] LAPA, R. A. S., LIMA, J. L. F. C. e SANTOS, J. L. M.; Determination of calcium, magnesium, sodium and potassium in wines by FIA using an automatic zone sampling system. *Food Chemistry*. 1996. 55, 397.

[105] Flow Injection Analysis: A practical guide. **KARLBERG, Bo e PACEY, Gil E.**; Elsevier, Amsterdam, 1989.

[106] Nóbrega, J., A. MOZETO, A. A., ALBERICI, R. M. e GUIMARÃES, J. L.; A flow injection spectrophotometric determination of ammonium in natural water. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 1995. 6, 327.

[107] KRONKA, E. A. M. REIS, B. F., KORN, M. e FILHO, H. B.; Multicommutation in flow analysis. Part 5: Binary sampling for sequential spectrophotometric determination of ammonium and phosphate in plant digests. *Analytica Chimica Acta*. 1996. 334, 287.

[108] FERNANDES, R. N. e REIS, B. F.; Flow system exploiting multicommutation to increase sample residence time for improved sensitivity. Simultaneous determination of ammonium and ortho-phosphate in natural water; *Talanta*. 2002. 58, 729.

[109] ESTELA, J. M. e CERDÀ, V.; Flow analysis techniques for phosphorus : an overview. *Talanta*. 2005. 66, 307.

- [110] DUTRA, S. V., DAUDT, C. E. e SOUZA, M.; Aminoácidos livres e uréia durante a fermentação do mosto de Cabernet Sauvignon com diferentes leveduras. *Ciência Tecnologia de Alimentos*. 1999. 19.
- [111] Controle de qualidade dos vinhos. Química Enológica: Métodos analíticos. **CURVELO-GARCIA, A. S.** Instituto da vinha e do vinho. Lisboa. 1988.
- [112] Aplicação da Espectroscopia de Absorção aos Compostos Orgânicos. **DYER, John R.** Edgard Blücher LTDA. São Paulo. 1969.
- [113] Theory and practice of infrared spectroscopy. **ALPERT, M. L., KEISER, W. E. e SZYMANSKI, H. A.;** Plenum Press, New York. 1970.
- [114] Applied Infrared Spectroscopy. **SMITH, A. Lee.;** John Wiley & Sons. New York, 1979.
- [115] Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos. **SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. e KIEMLE, D. J.;** LTC, Rio de Janeiro. 2006.
- [116] Selected Application of Modern FT-IT Techniques. **NISHIKIDA, K., NISHIO, E. e HANNAH, R. W.;** Kodansha, Tokyo. 1995.
- [117] Fundamentos de Física. **HALLIDAY, D., RESNICK, R e WALKER, J.;** LTC, vol 4, 6ª edição, Rio de Janeiro. 2003
- [118] PASQUINI, C.; Near Infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 2003. 14, 198.
- [119] Molecular Spectroscopy. **LEVINE, Ira N.;** Wiley, New York. 1975.
- [120]. KAYE, W.; Near Infrared Spectroscopy. I. Spectral identification and analytical applications. *Spectrochimica Acta*. 1954. 6, 257.
- [121] PIMENTEL, M. F., RIBEIRO, G. M. G. S., DA CRUZ, R. S., STRAGEVITCH, L., FILHO, J. G. A. P. e TEIXEIRA, L. S. G.; Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel using infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Microchemical Journal*. 2006. 82, 201.
- [122] SIQUEIRA, S. H. S., DUTRA, R. C. L. e DINIZ, M. F.; Determinação por espectroscopia nas regiões MIR/NIR do teor de NCO em adesivos poliuretânicos. *Polímeros*. 2008. 18, 57.
- [123] FERRÃO, M. F. CARVALHO, C. W., MULLER, E. I. e DAVANZO, C. U.; Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2004. 24, 333.
- [124] URBANO-CUADRADO, M., LUQUE DE CASTRO, M. D., JUAN, P. M. P. e GÓMEZ-NIETO, M. A.; Comparison and joint use near infrared spectroscopy and Fourier

transform mid infrared spectroscopy for the determination of wine parameters. *Talanta*. 2005. 66, 218.

[125] JENSEN, J. S., EGEBO, M. e MEYER, A. S.; Identification os spectral regions for the quantification of red wine tannins with Fourier transform Mid-Infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. 56, 3493.

[126] PALMA, M. and BARROSO, C. G.; Application os FT-IR spectroscopy to the characterization and classification of wines, brandies and other distilled drinks. *Talanta*. 2002. 58, 265.

[127] URBANO, M., LUQUE DE CASTRO, M. D., PÉREZ, P. M., GARCIA-OLMO, J. e GÓMEZ-NIETO, M. A.; Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods for diferentiation and classification of wine. *Food Chemistry*. 2006. 97, 166.

[128] PEREIRA, G. E. *et al*; H-1-NMR metabolic profiling of wines from three cultivars, three soil types and two contrasting vintages. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 2007. 41, 103.

[129] OGRINC, N. KOSIR, I. J., KOCJANCIC, M. e KIDRIC, J.; Determination of Authenticity, regional origin and vintage of Slovenian wines using a combination of IRMS and SNIF-NMR analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. 49, 1432.

[130] ANJOS, M. J., LOPES, R. T., DE JESUS, E. F. O., MOREIRA, S., BARROSO, R. C. e CASTRO, C. R. F.; Trace elements determination in red and white wines using total-reflection X-ray fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B*. 2003. 58, 2227.

[131] BAKKER, J., PRESTON, N. W. And TIMBERLAKE, C. F.; The Determination of anthocyanins in aging red wines: comparison of HPLC and spectral methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1986. 37, 121.

[132] Brasil, lei nº 9279, de 14 de Maio de 1996. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9279.htm. Acessada em 05/06/2008

[133] TONIETTO, J. e ZANUS, M. C.; Indicações geográficas de vinhos finos do Brasil – Avanços e projetos em desenvolvimento. *Bon Vivant*. 2007. 100, 29. Disponível em: www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos.

[134] TONIETTO, J. e ZANUS, M. C.; Indicações geográficas de vinhos finos do Brasil – Leis e normativas para reconhecimento. *Bon Vivant*. 2007. 100, 28. Disponível em: www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos.

[135] BRUNS, R. E. e FAIGLE, J. F. G.; Quimiometria. *Química Nova*. 1985. 8, 84.

[136] Chemometrics: A practical guide. **BEEBE, K. R., PELL, R. J. And SEASHOLTZ, M. B.**; John Wiley & Sons INC. New York. 1998.

- [137] FERREIRA, M. M. C. ANTUNES, A. M., MELGO, M. S. e VOLPE, P. L. O.; Quimiometria 1: Calibração multivariada, um tutorial. *Química Nova*. 1999. 22, 724.
- [138] Data Analysis for the Chemical Sciences: A Guide to Statistical Techniques. **GRAHAM, R. C.** VCH publishers, Inc.. New York – NY. 1993.
- [139] Chemometrics. **SHARAF, M. A., ILLMAN, D. L. e KOWALSKI, B. R.;** John Wiley & Sons, New York. 1986.
- [140] NETO, J. M. M. e MOITA, G. C.; Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. *Química Nova*. 1998. 21, 467.
- [141] KOWALSKI, B. R. And BENDER, C. F.; Pattern Recognition: A Powerful Approach to Interpreting Chemical Data; *Journal of the American Chemical Society*, 1972. 94, 5632.
- [142] AUF der HEYDE, T. P. E.; Analyzing Chemical Data in More Than Two Dimensions: A Tutorial of Factor and Cluster Analysis. *Journal of Chemical Education*, 1990. 67, 461.
- [143] HARVEY, D. T. And BOWMAN, A.; Factor Analysis of Multicomponent Samples. *Journal of Chemical Education*, 1990. 67, 470.
- [144] ALBERGHINA, G. CARUSO, L. FISICHELLA, S. e MUSUMARRA, G.; Geographical Classification of Sicilian Olive Oils in Terms of Sterols and Fatty Acids Content. *Journal of Science Food and Agricultural*. 1991. 56, 445.
- [145] DINIZ, F. B., BORGES, L. E. P. and NETO, B. B.; A comparative study of pulsed current formation for positive plates of automotive lead acid batteries. *Journal of Power Sources*, 2002. 109, 184.
- [146] MARCHINI, L. C., MORETI, A. C. C. C. e OTSUK, I. P.; Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *Apis. Mellifera* L. no estado de São Paulo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2005. 25, 8.
- [147] HEREDIA, F. J., TRONCOSO, A. M. e GUZMÁN-CHOZAS, M.; Multivariate characterization of aging status in red wines base don chromatic parameters. *Food Chemistry*. 1997. 60, 103.
- [148] NOGUEIRA, J. M. F. and NASCIMENTO, A. M. D.; Analytical Characterization of Madeira Wine. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1999. 47, 566.
- [149] BRENNAN, O. V. e PAGLIARINI, E.; Multivariate Analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. 49, 4841.

[150] ANDRADE, M. F. de, DE SOUZA, D. J. P., PAIM, A. P. S. e DA SILVA, J. B. P.; Análise multivariada de parâmetros físico-químicos em amostras de vinhos tintos comercializados na região metropolitana do Recife. *Química Nova*. 2008. 31, 296.

[151] Multivariate Calibration; **MARTENS, H. e NAES, T.**; John Wiley and Sons. New York, 1994.

[152] PIMENTEL, M. F., NETO, B. B. e ARAÚJO, M. C. U.; Recomendações para calibração em química analítica – Parte 1. Fundamentos e calibração com um componente (calibração univariada). *Química Nova*. 2002. 25, 856.

[153] PIMENTEL, M. F., GALVÃO, R. K. H. e ARAÚJO, M. C. U.; Recomendações para calibração em química analítica – Parte 1. Calibração multianalito. *Química Nova*. 2008. 31, 462.

[154] Como Fazer Experimentos. **NETO, B. B., SCARMINIO, I. S. e BRUNS, R. E.**; Editora Unicamp, 2ª edição. São Paulo. 2003.

[155] GELADI, P. e KOWALSKI, B. R.; Partial Least-Squares regression: A tutorial. *Analytica Chimica Acta*. 1986. 185, 1.

[156] ANDREW, K. N. e WORSFOLD, P. J.; Compararison of multivariate calibration techniques for the quantification of model process streams using diode-array spectrophotometry. *Analyst*. 1994. 119, 1541.

[157] MOLFETTA, F. A. BRUNI, A. T., ROSSELLI, E. P. e DA SILVA, A. B. F.; A partial least squares and principal component regression study of quinone compounds with trypanocidal activity. *Structural Chemistry*. 2007. 18, 49.

[158] BADDINI, A. L. Q., CARDOSO, S. P., HOLLAUER, E. e GOMES, J. A. C. P.; Statistical analysis of a corrosion inhibitor family on three steel surfaces (duplex, super-13 and carbon) in hydrochloric acid solutions. *Electrochimica Acta*. 2007. 53, 434.

[159] FRANK, I. E. e KOWALSKI, B. R.; Prediction of wine quality and geographic origin from chemical measurements by partial least squares regression modeling. *Analytica Chimica Acta*. 1984. 162, 241.

[160] SMYTH, H. E., COZZOLINO, D., CYNKAR, W. U., DAMBERGS, R. G. SEFTON, M. e GISHEN, M.; Near Infrared spectroscopy as a rapid tool to measure volatile aroma compounds in Riesling wine : possibilities and limits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2008. 390, 1911.

[161] SAUVAGE, L., FRANK, D., STEARNE, J. e MILLIKAN, M. B.; Trace metal studies of selected white wines: an alternative approach. *Analytica Chimica Acta*. 2002. 458, 223.

[162] URBANO-CUADRADO, M., LUQUE DE CASTRO, M. D., JUAN, P. M. P., GARCIA-OLMO, J. e GÓMEZ-NIETO, M. A.; Near infrared reflectance spectroscopy and multivariate analysis in enology. Determination or screening of fifteen parameters in different types of wine. *Analytica Chimica Acta*. 2004. 527, 81.

[163] Analyse et contrôle des vins. RIBÉREAU-GAYON, J. e PEYNAUD, E.; Paris et Liège Librairie polytechnique CH. Bêranger. 1951.

[164] RIZZON, L. A. e MIELE, A.; Avaliação da cv. Cabernet Sauvignon para elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2002. 22, 192.

[165] RIZZON, L. A. e MIELE, A., Avaliação da cv. Tannat para elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2004. 24, 223.

[166] MANFROI, V. MIELE, A., RIZZON, L. A., BARRADAS, C. I. N. e MANFRÓI, L.; Efeito de diferentes épocas de desfolha e de colheita na composição do vinho Carbenet Sauvignon; *Ciência Rural*, 1997. 27, 139.

[167] RIZZON, L. A., ZANUZ, M. C. e MIELE, A.; Efeito da fermentação malolática na composição do vinho tinto. *Ciência Rural*. 1997, 27, 497.

[168] RIZZON, L. A. e GATTO, N. M.; Características analíticas dos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) – Análises Clássicas. *Comunicado Técnico, CNPUV*. 1987. 6, 1.

[169] RIZZON, L. A. e MIELE, A.; Avaliação da cv. Merlot para elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2003, 23, 156.

[170] SILVA, T. G., REGINA, M. A., ROSIER, J. P., RIZZON, L. A. e CHALFUN, N. N. J.; Diagnóstico vinícola do sul de Minas Gerais III: Teores de aldeído acético, cloretos, nitrogênio total e metanol dos vinhos. *Ciência e Agrotecnologia*, 2000. 24, 605.

[171] COZZOLINO, D., SMYTH, H. E. e GISHEN, M.; Feasibility study on the use of visible and near infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003. 51, 7703.