Ciência Téc. Vitiv. 18 (2), 65-76. 2003

VALIDAÇÃO E COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISE EM ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÓMICA COM CHAMA PARA DOSEAMENTO DE COBRE E FERRO EM VINHOS E AGUARDENTES

VALIDATION AND COMPARISON OF ANALYTICAL METHODS BY FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY FOR DETERMINATION OF COPPER AND IRON IN WINES AND BRANDIES

Sofia Catarino[1,2], Daniela Pinto[1,3], A.S. Curvelo-Garcia[1]

[1] INIAP. Estação Vitivinícola Nacional. 2565-191 Dois Portos. Portugal. E-mail: inia.evn@oninet.pt
[2] Bolseira do PARIPIPI Projecto A
[3] Estagiária da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

(Manuscrito recebido em 23.10.03 . Aceite para publicação em 21.01.04.)

RESUMO

O conhecimento dos teores de cobre (Cu) e de ferro (Fe) em vinhos e aguardentes assume especial importância pelas implicações na sua estabilidade físico-química. No presente trabalho, para cada um dos elementos referidos, foi validado intralaboratorialmente o método de análise descrito na Norma Portuguesa, com recurso à técnica de espectrofotometria de absorção atómica com chama. A aplicação destes métodos para doseamento de Cu em vinhos e de Fe em aguardentes apresenta algumas dificuldades, dados os baixos teores em que normalmente surgem. Nestes casos, é vulgar o recurso ao método das adições de padrão, cuja precisão foi avaliada, concluindo-se que este é menos preciso que o método que recorre à comparação com uma curva de referência. Apresentam-se ainda os resultados da participação num ensaio interlaboratorial.

Palavras chave: cobre, ferro, vinho, aguardente, métodos de análise, espectrofotometria de absorção atómica com chama.
Key words: copper, iron, wine, brandy, analytical methods, flame atomic absorption spectrometry

INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) e o ferro (Fe) desempenham um papel importante na estabilidade dos vinhos e aguardentes. Quando presentes em quantidades excessivas, e verificando-se determinadas condições de pH, temperatura, arejamento, presença

de taninos e outras, podem produzir turvações e precipitações que alteram o seu aspecto, aroma e gosto.

Cobre

A origem do Cu nos vinhos deve-se essencialmente a tratamentos cúpricos anticriptogâmicos, mas também à própria constituição das uvas (Magalhães et al., 1985). Durante a sua conservação, o seu teor pode aumentar por contacto do vinho com materiais de cobre, latão ou bronze (Ribéreau-Gayon, 1982), bem como, na produção de vinhos licorosos, através da aguardente adicionada (Almeida et al., 1994). Os mostos podem apresentar teores na ordem dos 10 a 20 $mg.dm^{-3}$, precipitando em grande parte no decorrer da fermentação sob a forma de sulfureto, originando vinhos com teores relativamente pequenos, na ordem de 0,1 a 0,2 $mg.dm^{-3}$ (Ribéreau-Gayon, 1982; Curvelo-Garcia, 1988). Essa eliminação é favorecida pela presença de enxofre e nitidamente acelerada quando o pH e o teor de sulfatos são elevados, sendo no entanto essencial a existência de proteínas (Curvelo-Garcia, 1988). Quando em teores normalmente superiores a 1 $mg.dm^{-3}$, na presença de proteínas e em meio redutor, pode estar na origem de uma turvação (casse cúprica) ou da formação um de precipitado, fenómenos acelerados pela presença de luz e de temperatura elevada. Os vinhos tintos, dada a sua pobreza em proteína, não são susceptíveis de sofrer esta alteração. Pode actuar também como catalisador da oxidação do ferro, originando a ocorrência de casse férrica (Ribéreau-Gayon et al., 1982).

As aguardentes obtidas a partir de alambiques de Cu contêm normalmente teores entre 3 e 5 $mg.dm^{-3}$ deste metal que é arrastado através da condensação dos vapores ao longo dos compartimentos do alambique. As aguardentes podem também sofrer turvações ou precipitações de natureza irreversível, devido à reacção dos taninos com substâncias minerais. A título de exemplo, refere-se a formação de tanato de cobre, quando o pH é superior a 4,5 (Lafon et al., 1964).

Quando em concentrações muito elevadas, é também relevante a sua importância sob o ponto de vista toxicológico (Curvelo-Garcia e Catarino, 1998; Vasconcelos e Azenha, 2001).

O limite legal estabelecido para vinhos e aguardentes é de 1 $mg.dm^{-3}$ de Cu (OIV, 1990 e 1994). O Instituto do Vinho do Porto estabelece o limite de 1 $mg.dm^{-3}$ para as aguardentes a utilizar na produção de vinho do Porto (IVP, 2000).

Ferro

A presença de Fe no vinho é essencialmente de natureza endógena, sendo função da natureza do solo e também da própria casta (Curvelo-Garcia, 1988). Para o seu enriquecimento (Fe de natureza exógena) contribuem as partículas

de solo que se encontram misturadas e aderentes às uvas; os diversos equipamentos utilizados no decorrer da vindima e os processos tecnológicos de vinificação, estabilização e conservação do vinho, nomeadamente o recurso a material pouco resistente à corrosão do meio. No entanto, parte do Fe presente no mosto precipita em quantidade variável, dependendo das condições de oxidação-redução, durante e após a fermentação e do tempo de contacto com as películas (Curvelo-Garcia, 1988).

Aos níveis em que se encontra nos vinhos (4 a 20 $mg.dm^{-3}$), não é susceptível de provocar problemas de ordem toxicológica (Curvelo-Garcia e Catarino, 1998).

Quando em teores elevados (10 a 20 $mg.dm^{-3}$), pode provocar turvações ou alterações da cor em vinhos brancos e tintos. Em vinhos conservados ao abrigo do ar, o ferro encontra-se no estado reduzido, Fe (II), solúvel. Quando ocorre um arejamento do vinho, o Fe (II) poderá ser oxidado a Fe (III), capaz de precipitar a matéria corante (casse azul) ou o ácido fosfórico (casse branca). Por outro lado, o Fe desempenha um papel importante nos fenómenos de oxidação, como catalisador, e nos fenómenos de envelhecimento (Ribéreau-Gayon et al., 1982; Cacho et al., 1995). À presente data, não existe limite legal estabelecido, a nível nacional ou internacional, para o teor de Fe em vinhos.

As aguardentes apresentam normalmente teores de Fe inferiores a 1 $mg.dm^{-3}$. À semelhança do que acontece nos vinhos, pode provocar turvações ou precipitações de natureza irreversível devido a reacções com taninos. O Instituto do Vinho do Porto estabelece o limite de 1 $mg.dm^{-3}$ para as aguardentes a utilizar na produção de vinho do Porto (IVP, 2000).

Determinação analítica de cobre e ferro em vinhos e aguardentes

Actualmente, a determinação analítica de Fe e de Cu em mostos e vinhos mais generalizada é certamente a que recorre à espectrofotometria de absorção atómica com chama (FAAS).

No âmbito da União Europeia (CEE, 1990) e do Office International de la Vigne et du Vin (OIV, 1990 e 1994), são descritos dois métodos para doseamento do Fe: um método colorimétrico (método usual) e um método por FAAS após eliminação do álcool (método de referência). Para o Cu apenas é descrito um método por FAAS. Em Portugal, encontram-se descritos sob a forma de Norma Portuguesa, os seguintes métodos para determinação de Fe e de Cu em vinhos e bebidas espirituosas por FAAS (CT83, 1988a, para o Fe; CT83, 1988c, para o Cu) e por colorimetria (CT83, 1988d, para o Fe; CT83, 1988b, para o Cu), embora estes últimos sejam pouco utilizados. Para a análise de aguardentes, o OIV recomenda a desalcoolização das amostras e a utilização do método das adições de padrão no doseamento de Cu (OIV, 1994).

Dados recentes referentes à técnica de FAAS com chama indicam limites de detecção de 3 $\mu g.dm^{-3}$ para o Cu e de 6 $\mu g.dm^{-3}$ para o Fe. Estes limites descem para 0,07 $\mu g.dm^{-3}$ e 0,06 $\mu g.dm^{-3}$, no caso da técnica de espectrofotometria de absorção atómica com câmara de grafite (GFAAS) e ainda para valores mais baixos na técnica de espectrometria de massas com indução por plasma (ICP-MS) (Thermo Electron, 2000).
Para amostras com baixos teores de Cu e de Fe, a técnica de FAAS pode não ser suficientemente sensível para permitir o seu doseamento a partir de uma curva de referência. Os problemas surgem normalmente no doseamento de Cu em vinhos e no doseamento de Fe em aguardentes. Nestes casos, como forma de ultrapassar essa dificuldade, é vulgar prática laboratorial a utilização do método das adições de padrão. Este método minimiza as interferências de matriz, dado que as soluções de calibração são preparadas a partir da própria amostra à qual se adicionam diferentes quantidades de solução padrão do analito a quantificar. O teor do analito é então calculado a partir do ponto de intercepção do prolongamento da recta das soluções de calibração com o eixo das abcissas (extrapolação), tendo em conta o factor de diluição. Contudo, este método apresenta desvantagens relacionadas com o maior volume de amostra necessário, o maior número de soluções a preparar, o maior número de medições a efectuar, etc..

O objectivo deste trabalho consistiu na validação dos método descritos nas Normas Portuguesas e sua comparação com o método das adições de padrão, nomeadamente da qualidade dos resultados analíticos fornecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

De acordo com as Normas Portuguesas, NP-2442 e NP-2280, o Cu e o Fe são doseados directamente no vinho ou após diluição da amostras, por espectrofotometria de absorção atómica com chama, com leitura a 324,8 nm e 248,3 nm, respectivamente. Os teores dos elementos na amostra são calculados com base numa curva de referência previamente estabelecida.

Produtos e reagentes

Ácido nítrico (65% RG; d = 1,40; Reag. ISO); etanol (absolute RG 99,8%; Reag. ACS, ISO), cobre metálico em folhas 0,1 mm (99,5%); ferro reduzido p.a. (99,5%). Água ultrapura (condutividade $< 0,1\ \mu Scm^{-1}$).

Calibração

Soluções padrão de 0,0 (branco); 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0 $mg.dm^{-3}$ (vinhos e aguardentes), a partir de solução de cobre a 0,1 $g.dm^{-3}$. Soluções padrão de 0,0 (branco); 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 $mg.\ dm^{-3}$ (vinho) e 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 5,0 $mg.dm^{-}$

^{3} (aguardentes), a partir de solução de ferro a 0,1 g.dm^{-3}. Na preparação dos padrões é utilizada uma solução hidroalcoólica de teor da ordem da amostra (12% etanol para vinhos e 50% para aguardentes e brandies).

Equipamento

Espectrofotómetro de absorção atómica de chama Varian SpectrAA-20, equipado com queimador de ar-acetileno e lâmpadas de cátodo oco de cobre e de ferro. No Quadro I são apresentadas as condições operatórias estabelecidas.

Quadro I

Parâmetros instrumentais para o doseamento de Cu e Fe em vinhos e aguardentes.

Instrumental parameters for the deternination of Cu and Fe in wines and brandies.

Comprimento de onda	324,8 nm (Cu); 248,3 nm (Fe)
Fenda do monocromador	0,5 nm
Intensidade da lâmpada	4 mA (Cu); 9 mA (Fe)
Tempo de leitura	3 seg
Tempo entre leituras	3 seg
Réplicas	3
Fluxo do ar	12 dm^{3}.min^{-1}
Fluxo do acetileno	1,7 dm^{3}.min^{-1}
Fluxo de aspiração	2,5 cm^{3}.min^{-1}
Introdução da amostra	Manual

Protocolo de validação

Validação por caracterização intralaboratorial (avaliação indirecta) com base na metodologia indicada por Bouvier (1994). Estudou-se o modelo matemático das curvas de calibração, limites analíticos, exactidão e precisão dos métodos.

Relativamente ao método das adições de padrão para doseamento de Cu em vinhos e de Fe em aguardentes, foi ainda estudada a precisão. As soluções de calibração foram preparadas de modo a conter 0,0; 1,0 e 2,0 mg.dm^{-3} de Cu ou Fe adicionado.

Procedeu-se também à avaliação directa dos métodos por participação num ensaio interlaboratorial, tendo sido analisados 1 vinho branco e 1 vinho tinto (PANREAC, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Modelo matemático da curva de calibração

No Quadro II apresentam-se os valores dos coeficientes das curvas de calibração, parâmetros e testes estatísticos realizados. Os valores observados das ordenadas na origem não diferem significativamente de zero, pelo que se conclui que as curvas passam pela origem. Os resultados da análise de variância das diferentes curvas de calibração demonstram que uma elevada percentagem da variação total é explicada pelo modelo polinomial. Contudo, o modelo poderia ter sido ajustado só aos erros, pelo que a decomposição da variação em torno do modelo em erro puro e erro do ajustamento, mostra-nos se há necessidade de procurar outro modelo. O teste F de Fisher permite concluir que a variação devida a este erro não é significativa, traduzindo um bom ajustamento do modelo**.** Resultados idênticos foram obtidos em mais curvas de calibração construídas ao longo dos ensaios de validação (Pinto, 2003).

Quadro II

Estudo estatístico das curvas de calibração (y = a + bx)

Calibration curves – statistical treatment (y = a + bx)

	Cu vinhos	**Cu aguardentes**	**Fe vinhos**	**Fe Aguardentes**
a	-0,00032 [-0,00186;0,00121]	-0,00030 [-0,00090;0,00030]	-0,00018 [-0,00053;0,00017]	-0,00048 [-0,00101;0,00005]
t *(Student)*	0,45611 *(ns)*	1,08106 *(ns)*	1,12214 *(ns)*	1,96239 *(ns)*
b	0,05088 ± 0,00075	0,01967 ± 0,00029	0,00757 ± 0,00007	0,00540 ± 0,00019
r^2	0,9994	0,9994	0,9998	0,9966
F_1 *(Fisher)*	21672,423 *(s)*	21345,755 *(s)*	57907,712 *(s)*	3771,708 *(s)*
F_2 *(Fisher)*	3,947 *(ns)*	4,519 *(ns)*	5,051 *(ns)*	7,827 *(ns)*

(s): valor significativo ao α considerado; *(ns):* valor não significativo ao α considerado (nível de significância = 0,05)
Os valores calculados devem ser inferiores aos valores teóricos, excepto para o teste de *Fisher* (F_1)

Limites analíticos

Entende-se por limite de detecção a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Por sua vez, o limite de quantificação representa a menor concentração do analito que pode ser quantificada nas condições experimentais estabelecidas (Monteiro e Bertrand, 1994). Em rigor, a metodologia utilizada no seu cálculo implica a sua actualização sempre que se construa nova curva de calibração.

No Quadro III apresentam-se os valores dos limites de detecção e de quantificação dos diferentes métodos. Os limites de detecção de Cu para vinhos e aguardentes são bastante inferiores ao limite legal (1 $mg.dm^{-3}$) e no primeiro caso relativamente próximo de valores referidos por outros autores: 0,00575 $mg.dm^{-3}$ (Almeida et al., 1994) e 0,007 $mg.dm^{-3}$ (Gonçalves, 1996). O limite de quantificação para vinhos é relativamente próximo dos teores normalmente encontrados em vinhos, confirmando as dificuldades de aplicação desta técnica nesses casos.

Quadro III

Limites analíticos dos métodos para doseamento de Cu e Fe em vinhos e aguardentes

Analytical limits of the methods for Cu and Fe determination in wines and brandies

	Limite de detecção (LD) ($mg.dm^{-3}$)	**Limite de quantificação** (LQ) ($mg.dm^{-3}$)
Cu (vinhos)	0,01	0,04 *(0,01)*
Cu (aguardentes)	0,04	0,14 *(0,06)*
Fe (vinhos)	0,21 *(0,05)*	0,51 *(0,14)*
Fe (aguardentes)	0,16 *(0,04)*	0,48 *(0,09)*

Os valores apresentados representam a média de 3 ensaios independentes, apresentando-se o respectivo desvio padrão (entre parêntesis). Em cada ensaio foram analisadas 20 preparações de branco (solução a 12 e 50% de etanol para vinhos e aguardentes, respectivamente). LD $=x_0+3s_0$; LQ $=x_0+10s_0$, a 95% de probabilidade (sendo x_0 a média das leituras dos 20 brancos e s_0 o respectivo desvio padrão).

No que respeita ao Fe, os limites analíticos são inferiores aos teores normalmente encontrados em vinhos, mas próximos dos teores geralmente encontrados em aguardentes.

Exactidão

No Quadro IV apresentam-se as taxas de recuperação obtidas nas amostras de vinhos, aguardentes e brandies. As diferenças nas taxas de recuperação entre os diferentes vinhos podem ser explicadas por efeitos de matriz que não são completamente compensados pela adição de etanol às soluções de calibração. As taxas de recuperação dos brandies, inferiores às das aguardentes, são explicadas pela maior complexidade da sua matriz. Investigou-se o ajustamento do modelo linear às curvas de resposta às adições de Cu e de Fe, dos vinhos, aguardentes e brandies (Pinto, 2003).

Quadro IV

Taxas de recuperação

Recovery estimates

	Cu	**Fe**
Vinhos	79 a 101%	78 a 94%
Aguardentes	91 a 99%	95 a 126%
brandies	74 e 79%	82%

Adições a 4 níveis de modo a cobrir a gama de trabalho - Cu: 0,5 a 2,0 $mg.dm^{-3}$ nos vinhos (2 brancos e 2 tintos) e 0,1 a 2,0 $mg.dm^{-3}$ nas aguardentes (2) e brandies (2) - Fe: 0,5 a 4,0 $mg.dm^{-3}$ nos vinhos (4 brancos e 4 tintos) e 0,2 a 2,5 $mg.dm^{-3}$ nas aguardentes (3) e brandy (1).

Precisão

No Quadro V apresentam-se os valores de repetibilidade, reprodutibilidade intralaboratorial e respectivos coeficientes de variação determinados em vinhos e aguardentes. Verifica-se que, com excepção dos vinhos que apresentam teores muito próximos dos limites de quantificação dos métodos, todos respeitam os valores de repetibilidade e coeficiente de variação indicados pelo OIV, para doseamento de Cu e Fe em vinhos (OIV, 1990). Observa-se que para concentrações próximas do limite de quantificação, a precisão dos métodos diminui.

Quadro V

Precisão

Precision

	Método oficial	**Método das adições de padrão**
Cu (vinhos)		
(4 brancos e 4 tintos)	0,018< r <0,120 mg.dm^{-3} (1,20< CV_r <12,79 %) 0,015< R <0,078 mg.dm^{-3} (3,95< CV_R <18,00 %)	0,043< r <0,065 mg.dm^{-3} (1,41< CV_r <34,98 %) 0,018< R <0,144 mg.dm^{-3} (2,86< CV_R <10,88 %)
Cu (aguardentes)		
(2 aguardentes e 3 brandies)	0,043< r <0,064 mg.dm^{-3} (0,74< CV_r <2,32 %) 0,067< R <0,247 mg.dm^{-3} (2,65< CVR <4,39 %)	
Fe (vinhos)		
(5 brancos e 5 tintos)	0,079< r <0,297 mg.dm^{-3} (1,16< CV_r <5,61 %) 0,015< R <0,614 mg.dm^{-3} (0,46< CVR <6,30 %)	
Fe (aguardentes)		
(3 aguardentes e 1 brandy)	0,206< r <0,353 mg.dm^{-3} (7,97< CV_r <26,36 %) 0,040< R <0,229 mg.dm^{-3} (4,72< CVR <7,16 %)	0,290< r <0,483 mg.dm^{-3} (11,14< CV_r <35,89 %) 0,131< R <0,259 mg.dm^{-3} (3,84< CVR <9,93 %)

As amostras foram seleccionadas de modo a representar toda a gama de trabalho. Pesquisa e correcção de valores aberrantes pelo teste de Grubbs.

Verifica-se de um forma geral que o método das adições fornece resultados com menor precisão do que o método oficial, provavelmente porque recorre à extrapolação (Quadro VI).

Quadro VI

Precisão - comparação dos métodos oficiais com o método das adições de padrão

Precision – comparison of official methods with standards addition method

	CVr (%)							
Fe – aguardentes	**B1**		**A1**		**A2**		**A3**	
Método oficial	26,36 *(0,30)*		13,73 *(0,58)*		8,38 *(1,21)*		7,97 *(1,71)*	
Método das adições	35,89 *(0,49)*		16,38 *(0,69)*		11,14 *(1,00)*		12,73 *(1,46)*	
Cu - vinhos	**VB1**	**VB2**	**VB3**	**VB4**	**VT1**	**VT2**	**VT3**	**VT4**
Método oficial	12,79	2,41	1,20	5,63	12,73	3,03	1,61	2,05
	(0,05)	*(0,35)*	*(0,66)*	*(0,82)*	*(0,06)*	*(0,27)*	*(0,64)*	*(0,73)*
Método das adições	28,83	4,70	2,42	2,65	34,98	3,87	1,49	1,41
	(0,06)	*(0,36)*	*(0,77)*	*(0,94)*	*(0,04)*	*(0,30)*	*(0,79)*	*(1,60)*

( ) – concentrações ($mg.dm^{-3}$)

Ensaio interlaboratorial

No Quadro VII apresentam-se os resultados do ensaio de inter-comparação, tendo sido analisado 1 vinho branco e 1 vinho tinto (este último com o objectivo de obter um material de referência). De acordo com o critério de interpretação adoptado, os valores de z-score indicam que os resultados são satisfatórios. Os resultados do vinho branco não foram sujeitos ao mesmo tratamento estatístico, mas os teores obtidos são muito aproximados do valor médio.

Quadro VII

Resultados do ensaio interlaboratorial

Results of interlaboratory assay

	EVN (FAAS)	**PANREAC** (FAAS)	**Z-score**
Fe ($mg.dm^{-3}$)		(30 lab.)	
Vinho branco	1,10 *(0,02)*	1,12 *(0,20)*	
Vinho tinto	3,74 *(0,09)*	4,19 *(0,60)*	-0,46
Cu ($\mu g.dm^{-3}$)		(21 lab.)	
Vinho branco	< 50	29 *(9)*	
Vinho tinto	207 *(4)*	223 *(35)*	0,73

( ) desvio padrão associado ao valor médio.

Z = (valor do laboratório - valor de referência)/desvio padrão da média dos laboratórios; Resultados satisfatórios $|Z| \leq 2$. O valor de z-score foi calculado após aplicação de alguns testes estatísticos para eliminação dos laboratórios estatisticamente incompatíveis: comparação de precisões (teste de Cochran); detecção de valores extremos (teste de Grubbs).

CONCLUSÕES

O método descrito na NP 2442 permite o doseamento de Cu em aguardentes com teor superior a 0,14 $mg.dm^{-3}$, com exactidão e precisão satisfatórias (CVr < 2,32%), mesmo sem eliminação prévia do álcool. As taxas de recuperação obtidas nos brandies (74 a 79%) são inferiores às das aguardentes (91 a 99%), provavelmente devido à maior complexidade da matriz. O mesmo método apresenta dificuldades no doseamento de Cu em vinhos com teor inferior a 0,04 $mg.dm^{-3}$, verificando-se uma degradação da precisão à medida que nos aproximamos deste valor (CVr < 12,79%). As taxas de recuperação variam entre 79 e 101%.

Relativamente ao método descrito na NP 2280 é, pela sua praticabilidade e capacidade de fornecer resultados analíticos com a precisão (CVr < 5,61%) e exactidão necessárias (78 a 94%), apropriado para o controlo de rotina do teor de Fe em vinhos. No que respeita ao doseamento de Fe em aguardentes, verificou-se ser inadequado por não permitir quantificar teores inferiores a 0,48 $mg.dm^{-3}$. A eliminação prévia do álcool, tal como propõe o OIV, poderá ser uma solução para este problema, prejudicando contudo a praticabilidade do método.

Em comparação com os métodos anteriores, o método das adições de padrão evidencia menor praticabilidade, uma vez que obriga a execução de várias medições e implica a utilização de uma quantidade bastante superior de amostra. Verificou-se também que apresenta uma precisão inferior, provavelmente explicada pela extrapolação utilizada, por ser menos precisa que a interpolação usada no método oficial. O método das adições está ainda sujeito a maior número de erros durante a sua execução, principalmente erros pessoais, relacionados com as várias medições de vinho e solução padrão a efectuar. Pelas razões anteriormente apresentadas, o método das adições de padrão não constitui boa alternativa para doseamento de Cu em vinhos e de Fe em aguardentes.

SUMMARY

Validation and comparison of analytical methods by flame atomic absorption spectrometry for determination of copper and iron in wines and brandies

The knowlegde of copper and iron contents in wines and brandies is important because these metals may involve haze formation during their storage. This paper presents the determination of total contents of the two metals in these beverages, by flame atomic spectrometry. The methods described by portuguese normas, were validated and its analytical characteristics were verified. Their apliccation for determination of some wines and brandies with low contents, may present some dificulties. The method of standard additions, widely practised in these situations, was also studied, and the precision of the two methods was compared. Because it is an extrapolation

method, is thus less precise than the interpolation methods. We also presents the results of the participation in an interlaboratory assay.

RÉSUMÉ

Validation et comparaison des méthodes analytiques de spectrométrie d'absorption atomique de flamme pour la détermination du cuivre et du fer dans les vins et les eaux-de-vie

La connaissance des teneurs en cuivre (Cu) et en fer (Fe) des vins et des eaux-de-vie présentent une très grande importance face à leur stabilité physico-chimique. Dans cet article, pour le Cu et le Fe, on présente les paramètres de validation intralaboratoire des méthodes d'analyse décrites dans les Normes portugaises, en employant la spectrométrie d'absorption atomique de flamme. L'application de ces méthodes pour le dosage de Cu dans les vins et de Fe dans les eaux-de-vie présente quelques dificultés, en liaison avec les faibles teneurs de sa présence. Dans ces conditions, il est commun l'application de la méthode des additions d'étalon: on a conclu que cette méthode est moins précise que la méthode basée sur la comparaison avec une courbe de référence. On présente aussi les résultats d'un essai interlaboratoire concernant ces déterminations.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida A.A., Cardoso M.I., Lima J.L.F.C., 1994. Determination of Copper in Port Wine and Madeira by Electrothermal Atomization AAS, *Atomic Spectroscopy*, **2**: 73-77.

Bouvier J.C., 1994. *Guide d'évaluation et validation d'une méthode d'analyse chimique*. 18 p. INRA. Narbonne.

Cacho J., Castells J.E., Esteban A., Laguna B., Sagristá N., 1995. Iron, Copper, and Manganese Influence on Wine Oxidation. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46** (3) : 380-384.

CT83, 1988a. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de ferro por espectrofotometria de absorção atómica, *Norma Portuguesa* NP 2280, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

CT83, 1988b. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de cobre. Método colorimétrico. Processo corrente, *Norma Portuguesa* NP 2441, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

CT83, 1988c. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de cobre por espectrofotometria de absorção atómica. Processo de referência, *Norma Portuguesa* NP 2442, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

CT83, 1988d. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de ferro. Método colorimétrico. Processo corrente, *Norma Portuguesa* NP 2443, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

Curvelo-Garcia A.S., 1988. *Controlo de Qualidade dos Vinhos. Química Enológica. Métodos analíticos*, 420 p., Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa.

Curvelo-Garcia A.S., Catarino S., 1998. Os metais contaminantes dos vinhos: origens da sua presença, teores, influência dos factores tecnológicos e definição de limites (revisão bibliográfica crítica), *Ciência Técnica e Vitivinícola*, **13** (1-2): 49-70.

Founier J.B., El Hourch M., Martin G.J., 1998. Analyse du zinc, du cuivre et du plomb dans le vin. Rapport entre les concentrations totales analysées par spectrométrie d'absorption atomique

et les concentrations des ions libres déterminées par polarographie. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **32** (1), 45-50.

Gonçalves M.L.S.S.G., 1996. *Métodos Instrumentais para Análise de Soluções. Análise Quantitativa*. 83-137. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.

IVP, 2000. Regulamento do processo técnico-administrativo para controlo da aguardente destinada à elaboração de Vinho do Porto, Anexo III, Instituto do Vinho do Porto.

Lafon R., Lafon J., Couillaud P., 1964. *Le Cognac: sa distillation*, 270p., J.B. Baillière et Fils Editeures, Paris.

Magalhães M.J., Sequeira E.M., Lucas M.D., 1985. Copper and Zinc in Vineyards of Central Portugal. *Water, Air, and Soil Pollution*, **26**: 1-17.

Miller J.C., Miller J.N., 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*. 233 p. Ellis Horwood and Prentice Hall.

Monteiro M.J.P., Bertrand A., 1994. Validation d'une methode de dosage. Aplication a l'analyse des amines biogénes du vin. *Feuillet Vert de l'OIV*, 970.

OIV, 1990. *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins*, Office International de la Vigne et du Vin, Paris.

OIV, 1994. Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la fraction aromatique des boissons, Office International de la Vigne et du Vin, Paris.

PANREAC, 2003. *Ensayo Interlaboratorio de Análisis Físico-Químico de Vino Tinto* (Agosto 2002). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, Espanha.

Pinto D.F.C., 2003. *Validação de métodos de análise em espectrofotometria de absorção atómica para doseamento de catiões metálicos em vinhos e aguardentes*. Relatório final de estágio. Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribéreau-Gayon P., 1982. *Sciences et Techniques du Vin. I-Analyse et Contrôle des Vins*, Dunod, Paris.

Thermo Electron, 2000. AAS, FAAS, ICP or ICP-MS ? Which technique should I use ? An elementary overview of elemental analysis. TJA Solutions – Thermo Electron, United Kingdom.

Vasconcelos M.T., Azenha M., 2001. In vitro assessment of the bioavailabitlity of Pb and Cu in different portuguese wines. *Feuillet Vert de l'OIV*, 1135.