

Licenciatura em Ciências da Nutrição

U. PORTO

Universidade do Porto

Faculdade de Ciências
da Nutrição e Alimentação

Trabalho de Investigação

Determinação e Quantificação de Metais Pesados
e Elementos Traço num Vinho da Região Demarcada do Douro

Elton Afonso Gonçalves

Porto - 2005

Trabalho de Investigação

Determinação e Quantificação de Metais Pesados
e Elementos Traço num Vinho da Região Demarcada do Douro

Júri do Exame de Licenciatura

Presidente: Prof. Doutora Ada Rocha

Arguente: Prof. Doutora Conceição Calhau

Orientadora: Mestre Cristina Teixeira Santos

Agradecimentos Gerais

Aos meus pais, Edgar e Marinha
Ao meu irmão, Nuno
À minha namorada, Mónica

A todos os meus amigos, pela ajuda, compreensão, pelos bons tempos que
sempre passamos e sempre havemos de passar....pela vossa amizade

À minha orientadora, Dra. Cristina Teixeira Santos
Ao meu co-orientador no IVDP, Eng.º Tomás Simões
Ao meu co-orientador na SM, Consultores, Dr. Simão Monteiro
Professora Doutora Maria Luísa de Carvalho
Eng.^a Manuela Simões
Dr. António Graça
Dr. José Luís Moreira da Silva
Dra. Berta Fernandes
Dr. Carlos Pereira

A todos aqueles que me auxiliaram neste trabalho, e que sem eles nada disto
seria possível

O meu sincero obrigado a todos



Índice

Página

Índice de Gráficos	ix
Índice de Figuras e Quadros	xi
Índice de Tabelas	xiii
Lista de Abreviaturas	xv
Glossário	xvii
Resumo	xix

INTRODUÇÃO	1
OBJECTIVOS	11
MATERIAIS E MÉTODOS	12
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÃO	49
BIBLIOGRAFIA	

Índice de Anexos

Índice de Gráficos



Página

Gráfico 1 – Produção de Vinho na Europa e no Mundo.....	3
Gráfico 2 – Produção Nacional de Vinhos. Campanha 2002 – 2003.	3
Gráfico 3 – Percentagem dos elementos metálicos na constituição do solo.....	22
Gráfico 4 – Concentração média dos elementos metálicos no solo.....	22
Gráfico 5 – Percentagem dos elementos metálicos na constituição das folhas...	23
Gráfico 6 – Concentração média dos elementos metálicos nas folhas.	23
Gráfico 7 – Percentagem dos elementos metálicos na constituição das uvas....	24
Gráfico 9 – Concentrações médias dos elementos metálicos nos solos, folhas e uvas.	25
Gráfico 10 – Composição metálica dos solos, folhas e uvas.	26
Gráfico 11 – Evolução dos teores dos elementos metálicos ao longo do sistema solo–folhas–uvas.	26
Gráfico 12 - Evolução dos teores de metais pesados e outros elementos metálicos ao longo das principais etapas da Vinificação..	28

Índice de Figuras e Quadros



Página

Figura 1 – Região Demarcada do Douro e suas sub-regiões.....	6
Quadro 1 – Factores intervenientes e modeladores da investigação nos vinhos...9	
Quadro 2 – Esquema representativo da organização geral do estudo e entidades cooperantes.	12
Quadro 3 – Representação esquemática do trabalho de investigação.	13
Figura 2 – Local de recolha das amostras da 1 ^a Fase de Recolha: Solo, Folhas e Uvas.....	14
Figura 3 – Representação esquemática do sistema de digestão de amostras.	21



Índice de Tabelas

Página

Tabela 1 – Caracterização da Região Demarcada do Douro.	7
Tabela 2 – Limites analíticos de alguns elementos metálicos nos vinhos.	10
Tabela 3 – Características das Parcelas de terreno estudadas.	14
Tabela 4 – Condições laboratoriais da Espectrofotometria de Absorção Atómica utilizadas neste trabalho de investigação.....	20
Tabela 5 – Concentrações de K, Ca, Ti, Mn e Fe no solo	22
Tabela 6 – Concentrações de Co, Cu, Zn, Rb, Sr e Pb no solo.....	22
Tabela 7 – Concentrações de K, Ca, Mn, Fe e Cu nas folhas.....	23
Tabela 8 – Concentrações de Zn, As, Br, Rb, Sr e Pb nas folhas	23
Tabela 9 – Concentrações de K, Ca, Fe e Cu nas uvas.....	24
Tabela 10 – Concentrações de Zn, Rb, Sr e Pb nas uvas.....	24
Tabela 11 – Média das Concentrações de K, Ca, Fe e Cu no solo, folhas e uvas.	25
Tabela 12 – Média das concentrações de Zn, Rb, Sr e Pb no solo, folhas e uvas.	25
Tabela 13 – Média das concentrações de Mn, Ti, Co e Br no solo, folhas e uvas	25
Tabela 14 – Concentrações de Pb, Cd, Cu, Fe e Mn nas diferentes etapas da Vinificação.....	27
Tabela 15 – Concentrações de Zn, Ca, Na, K e Mg nas diferentes etapas da Vinificação.....	27

Lista de Abreviaturas



Ca – Cálcio.

Cd – Cádmió.

CFAUL – Centro de Física Atómica da Universidade de Lisboa.

Co – Cobalto.

Cu – Cobre.

EAA – Espectrofotometria de absorção atómica.

EAAC – Espectrofotometria de absorção atómica por atomização de chama.

EAACG – Espectrofotometria de absorção atómica com câmara de forno de grafite.

EDFRX – Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X Dispersiva em Energia.

FCUP – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Fe – Ferro.

ha – Hectares.

hl – Hectolitros.

IVDP – Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto.

IVV – Instituto da Vinha e do Vinho.

K – Potássio.

Mg – Magnésio.

Mn – Manganês.

Na – Sódio.

OIV – *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin*.

Pb – Chumbo.

PE – Parcela do Espinheiro.

PM – Parcela do Martelo.

Rb – Rubídio.

RDD – Região Demarcada do Douro.

Sr – Estrôncio.

Ti – Titânio.

VEQPRD – Vinho Espumante de Qualidade Produzido em Região Determinada.

VFQPRD – Vinho Frisante de Qualidade Produzido em Região Determinada.

VLQPRD – Vinho Licoroso de Qualidade Produzido em Região Determinada.

VQPRD – Vinho de Qualidade Produzido em Região Determinada.

Zn – Zinco.

Glossário

Bagaço – matérias sólidas da uva esmagada, impregnadas de vinho após o escoamento, quando esgotadas pela prensagem constituem o "bagaço prensado".

Desengace – separação dos bagos de uva dos engaços.

Elementos Traço – Elementos que se encontram em concentrações muito reduzidas nos vinhos, e que, não sendo metais pesados, quando ingeridos em quantidades elevadas expressam quer funções toxicológicas, quer desequilíbrios físico-químicos nos vinhos. Pela sua expressão quantitativa nos vinhos são os principais responsáveis pela sua estrutura metálica.

Engaço – é a componente lenhosa do cacho, e que serve de suporte para as uvas.

Grau Baumé – escala de densidade utilizada para mostos e vinhos doces que permite inferir o grau de doçura do produto.

Limbo – parte da folha com maior área e função fotossintética. Também é designado por lâmina.

Metais Pesados – É uma expressão amplamente utilizada, não possuindo uma definição única variando com de acordo com o ramo da ciência que o aborda. No âmbito deste trabalho, esta expressão deverá ser entendida como os elementos químicos tóxicos aos mamíferos superiores (zootoxicidade). Os únicos metais pesados estudados neste trabalho são o chumbo e o cádmio.

Mosto – sumo da uva que não sofreu fermentação.

Pecíolo – parte da folha que faz a ligação do limbo ao caule da planta; por ele passam ramificações dos vasos condutores.

Surribas – revolvimento de terras (utilizam-se normalmente os *bulldozers*).

As definições apresentadas foram baseadas no vocabulário dos profissionais da área e que são consensualmente aceites; Filipe A, Pereira GM, Mota I, de Almeida JN, Franco J, Magalhães N, et al.. O Vinho do Porto e os Vinhos do Douro. Edição especial. Lisboa: Chaves Ferreira – Publicações, S.A; 1998. (Enciclopédia dos Vinhos de Portugal;4); Lidon F.J.C, Gomes H.P., Abrantes A.C.S., Anatomia e morfologia externa das plantas superiores. Lidel; 2001.

Resumo

O Vinho é um género alimentício com grande importância na cultura alimentar portuguesa, e representa um factor de relevo na economia do nosso país. É uma solução bioquímica extremamente complexa, cuja composição metálica apresenta enorme interesse devido às suas implicações na qualidade e segurança alimentar e sua relevância em termos enológicos.

O presente trabalho de investigação consistiu na determinação e quantificação de metais pesados e elementos traço num vinho de mesa tinto da Região Demarcada do Douro, tendo sido abordada toda a linha de produção desde a viticultura até ao final da vinificação.

Foram analisadas amostras de solo, folhas e uvas através de espectroscopia de fluorescência de raios X (EDFRX), e amostras das principais etapas do processo de vinificação por espectrofotometria de absorção atómica (EAA).

Na constituição metálica os elementos mais abundantes eram: no solo, o Fe (62,9%; 25902,3 µg/g), o K (20,6%; 5233,7 µg/g) e o Ca (9%; 22271,7 µg/g); nas folhas o Ca (76,5%; 19503,8 µg/g) e o K (19,8%; 5046,5 µg/g) e nas uvas o K (84,1%; 5615,4 µg/g), seguido pelo Ca (14,5%; 973,1 µg/g). Os teores médios de Pb no solo, folhas e uvas foram: 35,5 µg/g, 7,1 µg/g e 4,9 µg/g, respectivamente.

O vinho final apresentava os seguintes teores: Pb (15 µg/l), Cd (<0,5 µg/l), Cu (<0,2 mg/l), Fe (1,3 mg/l), Mn (2,4 mg/l), Zn (<0,4 mg/l), Ca (85 mg/l), Na (20 mg/l), K (1054 mg/l) e Mg (124 mg/l).

Os valores de metais pesados e elementos traço decresceram genericamente ao longo do sistema solo-folhas-uvas, sendo justificado, em parte, pelo mecanismo de absorção tipicamente encontrado em plantas. Ao nível da vinificação, o decréscimo da maioria dos elementos no decorrer da fermentação alcoólica

parece estar relacionado com fenómenos de precipitação e posterior remoção dos mesmos nos depósitos de massas vínicas .

Em termos sumários verificou-se que este vinho da RDD em estudo apresentava teores de elementos metálicos perfeitamente enquadrados com as imposições legais em vigor e com as recomendações mundiais dirigidas ao sector vitivinícola.

Palavras-chave: vinho, Região Demarcada do Douro, viticultura, vinificação, metais pesados, elementos traço.

INTRODUÇÃO

Portugal é um país pouco dotado para a agricultura por lhe faltarem amplas planícies e nele abundarem pedregosas serranias de destino florestal. No entanto, reúne condições ímpares para o desenvolvimento dessa extraordinária planta que é a videira, de cujos magníficos frutos saem alguns dos melhores vinhos do Mundo. Mas essas enormes potencialidades estão longe de ser integralmente aproveitadas. Muito há a melhorar na cultura da vinha e na tecnologia vinícola para que o vinho português possa ombrear com o que de melhor se produz no Mundo ⁽¹⁾.

A Qualidade do Vinho

A produção de Vinho é hoje uma actividade económica com particular relevo no conjunto da produção Agro-Industrial de Portugal. Proporciona um contributo sócio-económico significativo que, no actual contexto económico e de exigência de conhecimento por parte dos consumidores, implica níveis de eficiência e de actuação sem precedentes no passado ⁽²⁾. Este importante papel na economia portuguesa é uma das razões que promove a procura de elevados padrões de qualidade nos vinhos portugueses. O carácter subjectivo do conceito "Qualidade" dificulta qualquer tentativa de definição. Do ponto de vista técnico-científico, vinhos de qualidade serão aqueles que possuem alguma denominação de origem, elaborados com uma tecnologia apropriada e que apresentam intrínsecas características visuais, de aroma e sabor que são interpretadas como acima da média para um determinado tipo de vinho. Esta definição de vinho de qualidade é normalmente utilizada por produtores e técnicos. O preço não é necessariamente um indicador fiável da qualidade, uma vez que este pode ser influenciado pela

moda, tradição, disponibilidade ou preferências pessoais. Infelizmente, apesar das inúmeras referências à qualidade e à quantidade de trabalho que directamente ou indirectamente se refere a ela, ainda existe alguma confusão e incerteza sobre a contribuição do clima, locais de produção, e as práticas vitivinícolas utilizadas. A caracterização dos factores que podem influenciar a qualidade é efectuada com especial dificuldade devido aos problemas da sua determinação ⁽³⁾. Em última instância, cabe ao consumidor a palavra final.

A complexidade do produto e suas características, a influência da componente humana e a extrema subjectividade do consumidor no momento da compra, estimulam a produção de vinhos diferentes e cada vez mais adaptados às expectativas do consumidor. Esta destemida competição contribui para elevar o padrão de qualidade dos vinhos consoante o seu destino comercial. Qualidade é, nesta óptica, aquilo que o consumidor quer ⁽²⁾.

Numa perspectiva mais específica do conceito de Qualidade Alimentar, a Segurança Alimentar está inerente, constituindo um marco fundamental e obrigatório. Assim, para além de uma cuidadosa caracterização organoléptica, os vinhos são regularmente controlados, pelos organismos oficiais, a nível de elementos traço que podem eventualmente surgir como contaminantes, os quais representam uma fonte de perigo alimentar para o consumidor ⁽⁴⁾.

Produção de vinho no Mundo e em Portugal

Portugal é um dos dez maiores produtores de vinho do mundo, sendo em 2001/2002 o 8º maior produtor a nível mundial, e em 2002/2003 o 5º maior produtor europeu, apresentando de 1999 a 2003 uma produção média de 7.255.000 hectolitros (hl) ⁽⁵⁾.

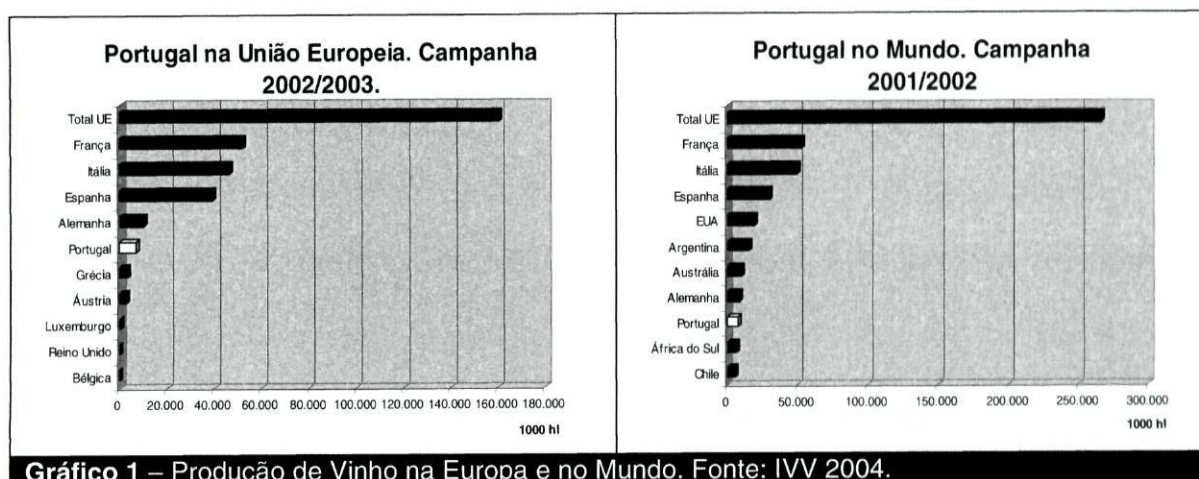


Gráfico 1 – Produção de Vinho na Europa e no Mundo. Fonte: IVV 2004.

Na campanha 2002/2003, Portugal produziu 6.676.788 hl de vinho, dos quais cerca de 21,1% são originários da região do Douro. Do total de produção duriense 88,7% corresponde a Vinho de Qualidade Produzido em Região Determinada (VQPRD)^a, 5,1% a vinho regional e 6,2% a vinho de mesa ⁽⁵⁾.

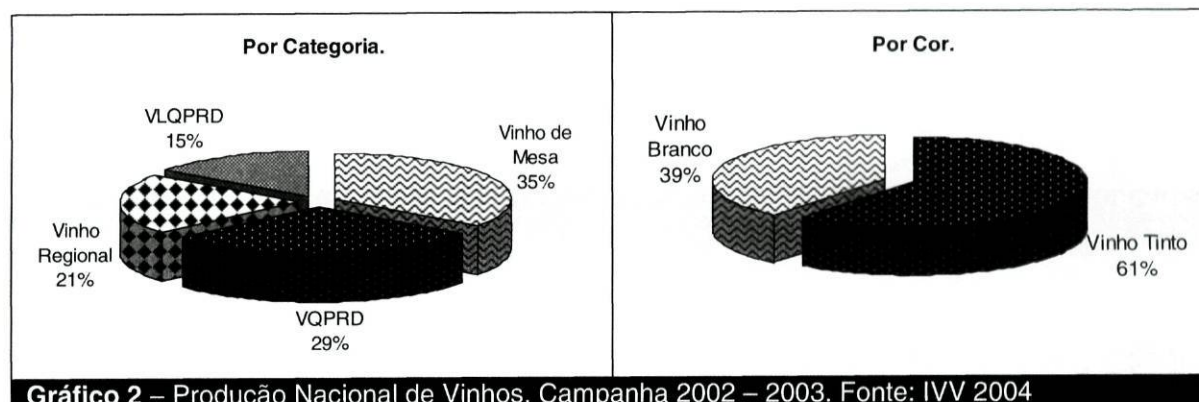


Gráfico 2 – Produção Nacional de Vinhos. Campanha 2002 – 2003. Fonte: IVV 2004

A proposta apresentada em 2003 pelo estudo “Incentivar a Competitividade no Sector do Vinho Português - Desenvolver uma Visão Estratégica e um Plano de Acção” realizado pelo *Monitor Group* em nome da ViniPortugal, recomenda a activação da Estratégia do *Cluster* do Vinho. O objectivo primordial é aumentar o valor gerado pela exportação de vinhos de qualidade, visando uma actuação assente em vários pilares. Um pilar é baseado na revitalização da estrutura

^a Dados incluem também Vinho Licoroso de Qualidade Produzido em Região Determinada (VLQPRD), Vinho Espumante de Qualidade Produzido em Região Determinada (VEQPRD) e Vinho Frisante de Qualidade Produzido em Região Determinada (VFQPRD).

vitivinícola, a nível da produção de vinhos de qualidade superior (nomeadamente gama *premium* e *super-premium*^b), uma vez que Portugal possui uma das estruturas de parcelas mais fragmentada no mundo dos vinhos, níveis de mecanização reduzidos e uma forte componente tradicional na sua produção de vinho e cultivo da uva, não podendo competir em termos de preços nos segmentos de volume elevado onde dominam os países do Novo Mundo. Outro pilar que é fortemente focado é a perspectiva de internacionalização, apostando especificamente nos mercados do Reino Unido e Estados Unidos como alvos para a exportação, não menosprezando obviamente o mercado interno e os mercados de exportação já estabelecidos como a Alemanha, França e Brasil. O aprofundamento do conhecimento dos consumidores nesses mercados deverá também ser explorado ⁽⁶⁾.

Um dos aspectos que assume importância de primeiro plano no âmbito das transacções internacionais, em termos de segurança alimentar, é o conteúdo de contaminantes metálicos como metais pesados e outros elementos traço ⁽⁷⁾.

Reflectindo sobre os valores de produção de vinho a nível nacional e internacional, rapidamente nos apercebemos que o vinho é um género alimentício com um impacto enorme na população, e, em particular, nos hábitos alimentares e culturais dos portugueses. Independentemente do tipo de vinho ou das suas características organolépticas, ele tem de ser seguro do ponto de vista alimentar. Existem inúmeros perigos na produção de vinho, fruto quer das incorrectas práticas vitícolas, quer das operações tecnológicas aplicados no seu processo de fabrico.

^b Classificação de vinhos segundo segmento de preço: *icon*: >€50; *ultra premium*: €14-€50; *super premium*: €8-€14; *premium*: €5-€8; *basic*: <€5.

Caracterização geral do sector

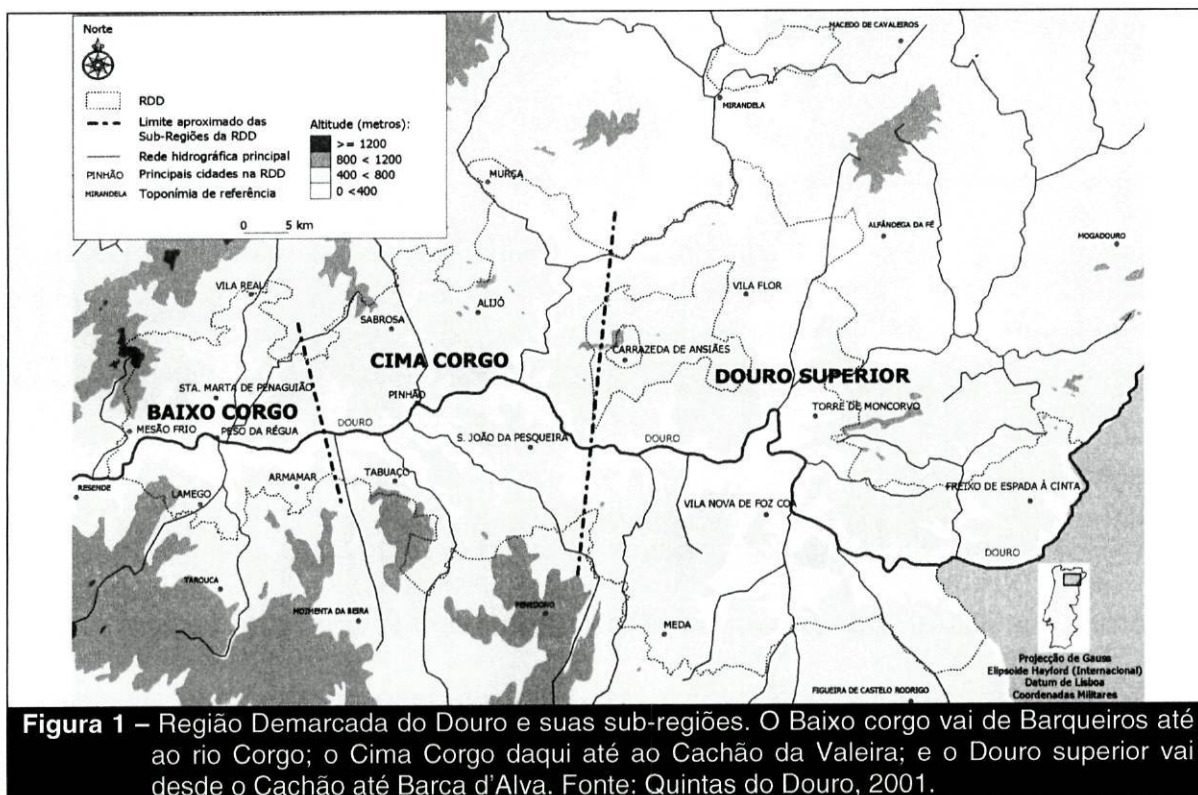
Portugal é o país da União Europeia (UE) que dedica à viticultura a maior percentagem da sua superfície agrícola útil, cerca de 4,3% ocupando 241.119 hectares (ha) ⁽⁵⁾. A viticultura desempenha um papel social e cultural muito importante, representando o sector vitivinícola 30% do produto agrícola bruto e empregando 29% da população agrícola activa. No entanto, só nos últimos anos, e sobretudo com o apoio dos subsídios à re-estruturação provenientes da UE, se intercedeu no sentido de modernizar o sector vitivinícola. As prioridades consistiram na renovação das vinhas e melhoria das estruturas vinícolas, transformação e comercialização de vinho, bem como na aposta na formação profissional. Porém o ramo tem-se deparado quer com uma diminuição da produção, quer com a diminuição do consumo *per capita*, sendo estas situações compensadas pelo aumento do consumo de vinho de qualidade, nomeadamente Vinho de Qualidade Produzido em Região Determinada (VQPRD). Acresce referir que um factor que tem contribuído para a manutenção de um certo nível de qualidade do vinho, é o facto da produção vitivinícola estar fortemente legislada ⁽⁸⁾.

Caracterização da Região Demarcada do Douro (RDD)

A Região Demarcada do Douro (RDD) foi oficialmente fundada em 1756, e após várias alterações, vê estabilizada a sua estrutura fundiária a partir de 1921 (Decreto nº 7934 de 10 de Dezembro de 1921 e Artigo 2ª do Decreto-Lei nº 254/98 de 11 de Agosto). A RDD segue o curso do rio Douro, iniciando-se a poente na povoação de Barqueiros (Mesão Frio) com o resguardo das serras do Marão e Montemuro, e terminando a nascente em Barca d'Alva, sendo limitada a

norte e a sul pelos contornos irregulares das encostas adjacentes, a partir das quais a vinha deixa de possuir as características necessárias à vinificação e à produção de vinhos de qualidade ⁽⁹⁾.

A sua área ocupa cerca de 250.000 ha, e é tradicionalmente subdividida em três regiões distintas: o Baixo Corgo, o Cima Corgo e o Douro Superior.



Apresentam características climáticas e orológicas próprias, bem como factores socio-económicos diferentes. A região do Baixo Corgo, devido à facilidade de ligação com as cidades do litoral apresentou um desenvolvimento mais precoce em termos de ocupação de espaço, sendo seguida pelo Cima Corgo. Já o Douro Superior encontrava-se até finais do século XVIII separado das restantes regiões na zona do Cachão da Valeira, onde um monólito de granito no rio Douro impedia a sua navegação, verificando-se assim um menor desenvolvimento da cultura da vinha ^(10, 11).

O Baixo Corgo apresenta a maior concentração de vinha plantada, quer por motivos históricos, quer devido às características do solo e do microclima. O Cima Corgo apresenta a área com mais vinha plantada, e o Douro Superior anuncia o maior potencial de crescimento dada a maior facilidade de produção e mecanização (ver tabela 1).

Sub-Região	Área Total (ha)	% Área	Área com vinha	% da Área total	Nº de viticultores
Baixo corgo	45.000	18	13.492	29,9	15.715
Cima corgo	95.000	38	17.036	17,9	16.605
Douro Superior	110.000	44	8.060	7,3	7.654
TOTAL	250.000	100	38.588	15,4	39.974

Tabela 1 – Caracterização da Região Demarcada do Douro. Fonte: IVDP 2005.

Situando-se na bacia hidrográfica do Douro, a RDD apresenta um microclima específico, de características mediterrâneas, possuindo temperaturas elevadas no Verão e nunca muito baixas durante o Inverno, precipitação anual moderada e humidade relativa média-alta. Os solos pertencem à formação geológica do complexo xisto-grauváquio pré-ordovícico, em especial ao longo do vale do Douro e seus afluentes. Devido à constituição da própria rocha, não existe muito solo para trabalhar, e o que existe encontra-se muito perto da rocha-mãe. Por isso é necessário proceder a surribas e construir socacos que retenham os solos. Estes solos são muito pedregosos, mas favoráveis ao crescimento da videira, pois permitem uma acrescida fixação das raízes e da água, evitam a erosão e possibilitam uma correcta manutenção de temperatura ⁽¹⁰⁾. Quimicamente os solos durienses são pobres em matéria orgânica, de reacção geralmente ácida e em menor escala pouco ácida, havendo ainda em algumas parte do Douro Superior valores neutros. Em parte devido aos valores baixos de pH, o fósforo assimilável é baixo, o potássio assimilável é médio a alto, e o azoto é naturalmente baixo. Se

não existirem as convenientes correcções calcárias, são frequentes as carências em magnésio, podendo ainda surgir desequilíbrios nos teores de boro e alumínio, prejudicando a vinha e a sua produtividade ⁽⁹⁾.

A videira é uma planta trepadora, cuja espécie mais adaptada para a vinificação de vinhos de qualidade é *Vitis vinifera* L., sendo uma das mais importantes plantas do mundo utilizadas na agricultura ⁽¹²⁾. As variedades de *Vitis vinifera* são designadas por castas, e na RDD são consideradas as mais adequadas à vinificação a Touriga Nacional, Tinta Barroca, Tinta Roriz, Touriga Franca e Tinto Cão ⁽⁹⁾.

Importância da investigação e estudo do vinho e da vinha

A pesquisa e desenvolvimento em viticultura e enologia desempenha um importante papel na competitividade das empresas produtoras de vinhos. A investigação e estudo do vinho e da vinha, e a sua ligação ao tecido empresarial, torna esta actividade essencial e indispensável ⁽¹³⁾. Paralelamente, o impacto deste género alimentício nos hábitos alimentares portugueses é expressivo, fruto das influências culturais e dos padrões de consumo. A título de exemplo, no ano 2002, consumiram-se em Portugal 4650 milhares de hl de vinho, apresentando um consumo *per capita* de 46,3 litros ⁽¹⁴⁾ (*anexo 1*). Estes factores têm impulsionado a comunidade científica na procura incessante das propriedades e características alcoólicas e não alcoólicas do vinho. Apesar deste esforço, a informação sobre os níveis de metais pesados e outros elementos metálicos na viticultura e processo de vinificação ainda é escassa. Uma adequada avaliação e caracterização destes parâmetros contribuirá, garantidamente, para a evolução da produção de vinhos na Indústria Alimentar Portuguesa. No sentido da melhoria

contínua, a finalidade será sempre produzir cada vez com maior qualidade, beneficiando quer o sector vinícola, quer o país, e simultaneamente reduzir o risco para o consumidor em termos de Segurança Alimentar.



Quadro 1 – Factores intervenientes e modeladores da investigação nos vinhos.

Regulamentação do sector vitivinícola

Na actual conjuntura económica internacional, a competitividade é muito elevada. O sector vitivinícola não é excepção, pelo contrário, apresenta uma enorme agressividade. O estabelecimento internacional das regras do sector são celebradas pela *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin* (OIV), cabendo aos seus Estados-Membros transpô-las para o seu Direito Interno. No caso da União Europeia, compete-lhe a transposição para regulamentação comunitária. Comparando o mecanismo de transposição para a legislação nacional nos países do Novo Mundo vitivinícola (USA, Austrália, Nova Zelândia, Brasil, Chile, entre outros) o mesmo processo na União Europeia é realizado de forma mais demorada, colocando entraves à competitividade dos produtores europeus ⁽¹⁵⁾. A excessiva regulamentação da produção vitivinícola na Europa é uma realidade, porém, no âmbito da Segurança Alimentar, carece de uma especificidade ao nível dos limites máximos de contaminantes metálicos dos vinhos (ver tabela 2).

Elemento	Unidade de Expressão	Valor máximo permitido	Legislação / Recomendações
Arsénio (As)	mg/l	0,2	OIV*
Cádmio (Cd)	mg/l	0,01	OIV*
Cálcio (Ca)	mg/l	50-90	Valores médios do IVDP
Chumbo (Pb)	mg/kg	0,2	Regulamento(CE)n.º466/2001***
	mg/l	0,2	Resolução Enologia 1/96 (OIV)
Cobre (Cu)	mg/l	1	Regulamento (CE) n.º1622/2000**** OIV*
Ferro (Fe)	mg/l	15	IVDP**
Magnésio (Mg)	mg/l	70-130	Valores médios do IVDP
Manganês (Mn)	mg/l	3	IVDP**
Potássio (K)	mg/l	600-1200	Valores médios do IVDP
Sódio (Na)	mg/l	60	OIV*
Zinco (Zn)	mg/l	5	OIV*

Tabela 2 – Limites analíticos de alguns elementos metálicos nos vinhos.

* Limites máximos aceitáveis de diversos elementos nos vinhos. *RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES* – OIV.2005.

** Limites analíticos estabelecidos pelo IVDP para controlo de vinhos do Douro e do Porto.

*** Ver referência bibliográfica ⁽¹⁶⁾

**** Ver referência bibliográfica ⁽¹⁷⁾

Importância dos metais pesados nos vinhos

Os metais pesados e elementos traço representam nos vinhos um importante papel. Se por um lado estão envolvidos nas suas particularidades higiénicas, actuando sobre a sua estabilidade, cor e claridade, por outro lado fornecem um valioso contributo para as suas características organolépticas.

Para além da sua relevância a nível da Segurança Alimentar, visto que alguns dos elementos metálicos apresentam um risco toxicológico assinalável quando estão presentes em quantidades excessivas, a determinação dos metais no vinho é considerada de enorme interesse, pois, parece ser possível, através da sua quantificação, a definição de uma “impressão digital” para cada um deles, tendo vantagens óbvias na certificação da denominação de origem do produto. Esta particularidade deve-se ao facto da composição do vinho ser fortemente influenciada pelas propriedades específicas da área de produção (castas utilizadas, solo, clima, e técnicas de vinificação) ⁽¹⁸⁾.

OBJECTIVOS

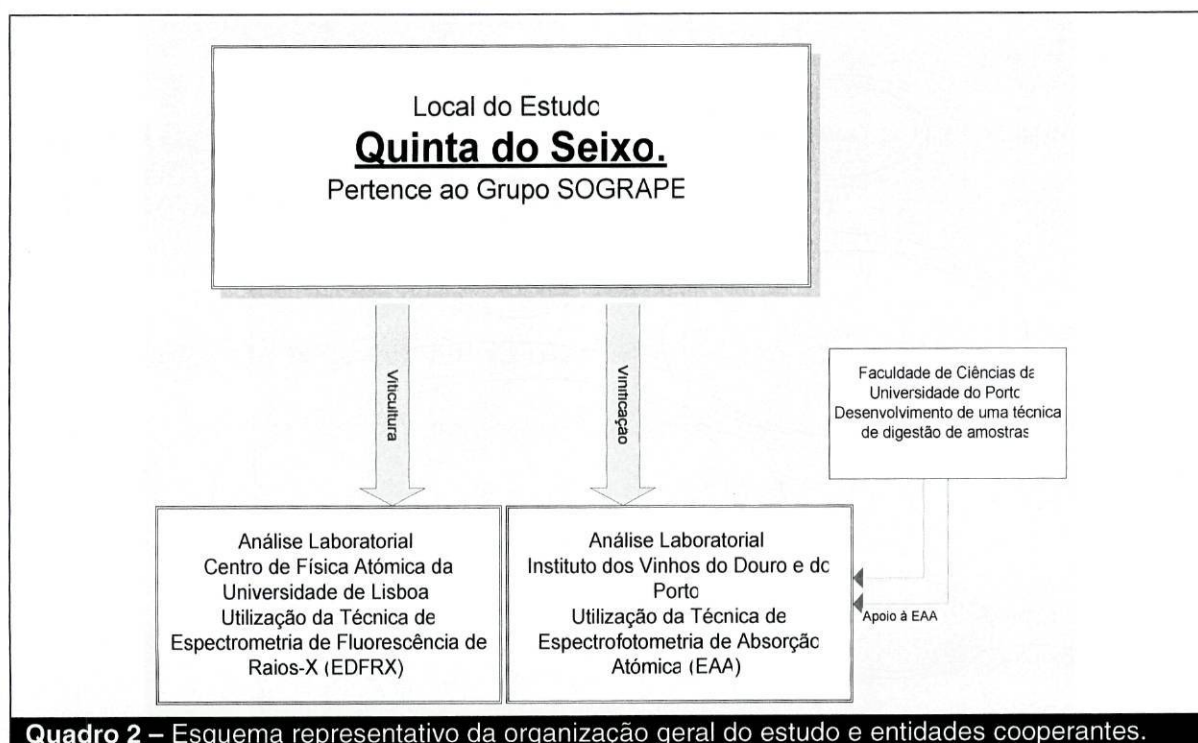
O presente trabalho de investigação pretende contribuir para o desenvolvimento do conhecimento sobre os níveis de metais pesados e outros elementos metálicos na produção de vinhos, ousando, desta forma, colaborar para o avanço da ciência na área da Indústria e Qualidade Alimentar. Tendo como base de estudo um vinho de mesa produzido na Região Demarcada do Douro, tem como objectivos:

- Determinar e quantificar os níveis de metais pesados e elementos traço ao longo de toda a linha de produção. Na viticultura (solo, folhas e uvas): K, Ca, Fe, Cu, Zn, Rb, Sr, Pb, Mn, Ti, Co e Br. Na vinificação: Pb, Cd, Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, Na, K e Mg.
- Caracterizar a matriz metálica do solo, folhas e uvas que estão na origem da produção do vinho de mesa analisado;
- Avaliar a evolução dos teores dos elementos considerados ao longo do processo de envelhecimento/maturação do vinho;
- Relacionar o processo de vinificação utilizado e suas condições tecnológicas, com os níveis de metais pesados e elementos traço encontrados;
- Comparar os teores de metais pesados e elementos traço encontrados em estudo com as imposições legais e/ou recomendações em vigor a nível comunitário.

MATERIAIS E MÉTODOS

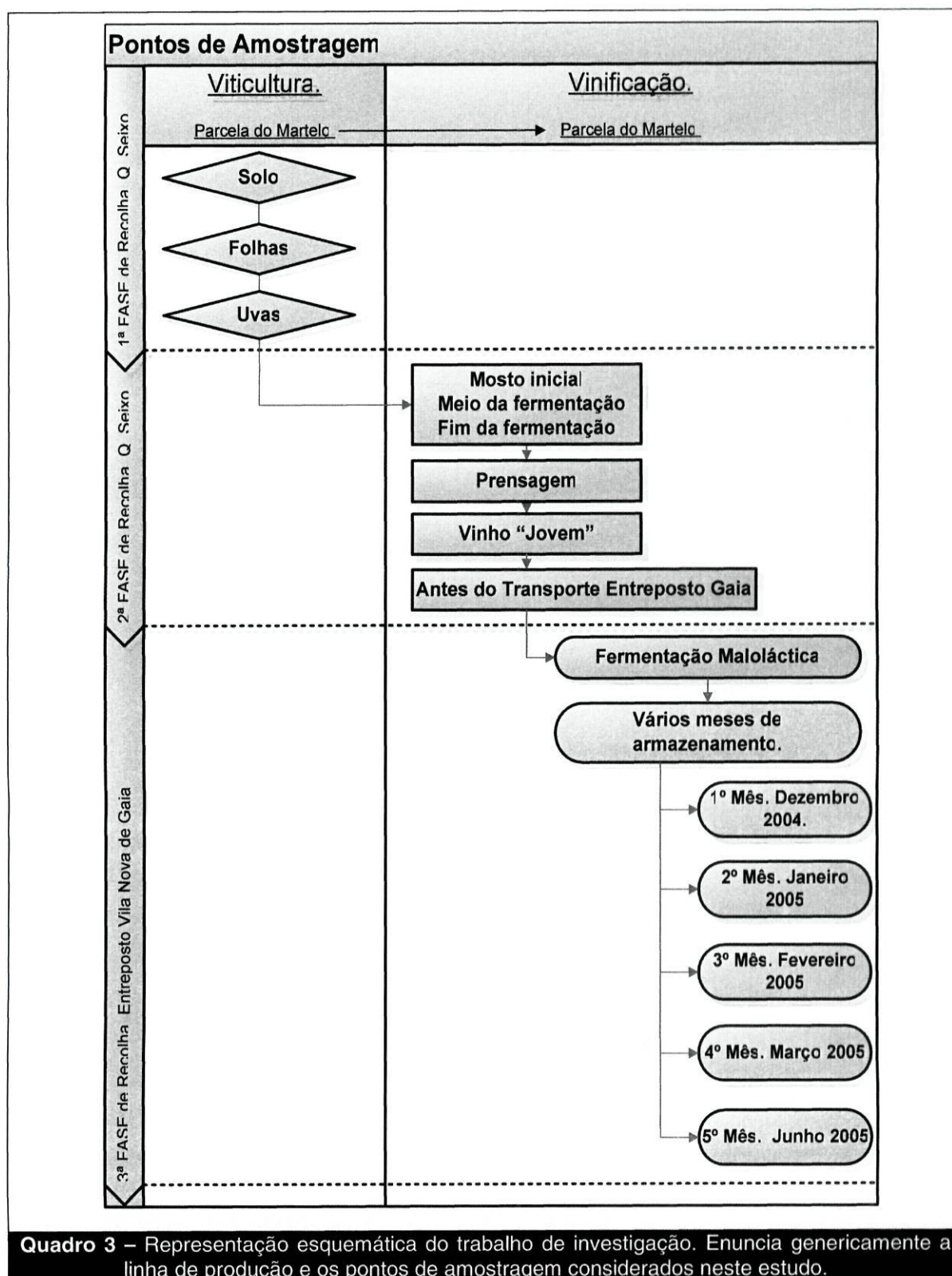
O trabalho de investigação consistiu na determinação e quantificação de metais pesados e elementos traço em toda uma linha de produção de um vinho da Região Demarcada do Douro. O conceito de linha de produção engloba duas etapas distintas: a viticultura e a vinificação. Enquanto que a viticultura se prende com a produção e tratamento do solo, planta (videira) e uvas, a vinificação refere-se à produção de vinho, englobando os vastos fenómenos químicos inerentes ao processo de fabrico, bem como as diferentes operações tecnológicas aplicadas de modo a obtermos um produto final com as características desejadas.

O estudo realizou-se na Quinta do Seixo, onde foi possível rastrear todo o processo produtivo de forma exemplar, desde a viticultura até ao final da vinificação (excluindo últimas operações de acabamento e engarrafamento) (*anexo 2*). O projecto de investigação envolveu a cooperação de várias entidades, conforme demonstrado no quadro 2.



Recolha de amostras

Dadas as características particulares ao nível de produção do vinho em estudo, o procedimento de recolha de amostras exigiu uma estruturação e organização adequadas, conforme explícito no quadro 3.



Regras da recolha de amostras: todo o material que entrou em contacto com as amostras era de plástico (poliuretano). As amostras foram prontamente identificadas após colheita.

1ª Fase de Recolha – As amostras de solo, folhas e uvas, foram recolhidas em simultâneo. As amostras das folhas e uvas foram retiradas da mesma planta. As amostras de solo, foram retiradas a 10 cm de profundidade, e numa quantidade aproximada de 500 g.

2ª Fase de Recolha – As amostras foram imediatamente congeladas após colheita, de forma a evitar a ocorrência de alterações indesejáveis nas mesmas.

3ª Fase de Recolha – As amostras foram recolhidas no Entrepasto de Gaia, após transporte da Quinta do Seixo. Foram igualmente congeladas após colheita.



Parcela do Martelo			
Área	35.760 m ²		
Vinha	<i>Vitis vinifera</i>		
Casta plantada	Touriga Nacional		
Condições do terreno antes da plantação	Tinha já plantada uma vinha velha, a qual foi removida para nova plantação.		
Ano de plantação da vinha	1997		
Ano de início de produção	1999		
Altitude dos pontos de recolha de amostras.	Ponto 1: 98,62 m	Ponto 2: 105,15 m	Ponto 3: 136,46m
	Ponto 4: 160,40 m		Ponto 5: 173,45 m

Tabela 3 – Características das Parcelas de terreno estudadas.

Em relação à viticultura, os elementos foram determinados e quantificados utilizando a técnica de Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X Dispersiva em Energia (EDFRX), localizada no Centro de Física Atómica da Universidade de Lisboa (CFAUL). A parcela de terreno estudada – Parcela do Martelo – visava a produção de vinho de mesa tinto. As características desta parcela da Quinta do Seixo eram as mais adequadas à vinificação e produção de vinhos de mesa (tabela 3). A parcela de terreno apenas apresentava plantada uma mancha varietal, a Touriga Nacional, a qual foi utilizada unicamente para produzir um vinho monástico VQPRD. Foram assim analisadas diferentes amostras de solo, folhas e uvas na Parcela do Martelo. Os locais de recolha das amostras foram estabelecidos de forma a se recolherem amostras a diferentes altitudes dentro da parcela, uma vez que o solo foi modificado para plantação da vinha, nas operações de surriba e reconstrução de socacos (figura 2).

Em relação à vinificação, os elementos foram quantificados através da técnica de Espectrofotometria de Absorção Atómica (EAA), no Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto (IVDP). Os pontos de amostragem considerados foram designados devido à sua importância no processo de vinificação. O estudo restringe-se à produção do vinho que tem por base as uvas da Parcela do Martelo, pois são as mais adequadas à vinificação e produção de vinhos de mesa. Esta particularidade deve-se quer às propriedades do solo da parcela, quer às condições climáticas, nomeadamente a duração da exposição solar e outros agentes erosivos (vento e chuva), a que a mesma está sujeita (figura 2, tabela 3).

Técnicas Laboratoriais

Neste trabalho de investigação foram utilizadas três técnicas laboratoriais distintas. Para a análise das amostras da viticultura utilizou-se a Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X Dispersiva em Energia (EDFRX), a qual detecta e quantifica simultaneamente todos os elementos presentes na amostra. No entanto, devido a dificuldades que se prendem com a análise de amostras líquidas, as amostras da vinificação foram analisadas por Espectroscopia de Absorção Atómica (EAA), mais especificamente por EAA em forno de câmara de grafite para o Pb e Cd (expressos em µg/l), e por EAA com chama para o Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, Na, K e Mg (expressas em mg/l). Uma terceira técnica foi ainda desenvolvida e utilizada (Técnica de Digestão de Amostras) na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP). O objectivo era permitir uma adequada análise das amostras de mosto inicial e mosto meio da fermentação por EAA, dada a sua heterogeneidade provocada por partículas em suspensão (películas e grânhas de uvas) características da etapa em questão do processo de vinificação.

Viticultura. Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X (EDFRX)

A análise por fluorescência de raios X é um método de análise elementar qualitativo e quantitativo que se aplica à identificação de praticamente todos os elementos (massa atómica superior a 13) ⁽¹⁹⁾. O princípio do método é muito simples. Utiliza-se uma fonte de radiação X para ionizar os níveis internos dos átomos constituintes da amostra. Na reorganização do átomo e regresso ao estado fundamental, estes átomos podem libertar o excesso de energia através da emissão de um fóton X, de energia igual à diferença de energia de ligação dos

níveis entre os quais se deu a transição ^(20, 21). Esta radiação é característica do elemento. As radiações X emitidas são detectadas e analisadas sendo as suas intensidades posteriormente convertidas em concentrações dos elementos presentes na amostra. Trata-se de uma técnica não destrutiva e que a maior parte dos casos não necessita de qualquer preparação prévia da amostra, permitindo ainda a detecção simultânea dos diferentes elementos constituintes da amostra. *(fundamento aprofundado da técnica em anexo 3).*

O espectrómetro utilizado neste trabalho de investigação encontra-se instalado no Centro de Física Atómica da Universidade de Lisboa (CFAUL) *(anexo 3)*. No equipamento utilizado, o tubo de raios X consiste numa ampola comercial *Phillips* PW 184 com ânodo de tungsténio, janela de berílio, com 13,3 mm de diâmetro e 1000 mm de espessura. O tubo é alimentado por um gerador de tensão *Phillips* PW 140 com potência de 3000 W correspondendo a um valor máximo de 100 keV e 80 mA de intensidade de corrente eléctrica. A radiação emitida após ionização da amostra é detectada num detector de Si(Li) de elevada resolução. Associado ao detector existe um processador de impulsos com rejeição de empilhamento de picos incorporado. Os espectros são registados com uma placa multicanal (*Nucleus PCA II*) inserida num computador, que são guardados na memória do computador e posteriormente analisados.

Procedimento experimental da técnica de EDFRX

A – Preparação das amostras

1. Amostras

- Solo – As amostras de solo foram peneiradas recorrendo a um crivo com uma malha de 15 µm de diâmetro.

- Folhas – As folhas foram colocadas numa estufa a 30°C, durante 24h, de forma a ficarem desidratadas. Foram analisados o limbo e pecíolo das folhas em conjunto.
 - Uvas – As uvas foram liofilizadas a – 45°C e à pressão de 10^{-1} atm, durante 48h, de forma a evitar a decomposição orgânica e a volatilização de alguns elementos. O engaço do cacho das uvas foi rejeitado.
2. Com a ajuda de um almofariz, as amostras foram de seguida reduzidas a pó e guardadas em recipientes de plástico num exsicador evitando a re-hidratação das mesmas.
 3. Procedeu-se à elaboração de pastilhas de amostras: colocou-se uma pequena quantidade de amostra entre dois cilindros de tântalo que se encontram dentro de um suporte. Este funciona como molde das pastilhas. Depois foi colocado numa prensa *GRASEBY Specac*, onde a amostra foi prensada à pressão de 10 Torr, formando uma pastilha circular de 2 cm de diâmetro.
 4. Cada pastilha foi colocada num suporte de diapositivos de 50x50 mm, colada a uma película *Mylar*. A escolha destes materiais deveu-se ao facto de terem um baixo número atómico, não sendo assim detectada a sua radiação característica. Fizeram-se quatro pastilhas de cada amostra de modo a reduzir o erro de análise. Cada suporte foi identificado com o código da amostra.

B – Análise das Amostras por EDFRX.

1. Programou-se o gerador de Raios-X para operar a 50 KeV e a uma intensidade de 20 mA.
2. Cada diapositivo com a pastilha de amostra foi colocado no espectrómetro, e procedeu-se de acordo com as indicações do fabricante, tendo-se definido como tempo de aquisição 1000s.

Vinificação. Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA)

A Espectrofotometria de Absorção Atômica trata do estudo da absorção da energia radiante nas zonas do visível e ultravioleta dos átomos no estado gasoso ⁽²²⁾. Define-se a região ultravioleta-visível como o conjunto de radiações associado à absorção na banda de 190 a 800 nm do espectro. A EAA é um processo físico que mede a absorção de radiação electromagnética pelos átomos livres de um elemento, radiação essa de comprimento de onda específico desse elemento. De facto, quando um vapor atômico é iluminado por um feixe de energia radiante apropriado, o átomo no estado fundamental absorve um fotão e a energia deste produz uma transição electrónica do estado fundamental para um estado excitado ⁽²³⁾. É uma técnica que apresenta uma elevada sensibilidade, o que a torna particularmente conveniente para a análise de micro elementos ou elementos vestigiais, presentes como componentes da amostra ou como impurezas. Os elementos metálicos e semi-metálicos têm electrões de valência fracamente ligados ao núcleo, podendo ser excitados por fotões de comprimento de onda na região do ultravioleta e visível ⁽²⁴⁾. A EAA pode ser com ou sem chama, sendo neste caso, por exemplo, utilizada uma câmara de forno de grafite (atomização electrotérmica).

O sector de Análise Mineral do Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto possui o equipamento de EAA utilizado neste trabalho de investigação. Na espectrofotometria de absorção atômica com câmara de forno de grafite (EEACG), foi usado um espectrofotómetro da *Perkin Elmer* (modelo AA600) (tabela 4). Na espectrofotometria de absorção atômica com atomização por chama (EEAC), o equipamento era um *Solaar* (série M) (tabela 4). A EEACG é o método de referência para a determinação de Pb e Cd, enquanto que a EEAC é a

metodologia de referência para a determinação de Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, K e Mg ⁽²⁵⁾.

Procedimento Experimental da Espectrofotometria de Absorção Atômica

Para a realização da EAA foi aplicado o método interno do IVDP para a determinação de elementos metálicos nos vinhos. Este método foi adaptado a partir de referências como o *Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins et des Moûts* (OIV, Junho de 1990), e o Regulamento (CEE) n.º 2696/90 da Comissão de 17 de Setembro de 1990, que determina os métodos de análise comunitários aplicáveis ao sector do vinho (Jornal Oficial das Comunidades Europeias, L272, 1990-10-3).

Elemento	Pb	Cd	Cu	Fe	Mn
λ (nm)	283,3	228,8	324,8	248,3	279,5
Largura da fenda do monocromador (mm)	0,7	0,7	0,5	0,2	0,2
Voltagem da lâmpada (mA)	10	4	4	11	8
Coeficiente de correlação (n=4)	0,99968	0,99981	1,0000	1,0000	0,9999
Limite de quantificação	3 µg/l	0,025 µg/l	0,05 mg/l	0,1 mg/l	0,1 mg/l
Valor mínimo quantificável	12 µg/l	0,5 µg/l	0,2 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l
Elemento	Zn	Ca	Na	K	Mg
λ (nm)	213,9	422,7	589,6	404,4	285,2
Largura da fenda do monocromador (mm)	0,5	0,5	0,2	0,5	0,5
Voltagem da lâmpada (mA)	8	5	6	8	5
Coeficiente de correlação (n=4)	1,0000	0,9998	0,9999	1,0000	0,9999
Limite de quantificação	0,1 mg/l	0,5 mg/l	0,2 mg/l	10 mg/l	2 mg/l
Valor mínimo quantificável	0,4 mg/l	10 mg/l	4 mg/l	200 mg/l	20 mg/l

Tabela 4 – Condições laboratoriais da Espectrofotometria de Absorção Atômica utilizadas neste trabalho de investigação.

Técnica de Digestão de Amostras

A Técnica de Digestão de Amostras foi desenvolvida na FCUP.

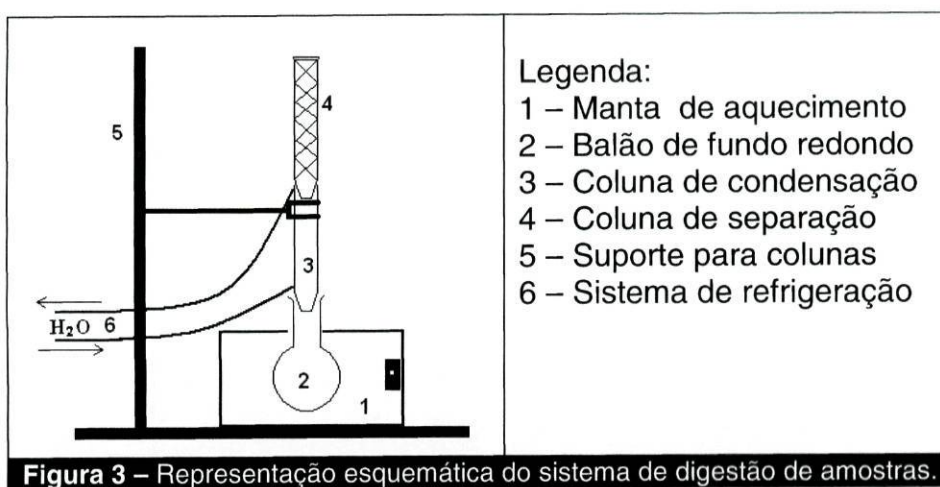
Procedimento experimental da Técnica de Digestão de Amostras

A – Material Utilizado: coluna de condensação, coluna de separação, balão de fundo redondo de 100ml, manta de aquecimento, suporte para balões, suporte para colunas, micropipeta de 1ml e pipeta de 5ml (±0,03 ml).

B – Reagentes utilizados: Peróxido de hidrogénio (H_2O_2) a 30% da *Fluka* e ácido nítrico (HNO_3) ultra-puro a 65% da *Merck*.

C – Digestão das amostras:

1. Construiu-se o sistema conforme demonstrado na figura 3.
2. Colocou-se no balão: 20ml de amostra, 20ml de H_2O_2 e 0,8ml de HNO_3 .
3. Colocou-se o balão na manta de aquecimento, e levou-se à ebulição controlada durante 60 minutos. Posteriormente, retirou-se o balão da manta de aquecimento, e deixou-se arrefecer durante 30 minutos, ainda com todo o sistema montado.



Nota: Dada as características da técnica utilizada, a EDFRX, os valores dos elementos quantificados são em $\mu\text{g/g}$ de peso seco, não sendo possível calcular os respectivos teores nas amostras em peso fresco.

Em todas as técnicas laboratoriais anteriormente descritas, os materiais e equipamentos utilizados encontravam-se devidamente inspeccionados e calibrados, e sob a responsabilidade dos técnicos dos laboratórios. No caso específico da EAA, o sector da análise mineral do Laboratório do IVDP, e os métodos utilizados na determinação dos diferentes elementos metálicos estudados, encontram-se devidamente acreditados.

RESULTADOS

Viticultura

Solos

		K	Ca	Ti	Mn	Fe
Unidades		µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*
Parcela do Martelo	Solo 1	4848,4 ± 697,2	2020,7 ± 306,4	974,2 ± 129,5	295,9 ± 28,1	15541,4 ± 880,3
	Solo 2	5113,2 ± 490,9	2116,5 ± 219,9	1029,1 ± 69,5	273,9 ± 20,4	15488,8 ± 815,5
	Solo 3	6583,6 ± 962,1	2469,2 ± 415,5	1397,2 ± 189,4	320 ± 38,7	19345,9 ± 1112,6
	Solo 4	4704,2 ± 1363,6	2173,3 ± 714,8	859,2 ± 176,0	309,5 ± 46,3	13822,6 ± 2227,5
	Solo 5	4919,0 ± 199,6	2578,9 ± 143,1	1215,5 ± 41,0	167,2 ± 7,0	15312,9 ± 416,0

Tabela 5 – Concentrações de K, Ca, Ti, Mn e Fe no Solo, obtidas por EDFRX.

*d.p. desvio padrão, n = 4.

		Co	Cu	Zn	Rb	Sr	Pb
		Unidades	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*
Parcela do Martelo	Solo 1	124,5 ± 4,7	31,9 ± 3,4	55,6 ± 5,1	141,3 ± 3,9	226,6 ± 1,5	37,1 ± 1,6
	Solo 2	122,4 ± 10,3	35,5 ± 2,8	49,1 ± 4,0	124,5 ± 3,3	213,1 ± 2,9	36,7 ± 1,9
	Solo 3	151,8 ± 9,2	24,3 ± 4,2	52,0 ± 1,3	121,7 ± 2,5	220,7 ± 2,5	33,6 ± 0,8
	Solo 4	108,5 ± 12,1	28,4 ± 2,9	45,8 ± 5,2	127,3 ± 12,6	225,5 ± 29,7	33,9 ± 2,6
	Solo 5	119,3 ± 6,8	29,6 ± 2,5	45,6 ± 1,8	92,6 ± 0,9	254,4 ± 6,1	36,2 ± 1,4

Tabela 6 – Concentrações de Co, Cu, Zn, Rb, Sr e Pb no Solo, obtidas por EDFRX.

*d.p. desvio padrão, n = 4.

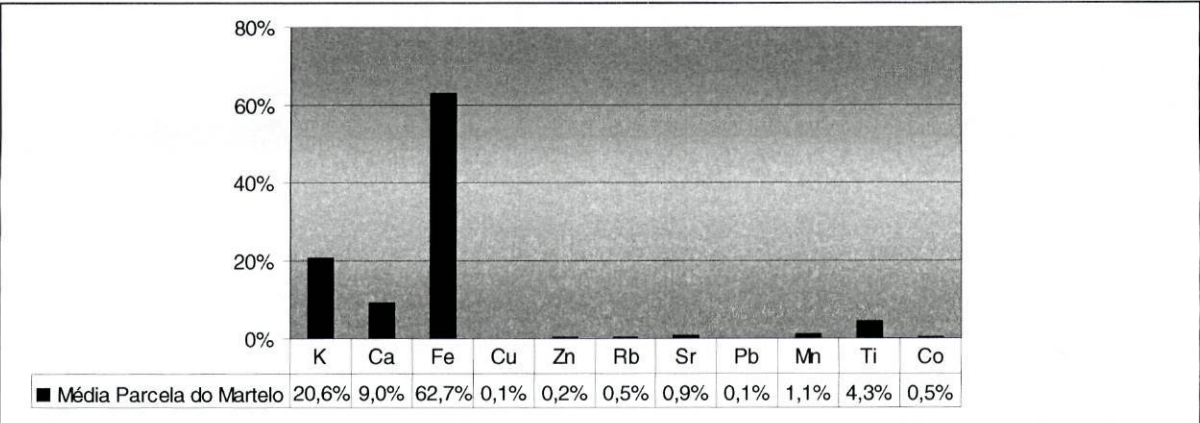


Gráfico 3 – Percentagem dos elementos metálicos na constituição do Solo.

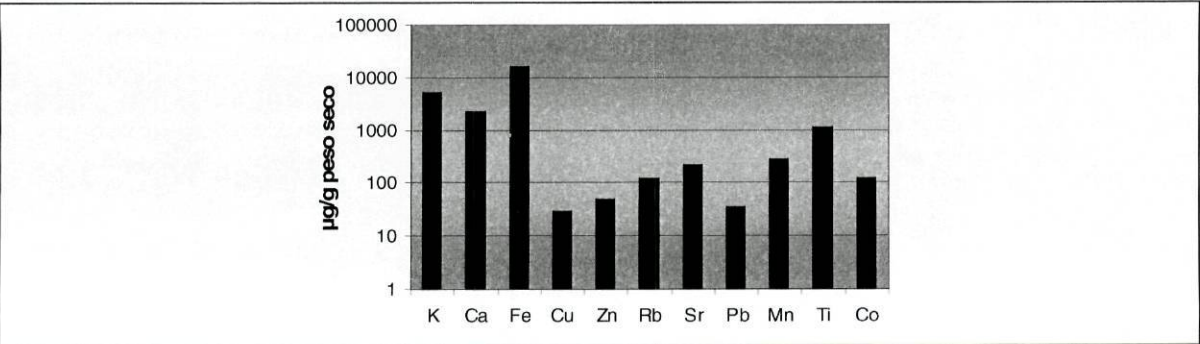


Gráfico 4 – Concentração média dos elementos metálicos no Solo. Nota: Escala logarítmica.

Folhas

		K	Ca	Mn	Fe	Cu
		µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*
Parcela do Martelo	Unidades					
	Folhas 1	3110,1 ± 286,9	24409,6 ± 2342,8	193,6 ± 19,6	343,3 ± 43,4	9,5 ± 0,6
	Folhas 2	6674,9 ± 641,1	15299,2 ± 398,0	196,3 ± 17,9	415,4 ± 61,4	7,6 ± 1,0
	Folhas 3	2918,0 ± 203,8	19991,6 ± 1963,2	119,6 ± 14,2	648,9 ± 97,2	8,6 ± 0,3
	Folhas 4	6727,4 ± 1210,6	15309,1 ± 2686,6	199,2 ± 26,9	354,0 ± 112,0	7,6 ± 2,2
	Folhas 5	5801,8 ± 440,9	22509,2 ± 1562,1	160,8 ± 34,6	287,2 ± 45,9	7,9 ± 1,2

Tabela 7 – Concentrações de K, Ca, Mn, Fe e Cu nas Folhas, obtidas por EDFRX.

*d.p. desvio padrão, n = 4.

		Zn	Br	Rb	Sr	Pb
		µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*
Parcela do Martelo	Unidades					
	Folhas 1	15,1 ± 1,3	3,0 ± 0,4	7,7 ± 0,2	452,3 ± 7,7	7,6 ± 1,0
	Folhas 2	20,8 ± 1,0	5,4 ± 1,0	12,7 ± 0,4	240,2 ± 6,3	7,3 ± 1,2
	Folhas 3	15,4 ± 1,6	1,7 ± 0,4	5,9 ± 0,2	261,2 ± 3,0	6,2 ± 1,0
	Folhas 4	15,9 ± 1,3	5,2 ± 0,6	13,8 ± 0,4	263,9 ± 4,5	7,7 ± 1,0
	Folhas 5	17,9 ± 3,4	6,4 ± 0,7	9,4 ± 0,6	307,2 ± 3,7	6,5 ± 0,9

Tabela 8 – Concentrações de Zn, As, Br, Rb, Sr e Pb nas Folhas, obtidas por EDFRX.

*d.p. desvio padrão, n = 4.

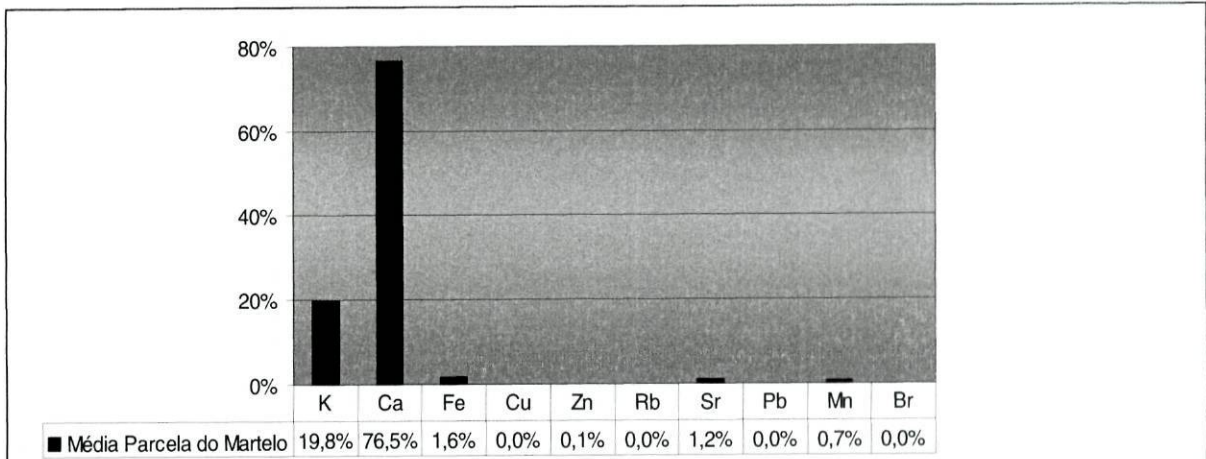


Gráfico 5 – Percentagem dos elementos metálicos na constituição das folhas.

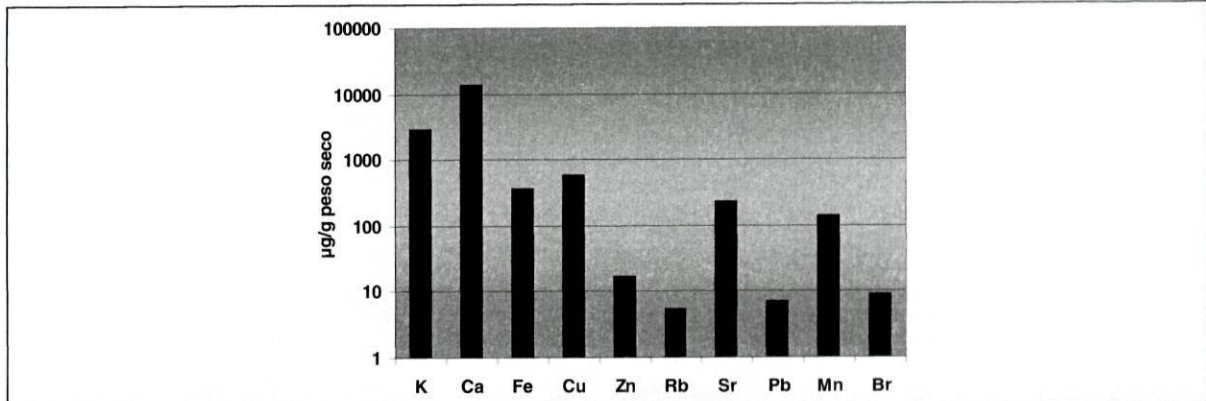


Gráfico 6 – Concentração média dos elementos metálicos nas folhas. Nota: Escala logarítmica.

Uvas

		K	Ca	Fe	Cu
		µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*
Parcela do Martelo	Unidades				
	Uvas 1	5589,6 ± 146,2	1024,7 ± 241,6	63,9 ± 5,2	10,8 ± 1,7
	Uvas 2	6120,7 ± 322,8	872,9 ± 146,6	26,3 ± 1,3	8,1 ± 0,9
	Uvas 3	7234,4 ± 408,9	835,6 ± 52,4	22,6 ± 2,2	9,1 ± 0,9
	Uvas 4	5086,5 ± 205,6	1089,2 ± 126,1	16,2 ± 2,1	6,4 ± 1,6
	Uvas 5	4046,0 ± 185,6	1042,9 ± 89,9	19,8 ± 2,0	4,3 ± 0,6

Tabela 9 – Concentrações de K, Ca, Fe e Cu nas Uvas, obtidas por EDFRX.

*d.p. desvio padrão, n = 4.

		Zn	Rb	Sr	Pb
		µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*	µg/g ± d.p.*
Parcela do Martelo	Unidades				
	Uvas 1	4,8 ± 0,7	11,4 ± 0,5	15,7 ± 1,1	5,2 ± 0,5
	Uvas 2	3,4 ± 0,4	21,7 ± 1,7	15,8 ± 2,3	4,7 ± 0,7
	Uvas 3	4,6 ± 0,6	30,0 ± 1,5	23,9 ± 1,6	4,6 ± 0,3
	Uvas 4	5,9 ± 2,0	22,8 ± 1,8	22,9 ± 7,1	5,7 ± 1,5
	Uvas 5	2,7 ± 0,1	15,9 ± 1,9	19,5 ± 0,8	4,1 ± 0,4

Tabela 10 – Concentrações de Zn, Rb, Sr e Pb nas Uvas, obtidas por EDFRX.

*d.p. desvio padrão, n = 4.

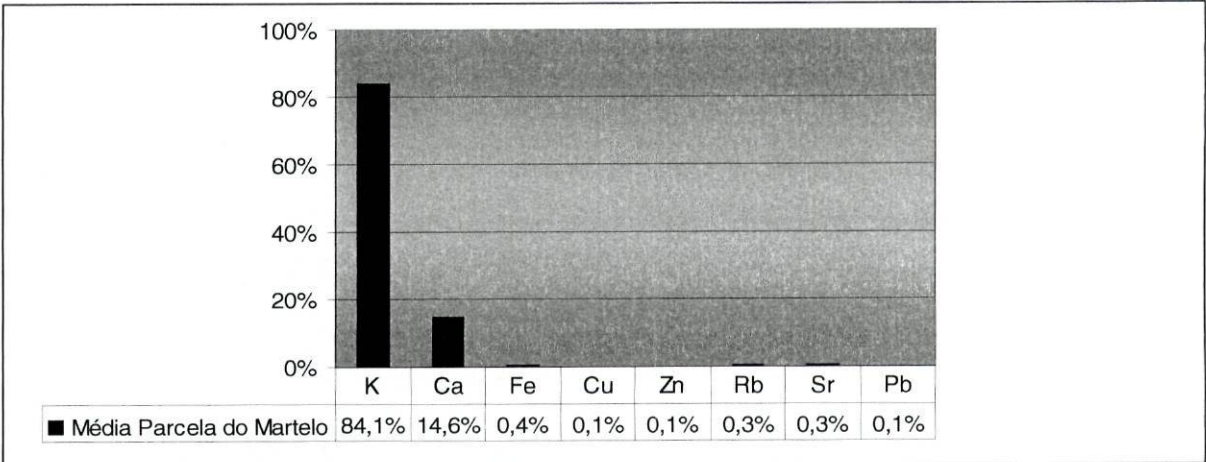


Gráfico 7 – Percentagem dos elementos metálicos na constituição das uvas.

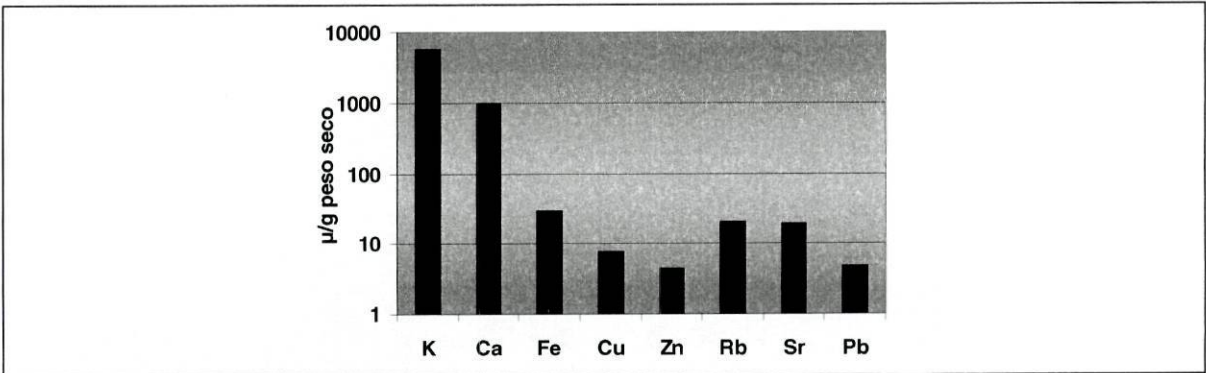


Gráfico 8 – Concentração média dos elementos metálicos nas uvas. Nota: Escala logarítmica.

Evolução dos teores de elementos metálicos ao longo do sistema Solo – Folhas - Uvas

		K	Ca	Fe	Cu
	Unidades	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$
Solo	Média P.M.	$5233,7 \pm 1028,9$	$2271,7 \pm 426,7$	$15902,3 \pm 2185,7$	$29,9 \pm 4,8$
Folhas	Média P.M.	$5046,5 \pm 1833,8$	$19503,8 \pm 4179,7$	$409,8 \pm 146,6$	$8,2 \pm 1,3$
Uvas	Média P.M.	$5615,4 \pm 822,9$	$973,1 \pm 231,5$	$29,8 \pm 17,9$	$7,7 \pm 2,1$

Tabela 11 – Média das Concentrações de K, Ca, Fe e Cu no solo, folhas e uvas.

*d.p. desvio padrão, $n = 20$.

		Zn	Rb	Sr	Pb
	Unidades	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$
Solo	Média P.M.	$49,6 \pm 5,2$	$121,5 \pm 17,2$	$228,1 \pm 18,8$	$35,5 \pm 2,2$
Folhas	Média P.M.	$17,0 \pm 2,8$	$9,9 \pm 3,1$	$304,9 \pm 78,9$	$7,1 \pm 1,1$
Uvas	Média P.M.	$4,3 \pm 1,3$	$20,3 \pm 6,4$	$19,6 \pm 5,4$	$4,9 \pm 0,8$

Tabela 12 – Média das concentrações de Zn, Rb, Sr e Pb no solo, folhas e uvas.

*d.p. desvio padrão, $n = 20$.

		Mn	Ti	Co	Br
	Unidades	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$	$\mu\text{g/g} \pm \text{d.p.}^*$
Solo	Média P.M.	$273,3 \pm 63,1$	$1095,0 \pm 228,5$	$125,3 \pm 16,8$	ND**
Folhas	Média P.M.	$173,9 \pm 37,7$	ND**	ND**	$4,3 \pm 1,9$
Uvas	Média P.M.	ND**	ND**	ND**	ND**

Tabela 13 – Média das concentrações de Mn, Ti, Co e Br no solo, folhas e uvas.

*d.p. desvio padrão, $n = 20$.

**ND – Não Detectado.

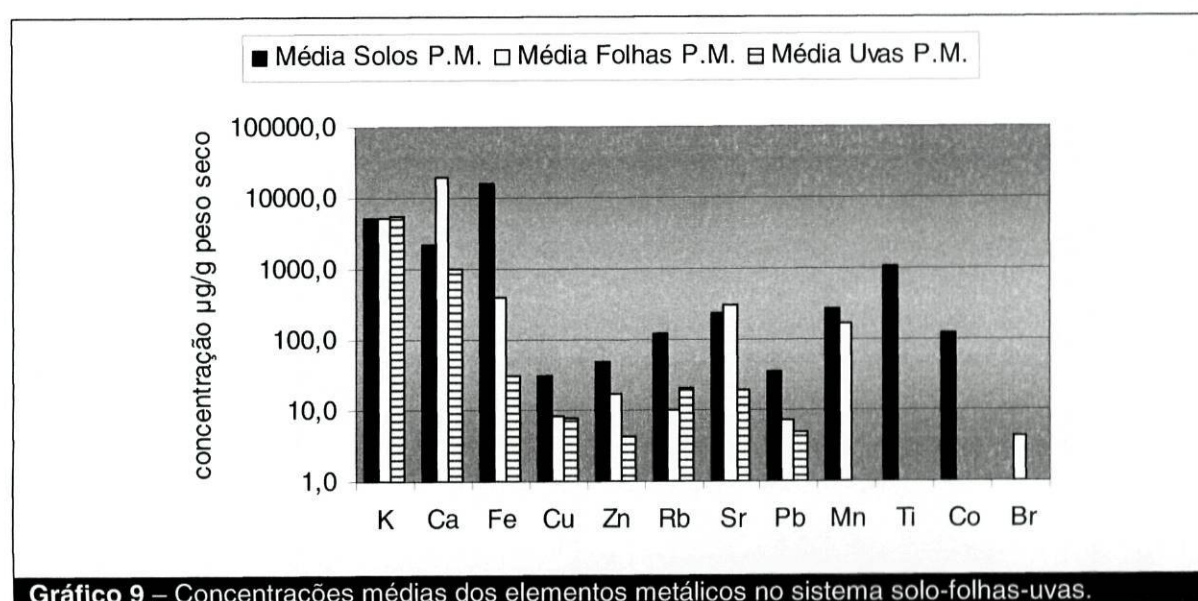


Gráfico 9 – Concentrações médias dos elementos metálicos no sistema solo-folhas-uvas.

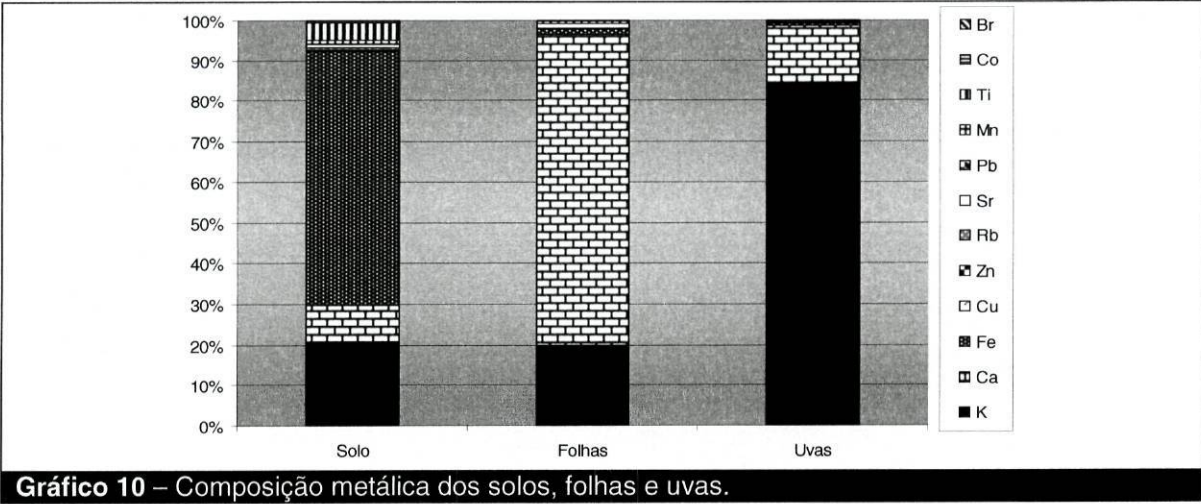


Gráfico 10 – Composição metálica dos solos, folhas e uvas.

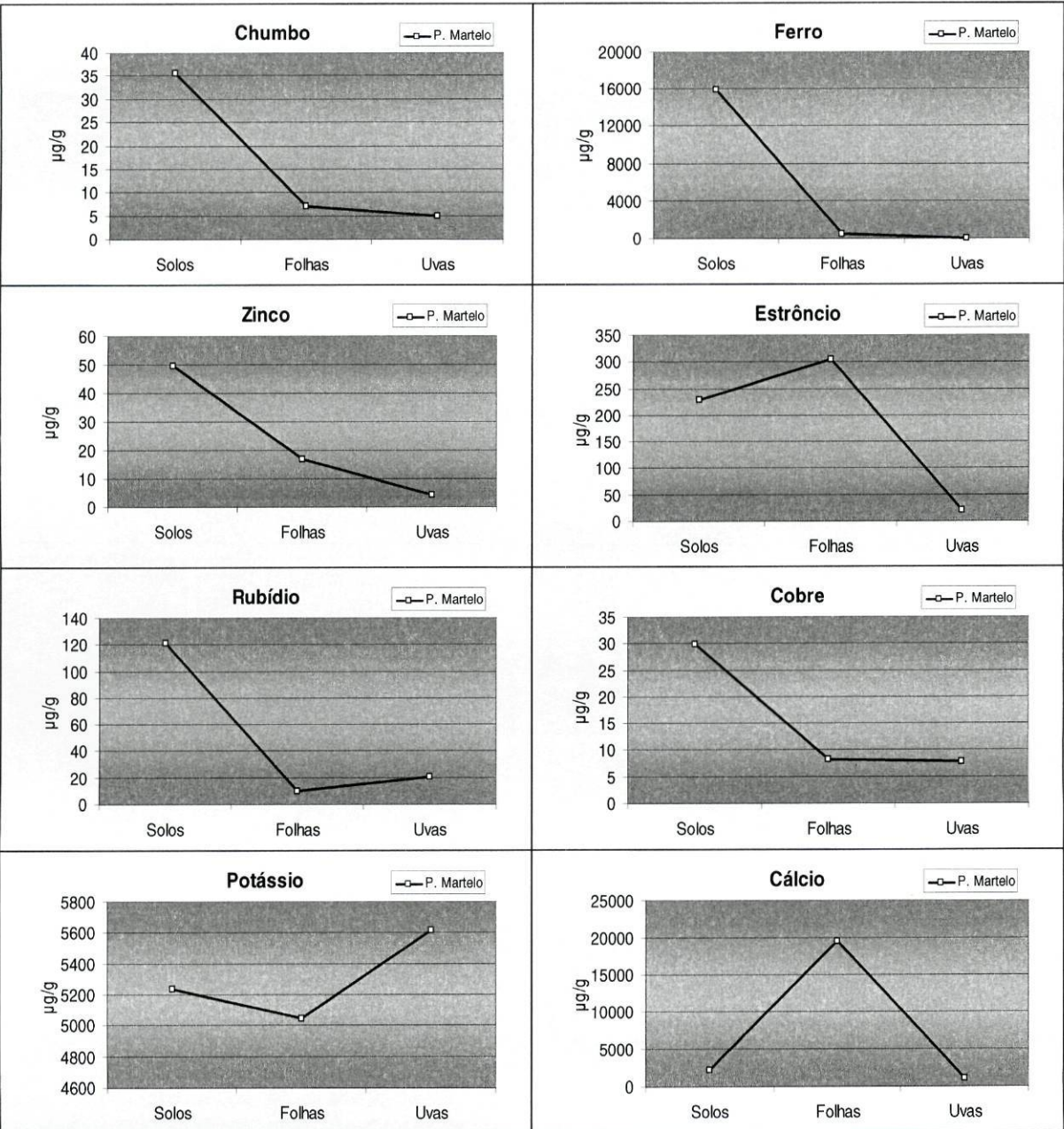


Gráfico 11 – Evolução dos teores dos elementos metálicos ao longo do sistema solo-folhas-uvas.

Vinificação

Espectrofotometria de absorção atômica

O controlo de qualidade dos resultados baseia-se, normalmente, na média aritmética de duplicados ou triplicados. Porém, dadas as características deste trabalho, decidiu-se realizar análises apenas a uma única amostra para cada etapa da vinificação considerada, efectuando duplicados em apenas 10% da sequência de amostras. Assim sendo, na maioria dos casos, os resultados são obtidos pela média aritmética das 3 leituras efectuadas a uma só amostra.

Unidades	EEA Câmara Grafite (EAACG)		EAA por Chama (EAAC)		
	Pb	Cd	Cu	Fe	Mn
	µg/l ± RSD(%)*	µg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*
Mosto Inicial	78 ± 1,31	2,5 ± 4,38	0,5 ± 0,7	4,7 ± 0,4	1,5 ± 0,8
Mosto Meio Fermentação	41 ± 3,10	1,2 ± 10,83	0,5 ± 0,1	8,2 ± 0,3	1,3 ± 0,1
Mosto Fim Fermentação	13 ± 3,11	<0,5**	<0,2**	0,7 ± 1,3	1,4 ± 0,6
Vinho Prensas	15 ± 4,61	<0,5**	0,21 ± 2,6	1,1 ± 1,3	2,1 ± 0,3
Vinho Jovem	<12**	<0,5**	<0,2**	1,1 ± 1,8	1,4 ± 1,4
Antes transporte	13 ± 9,35	<0,5**	<0,2**	1,7 ± 0,5	1,6 ± 0,7
Dezembro	<12**	<0,5**	<0,2**	1,1 ± 0,8	1,4 ± 1,0
Janeiro	<12**	<0,5**	<0,2**	1,1 ± 1,4	1,3 ± 0,9
Fevereiro	<12**	<0,5**	<0,2**	1,3 ± 1,1	1,4 ± 0,7
Março	<12**	<0,5**	<0,2**	1,2 ± 1,0	1,3 ± 0,9
Junho	15 ± 3,78	<0,5**	<0,2**	1,3 ± 1,1	2,4 ± 1,2

Tabela 14 – Concentrações de Pb, Cd, Cu, Fe e Mn nas diferentes etapas da Vinificação.

*RSD(%) – ratio standard deviation, $n = 3$.

** Valor mínimo quantificável.

Unidades	EAA por Chama (EAAC)				
	Zn	Ca	Na	K	Mg
	mg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*	mg/l ± RSD(%)*
Mosto Inicial	0,4 ± 0,1	110 ± 0,3	36 ± 0,1	2404 ± 1,0	125 ± 0,4
Mosto Meio Fermentação	0,5 ± 1,3	106 ± 0,3	28 ± 0,4	2641 ± 0,7	119 ± 0,5
Mosto Fim Fermentação	<0,4**	100 ± 1,0	19 ± 0,7	1303 ± 1,4	129 ± 2,6
Vinho Prensas	0,7 ± 0,8	85 ± 0,6	11 ± 0,4	1208 ± 0,9	132 ± 0,1
Vinho Jovem	<0,4**	97 ± 0,9	19 ± 1,1	1194 ± 0,5	123 ± 2,5
Antes transporte	<0,4**	100 ± 0,4	19 ± 0,5	1122 ± 0,2	124 ± 0,3
Dezembro	<0,4**	95 ± 0,2	18 ± 0,4	1010 ± 0,5	122 ± 0,2
Janeiro	<0,4**	94 ± 0,2	19 ± 0,6	1101 ± 1,7	124 ± 1,0
Fevereiro	<0,4**	93 ± 0,7	18 ± 1,1	1371 ± 0,4	123 ± 1,5
Março	<0,4**	90 ± 0,7	21 ± 1,0	995 ± 1,0	124 ± 2,0
Junho	<0,4**	85 ± 0,2	20 ± 0,8	1054 ± 0,1	124 ± 1,6

Tabela 15 – Concentrações de Zn, Ca, Na, K e Mg nas diferentes etapas da Vinificação.

*RSD(%) – ratio standard deviation, $n = 3$.

** Valor mínimo quantificável.

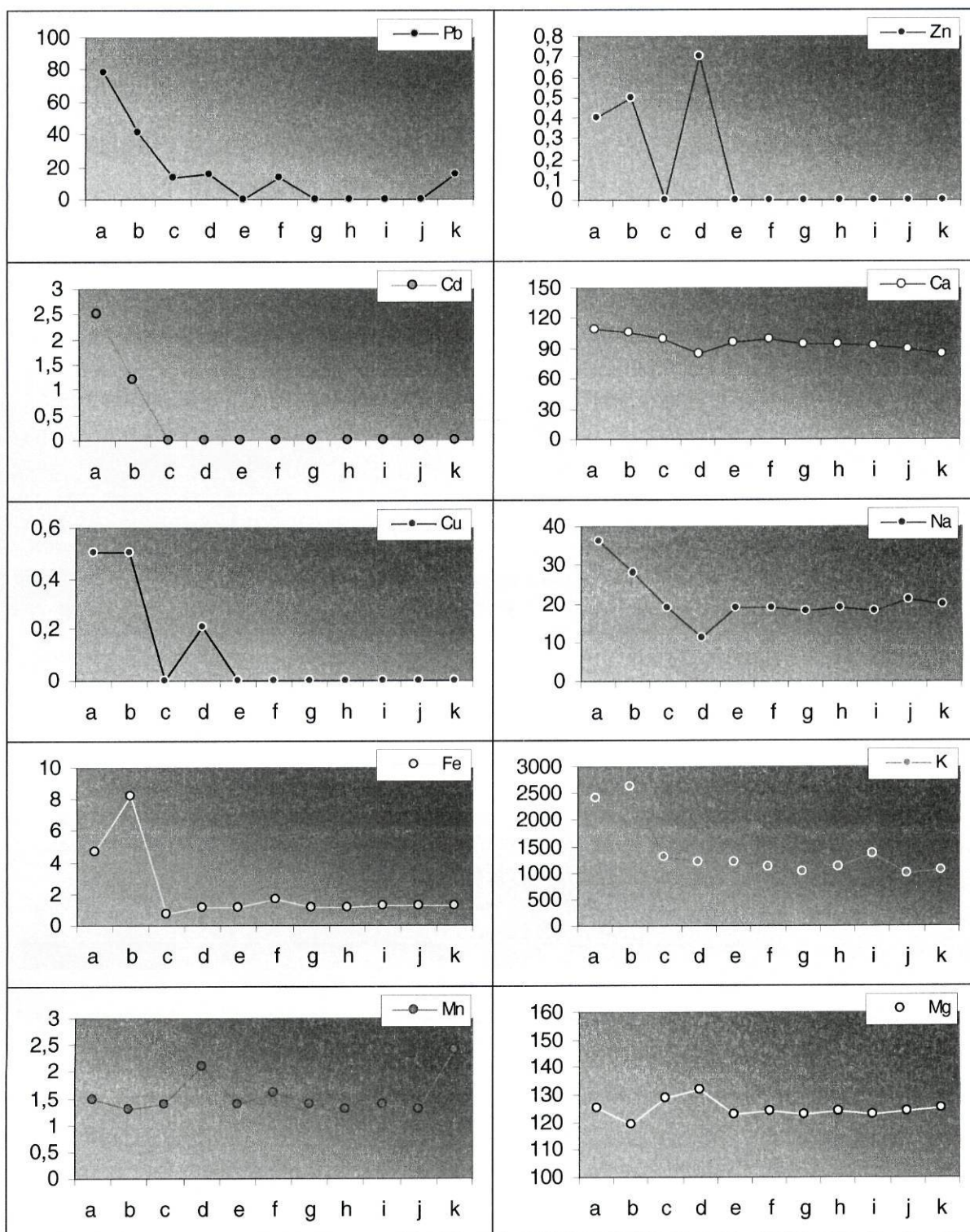


Gráfico 12 - Evolução dos teores de metais pesados e outros elementos metálicos ao longo das principais etapas da Vinificação. Resultados obtidos por EAACG para o Pb e Cd, e por EAAC para o Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, Na, K e Mg.

Legenda eixo X: a – Mosto Inicial; b – Mosto a meio da Fermentação; c – Mosto fim da Fermentação; d – Vinho de Prensas; e – Vinho Jovem; f – Vinho antes do transporte; g – Dezembro; h – Janeiro; i – Fevereiro; j – Março; k – Junho.

Legenda eixo Y: Os valores de Pb e Cd são em µg/l. Nos restantes elementos os valores são apresentados em mg/l.

DISCUSSÃO

Viticultura

Solo

O solo da parcela em estudo (Parcela do Martelo), devido às operações que sofreu para plantação de vinha, não possui uma “identidade” exactamente igual ao solo antes da plantação da nova vinha em 1997. Porém é importante salientar alguns aspectos interessantes. Tal como seria de esperar, o elemento dominante na composição metálica do solo é o ferro (62,7%), seguido pelo potássio (20,6%), cálcio (9%) e titânio (4,3%) (gráfico 3). Importa destacar o facto de as concentrações de cobalto, titânio, chumbo, zinco, cobre e ferro não apresentarem grandes diferenças relativamente aos valores verificados, por Carvalho ML e Gonçalves E., numa outra parcela de terreno da Quinta do Seixo (Parcela do Espinheiro (PE)), podendo concluir-se que estes elementos constituem uma matriz de constituição comum dos solos desta quinta duriense ⁽²⁶⁾. Apesar de os dados relativos a esta segunda parcela (Parcela do Espinheiro) não representarem um objecto de estudo neste trabalho de investigação, constituem um factor importantíssimo de comparação com a Parcela do Martelo (PM), contribuindo para a constatação de algumas conclusões interessantes. Assim, destaca-se ainda a semelhança dos níveis chumbo e cobre em ambas parcelas, o que pode demonstrar as propriedades de bioacumulação do Pb na cadeia trófica e a forte influência da contaminação através do meio ambiente, dada a proximidade geográfica das parcelas de terreno em estudo. Aliás, o conteúdo de Pb nos solos parece estar intimamente relacionado com a contaminação por aerossóis, bem como com os procedimentos de preparação dos solos para

plantação, e essas condições são similares em ambos os terrenos da quinta. O solo da PM apresenta em média 35,5 μg de Pb (tabela 12). Estes valores são concordantes com os verificados noutros estudos efectuados em terrenos vitivinícolas, sendo bastante distintos dos teores encontrados em terrenos localizados próximos de indústrias metalúrgicas (177mg/kg) ^(27, 28).

Os valores de cobre do solo da PM são em média 29,9 μg , o que se aproxima inferiormente dos dados de outros estudos (tabela 11) ^(27,28). Os valores ligeiramente inferiores encontrados na PM podem ser justificados pela jovialidade da vinha, e consequentemente a sua reduzida exposição a tratamentos anticriptogâmicos, pois, estes parecem contribuir para o aumento dos teores de cobre nos solos, verificando-se a sua bioacumulação ao longo dos anos com a aplicação de repetidos tratamentos com caldas cúpricas ⁽²⁹⁾.

Outro aspecto a salientar é o conteúdo de Zn do solo da PM (49,6 $\mu\text{g/g}$), uma vez que, tal como acontece com o cobre, é inferior ao verificado noutros estudos (tabela 12) ^(27, 28).

Folhas

Estudos verificaram que os teores de Pb, Zn e Cd aumentavam progressivamente com o desenvolvimento da folha até à altura da vindima. Os teores de metais pesados eram 2 a 10 vezes superiores no limbo das folhas do que nos pecíolos. Provavelmente esta situação dever-se-á à maior superfície de absorção do limbo, que, desta forma, favorece a acumulação de aerossóis contaminantes.

As folhas em análise incluíram as duas componentes das folhas: o limbo e os pecíolos. Nas folhas da PM, o elemento metálico dominante é o cálcio (76,5%), sendo seguido pelo potássio (19,8%) (gráfico 5). As folhas são componentes da

planta que devido à sua estrutura morfológica podem acumular quantidades apreciáveis de produtos que são aplicados à vinha. Os teores de cobre das folhas da PM são baixos, rondando em média os 8,2 µg/g de peso seco, tendo outros estudos apontado para valores na ordem dos 471 mg/kg nas folhas colhidas antes de se efectuar a vindima (tabela 12). Esta discrepância de resultados já seria de esperar, uma vez que a quantidade de cobre nas folhas é extremamente influenciada pelos tratamentos fitossanitários aplicados (tabela 16), nomeadamente, a concentração, quantidade e altura de aplicação de calda bordalesa (à base de sulfato de cobre). Outras referências bibliográficas referem mesmo que os valores de cobre determinados em folhas são aparentemente aleatórios, dadas as características do tratamento em questão e a facilidade com que o produto aplicado é removido por agentes externos, especialmente com a chuva, baixando os teores de Cu nas folhas progressivamente desde a aplicação do tratamento até à altura da vindima ⁽²⁸⁾. Estudos realizados em folhas de videira mostraram que a lavagem das folhas reduzia significativamente os valores de metais pesados no limbo das folhas (40%) e nos pecíolos (25%) ⁽²⁸⁾.

	Produto aplicado	Técnica de aplicação	Nº Aplicações	Mês
Herbicidas	<i>Mascot</i> 0,800 Lts / 100 L água	Tractores e mangueiras	1	Fevereiro / Março
	<i>Rhodax</i> 0,600 kg / 100 L água	Tractores / Pulverizador	2	Março / Abril
Fungicidas	<i>Thiovit</i> 1 kg / 100 Lts água	Tractores / Pulverizador	2	Julho / Agosto
	Calda Bordalesa (S. Cobre) 4 kg / 300 L água	Tractores / Pulverizador	2	Julho / Agosto
Adubação Foliar	Nitrato de Potássio 4 kg / 300 L água	Tractores / Pulverizador	1	Julho / Agosto
	<i>Promega</i> 0,300 L / 300 L água			

Tabela 16 – Tratamentos fitossanitários aplicados na Parcelas do Martelo na Quinta do Seixo.

A literatura tem vindo a referir uma razão de Cu/Zn nas plantas na ordem dos 0,5 ⁽²⁶⁾. Os níveis médios de Zn nas folhas são 17 µg/g de peso seco, tendo-se verificado 0,48 na razão Cu/Zn, estando assim dentro dos valores normais (tabela 12). O potássio é o segundo maior constituinte da composição metálica das folhas, representando 19,8% (gráfico 5).

Relativamente aos teores de chumbo nas folhas, estas apresentam concentração média de 7,1 µg/g de peso seco (tabela 12). Comparando os valores de Pb encontrados nos solos, obteve-se nas folhas uma redução de 80%. Outra situação que exige algum destaque é o facto das concentrações médias de potássio na PM serem aproximadamente 75% superiores em relação à PE, segundo o estudo de Carvalho ML e Gonçalves E ⁽²⁶⁾. Esta situação poderá estar associada à aplicação de produtos de adubação folicular, como é o exemplo do nitrato de potássio (tabela 16). Ao contrário do que aconteceu nos solos, a técnica EDFRX não detectou titânio e cobalto nas folhas. Já no que concerne ao bromo foi detectado e quantificado unicamente nas folhas, e apenas em pequenas quantidades (4,3 µg/g de peso seco) (tabela 13).

Uvas

As uvas merecem uma atenção especial, visto serem a matéria-prima para a produção de vinho. Independentemente dos valores encontrados nos solos e folhas, as uvas representam, em última instância, o elo final do sistema vitícola. Importa analisar os teores dos elementos presentes, relacioná-los com os teores nos solos e folhas, e construir um suporte para futuras interpretações no processo de vinificação.

Relativamente à concentração de metais pesados nos diferentes constituintes das uvas, está comprovado que a maior parte se acumula no engaço. Estudos relativos à distribuição de Pb na constituição das uvas, com exclusão do engaço, apuraram que o maior conteúdo se verificava nas gráinhas, seguido pela película, sendo os teores mais baixos encontrados na polpa ^(30, 31).

A lavagem das uvas provoca, em média, uma redução dos teores de Pb em cerca de 50%, e no caso do Cu, Zn e Cd aproximadamente de 30% ⁽²⁸⁾.

As quantidades de Pb presentes nas uvas em estudo (4,9 µg/g de peso seco) são ainda mais baixas que as determinadas nas folhas e nos solos, tendo reduzido 31% e 86,9%, respectivamente (tabela 12). Os teores de Zn nas uvas (4,3 µg/g de peso seco) quando comparados com os do solo da PM apresentam-se 91,3% mais baixos, e 74,7% inferiores quando confrontados com os níveis de Zn nas folhas (tabela 11). Qualquer um destes valores é inferior aos encontrados noutros estudos ⁽²⁸⁾. O facto de não se ter incluído o engaço nas análises laboratoriais, por motivos relacionados com as condições operacionais da técnica de EDFRX utilizada, pode estar na origem destes resultados. Por outro lado, o processo de vinificação utilizado na Quinta do Seixo para a produção do vinho em estudo inclui o desengace total, o que contribuiu, certamente, para a atenuação dos níveis de metais pesados e outros elementos traço no produto final.

Contrariamente ao que acontece no solo e folhas, as uvas não apresentaram valores quantificáveis de manganês, titânio, cobalto e bromo. O elemento dominante da sua constituição metálica é o potássio, contribuindo em 84,1% para a sua composição, seguido pelo cálcio com 14,6% (gráfico 7).

Apesar das vinhas serem normalmente submetidas a altas quantidades de sulfato de cobre, contendo elevada concentração de cobre, as uvas em análise apresentam teores de Cu reduzidos, rondando os 7,7 µg/g de peso seco. Este metal é acumulado no solo, e pode ser absorvido pela vegetação. Parece existir uma correlação positiva entre o cobre e a idade da vinha. Na tentativa de minimizar os efeitos nefastos da bioacumulação de cobre nos solos, estudos realizados sugerem que os fungos podem ser úteis no processo de descontaminação de solos, dada a sua capacidade de acumular metais pesados e a facilidade com que sobrevivem em condições ambientais adversas ⁽²⁹⁾.

Influência da altitude na composição metálica de solos, folhas e uvas.

Relativamente à altitude a que foram colhidas as amostras dentro da parcela, não se verificaram grandes variações de valores dos elementos encontrados. Quando estas se manifestam não se consegue estabelecer nenhum padrão de comportamento (*gráficos: a2, a3, a4 do anexo 4*). No entanto, uma situação curiosa prende-se com o facto de os valores de cobre serem sempre mais elevados nos locais situados nos pontos de menor altitude dentro da parcela. (*gráfico a5, anexo 4*). Isto verifica-se no solo, folhas e uvas da parcela. Uma possível explicação poderá dever-se à acentuada inclinação do terreno que facilita o escoamento das águas das chuvas, que arrastam consigo quantidades deste elemento.

Uma outra observação interessante é o facto de os teores de ferro nas uvas, bem como os níveis de rubídio nos solos, aumentarem sistematicamente à medida que baixa a altitude a que se encontra a videira (*gráficos: a6 e a7 do anexo 4*).

Evolução dos teores de elementos metálicos ao longo do sistema solo-folhas-uvas.

É possível constatar que os metais pesados e elementos traço encontrados, de uma forma geral, decrescem à medida que passam dos solos, para as folhas e para as uvas (gráfico 11). Excepção a este cenário parecem ser o cálcio e o estrôncio, que abundam nas folhas por serem constituintes intrínsecos à constituição vegetal, bem como o potássio nas uvas, uma vez que é um elemento típico na constituição dos frutos.

O solo assume então uma importância primordial para a composição metálica da planta (videira) e dos seus frutos (uvas). Análises canônicas mostraram que a principal fonte de metais pesados nas uvas resultava da sua absorção a partir dos solos ⁽²⁷⁾. Os metais pesados derivados antropogenicamente ligam-se facilmente aos componentes do solo e representam a fracção permutável, a qual pode ser removida a partir desse composto em condições ambientais normais. Esta fracção pode ser transportada através do sistema de raízes até à planta, e acumular-se nas suas diferentes partes, incluindo as uvas ^(27, 28). Por sua vez, os valores de Pb, Cd, Zn e Cu na videira dependem significativamente, não só dos valores do solo, mas também da idade das raízes. Os teores mais elevados são estabelecidos nas raízes com diâmetro inferior a 1mm (mais novas). Estes achados demonstram que o principal conteúdo de metais pesados absorvido pelas raízes da videira a partir do solo é fixado e acumulado nas raízes mais novas, e pequenas quantidades, através do sistema condutivo, ficam retidos nas raízes mais largas.

Vinificação

Um dos objectivos deste trabalho prende-se com a quantificação de Pb, Cd, Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, Na, K e Mg durante o processo de vinificação. Para este propósito foram consideradas as etapas de maior interesse, quer por se relacionarem com importantes operações a nível enológico, quer devido às implicações nas características sápidas e higiénicas dos vinhos. Assim, nas tabelas 14 e 15, observam-se os valores dos diferentes elementos obtidas no mosto inicial, mosto a meio da fermentação (entre 10º e 7º Baumé), mosto no fim da fermentação, vinho de prensas, vinho jovem (vinho obtido pela junção do mosto no fim da fermentação com o vinho de prensas), vinho antes do transporte da Quinta do Seixo para as adegas localizadas no Entrepasto de Vila Nova de Gaia, e vinho ao longo de vários meses de envelhecimento/maturação: Dezembro, Janeiro, Fevereiro, Março e Junho.

Como se pode observar no gráfico 12, foi verificado um comportamento diferente para cada elemento ao longo de todo o processo de vinificação. Porém, observam-se determinadas semelhanças em algumas particularidades das etapas de vinificação para certos elementos, as quais advêm de explicações similares. Importa referir que o perfil metálico dos vinhos baseia-se na presença endógena dos elementos enquanto constituintes naturais das uvas e dos cachos, e nas possíveis circunstâncias de contaminação de natureza exógena.

Chumbo

As uvas que serviram de matéria-prima para a elaboração do vinho em análise, apresentaram em média 4,9 µg/g de Pb. Embora considerando a presença de chumbo endógeno nos vinhos, é de facto a sua presença exógena o factor preponderante para a sua contaminação com este metal pesado ⁽⁷⁾. O Pb presente nas uvas possui duas origens distintas: a externa (relacionada com a poluição atmosférica) e a interna (onde a constituição do solo é a principal fonte). A extracção de chumbo para os vinhos proveniente de origem interna depende de parâmetros tecnológicos (respeito pela integridade dos cachos na vindima), químicos (teor alcoólico e acidez do meio) e físicos (temperatura). No processo de vinificação, o chumbo presente na superfície das uvas parece ser solubilizado instantaneamente, enquanto que o chumbo incorporado nas partes internas das uvas (grânhas e polpa) oferece maior resistência. Aliás, analisando a simples migração de Pb do interior das uvas para o meio, parece não haver extracção deste metal, uma vez que não consegue ultrapassar a barreira formada pela película (uva intacta) ⁽³⁰⁾.

Considerando todo o processo de vinificação, observa-se que os teores mais elevados de Pb são encontrados no mosto inicial (78 µg/l), tendo diminuído acentuadamente no mosto a meio da fermentação para 41 µg/l. No fim da fermentação os valores de Pb eram na ordem dos 13 µg/l, o que significa um decréscimo de 83,3% comparativamente ao mosto inicial, e de 68,3% em relação ao mosto no meio da fermentação. Exceptuando o vinho de prensas, vinho antes do transporte e o vinho em Junho, que apresentavam respectivamente, 15 µg/l, 13 µg/l e 15 µg/l, todos os outros pontos de amostragem considerados apresentam valores não quantificáveis (tabela 14).

Cerca de 85% do chumbo total presente nos vinhos está sob a forma de um complexo estável formado por chumbo e ramnogalacturona II (um polissacarídeo péctico das paredes celulares da uva e presentes no vinho sob a forma de dímeros). Estes complexos são muito estáveis ao longo do tempo, não sendo inclusive degradados durante a fermentação. Um explicação para a redução acentuada dos teores de Pb na fermentação é o facto deste precipitar sob a forma de PbS, sendo removido com o depósito pós fermentação. A formação de complexos insolúveis com proteínas presentes no vinho, pode também justificar a remoção parcial deste elemento ^(7, 31).

Diferentes estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* produzem efeitos distintos no conteúdo de Pb nos vinhos. As leveduras, para além de possuírem enzimas pépticas próprias, conseguem produzir polissacarídeos extracelulares que podem ser responsáveis pela atenuação dos teores de Pb. Estes compostos podem modificar o tipo e conteúdo geral de colóides no vinho, particularmente o complexo chumbo-ramnogalacturona II, que é afectado, resultando maior conteúdo de Pb livre, e ficando este disponível para reagir com o sulfito sendo posteriormente removido por fenómenos de precipitação. Paralelamente, pode haver depleção de Pb por mecanismo de bioadsorção às paredes celulares das leveduras ⁽³²⁾.

Um outro aspecto ainda a considerar prende-se com a possibilidade de contaminação por chumbo, em que este é constituinte de compostos orgânicos, de elevada toxicidade, que resultam de processos de bio-metilação, a partir do solo, ou do processo de fermentação ⁽⁷⁾.

Os teores de Pb verificados neste vinho da Região Demarcada do Douro são muito baixos, estando abaixo do limite mínimo quantificável da EAACG (<12 µg/l).

Os valores de Pb são muito variáveis, havendo referências bibliográficas que apontam para valores superiores, como é o caso de vinhos argentinos (85 µg/l nos vinhos tintos) ⁽³³⁾.

Cobre

O conteúdo de cobre nas uvas da parcela do Martelo continham em média 7,7 µg/g. Os valores mais elevados de Cu encontrados na vinificação, 0,5 mg/l, correspondem ao mosto inicial e ao mosto no meio da fermentação, os quais baixam drasticamente no final da fermentação (tabela 14). Posteriormente, as massas vínicas são aproveitadas para a obtenção do vinho de prensas, tendo este apresentado uma média de 0,21 mg/l. O vinho jovem e os restantes pontos analisados apresentam valores de Cu não quantificáveis. Existem vários fenómenos que explicam o decréscimo marcado dos teores de cobre após a fermentação. Um deles é o facto da levedura *Saccharomyces cerevisiae* possuir uma conhecida capacidade bioacumuladora de iões metálicos, incluindo o cobre (II). O outro parece basear-se na formação de complexos de CuS e Cu₂S os quais precipitam e ficam retidos nos depósitos das massas vínicas, sendo removidos do meio. O sulfito de hidrogénio necessário para a formação destes complexos é produzido pelas leveduras durante o processo fermentativo devido à presença de enxofre nas películas das uvas ⁽³¹⁾. A precipitação do cobre é então favorecida pela presença de enxofre e é claramente acelerada com pH e teor de sulfatos elevados, sendo, no entanto, essencial a presença de proteínas. Os teores de cobre verificados nos vinhos a partir do vinho jovem até ao vinho de Junho (<0,2 mg/l) vão ao encontro de outros valores verificados em vinhos ⁽³⁴⁾.

Manganês

Nas uvas em estudo o manganês não foi detectado. No entanto, encontraram-se teores entre 1,3 mg/l e 1,5 mg/l nas amostras relativas ao mosto no início, meio e fim da fermentação. Os seus níveis apresentam-se incrementados no vinho de prensas, sendo em média 2,1 mg/l, bem como nas amostras do vinho em Junho, o qual apresenta o valor máximo averiguado (2,4 mg/l), após ter permanecido com valores quase inalteráveis entre o vinho jovem e o vinho do mês de Março (entre 1,3 mg/l e 1,6 mg/l) (tabela 14).

Existem inúmeras causas que podem estar na origem dos teores de Mn normalmente encontrados nos vinhos. Porém, as que parecem destacar-se são o conteúdo de Mn no solos (resultantes da poluição ambiental e práticas vitícolas) e as técnicas utilizadas na vinificação. O tipo de fermentação parece exercer uma influência significativa no aumento dos teores de Mn, especialmente quando se recorre à mesma tecnologia da maceração carbónica, sendo a fermentação efectuada com uvas inteiras e intactas sob uma atmosfera inerte (dióxido de carbono e azoto). Por sua vez, o envelhecimento aparenta não aumentar os níveis de Mn nos vinhos ⁽³⁵⁾.

Os teores de Mn presentes no vinho em estudo estão enquadrados com os teores de Mn verificados noutros vinhos (0,5 – 2,6 mg/l, para vinhos portugueses) ⁽³⁶⁾.

Zinco

As uvas da parcela do Martelo apresentavam em média 4,3 µg/g de zinco. Os teores de Zn encontrados no mosto inicial e meio da fermentação foram praticamente concordantes, 0,4 mg/l e 0,5 mg/l respectivamente, tendo baixado acentuadamente no fim da fermentação. Tal como observado para outros

elementos, os valores de Zn estão aumentados no vinho de prensas, 0,7 mg/l, devendo-se muito provavelmente ao forte poder de extracção produzido pela força das prensas utilizadas. O vinho jovem e subsequentes apresentam valores muito baixos ultrapassando o limite mínimo quantificável da técnica de EAAC (tabela 15). Assim sendo parece óbvio que, à semelhança do que sucede com outros metais, os níveis de zinco baixaram devido a fenómenos de precipitação e floculação durante o processo fermentativo ⁽³⁷⁾. Simultaneamente, é de considerar as necessidades metabólicas das leveduras utilizadas, onde o Zn é acumulado, sugerindo isto como uma possível explicação para o abaixamento abrupto dos seus níveis do meio para o fim do processo de fermentação ⁽³²⁾.

Os teores de Zn a partir do vinho jovem em estudo encontram-se abaixo do limite mínimo quantificável (<0,4 mg/l). Considerando que os seus valores são inferiores a 0,4 mg/l, estão então em concordância com os resultados obtidos noutros estudos ⁽³⁸⁾.

Ferro

O Fe pode representar um grave problema na estabilidade dos vinhos, quando se encontra em concentrações superiores a 10 mg/l ⁽³⁹⁾.

A concentração de ferro nas uvas depende de vários factores, sendo o mais importante a composição do solo onde foram produzidas. O Fe derivado do solo pode estar presente nos vinhos por duas vias: pela terra que se encontra misturada e aderente às uvas na vindima, ou pela absorção da planta através das raízes ^(7,39). Porém, outros factores podem contribuir para a contaminação exógena de ferro, tal como os materiais dos equipamentos usados na vindima e

na vinificação, e produtos enológicos utilizados na estabilização e conservação dos vinhos ⁽⁷⁾.

O ferro é normalmente encontrado em quantidades apreciáveis nas uvas, possuindo as uvas da parcela do Martelo uma média de 29,8 µg/g de Fe. Analisando os teores de ferro no mosto inicial verifica-se uma concentração de 4,7 mg/l, a qual baixou para 0,7 mg/l no final da fermentação. Curiosamente, o mosto no meio da fermentação teve em acréscimo acentuado dos teores de Fe, chegando a alcançar 8,2 mg/l (tabela 14). Esta situação peculiar pode ser explicada pela possibilidade da ocorrência de reacções de oxidação-redução durante a fermentação alcoólica aumentando desta forma os teores de Fe. No entanto, e não menosprezando os possíveis aumentos de Fe ao longo da fermentação, este processo caracteriza-se essencialmente por uma redução dos seus teores através de precipitação, ficando os precipitados retidos no depósito de massas vínicas pós fermentativo ^(7, 39). O vinho jovem e pontos de amostragem subsequente apresentam valores de Fe ligeiramente superiores ao mosto no fim da fermentação (entre 1.1 mg/l e 1.3 mg/l), apenas com a excepção do vinho antes do transporte, o qual corresponde a 1,7mg/l. Porém, os valores de Fe verificados estão abaixo de outros valores encontrados noutras referências bibliográficas, (4-20 mg/l) ⁽⁷⁾.

Cádmio

Dado os valores normalmente baixos encontrados nas uvas (0,3 µg/kg), a técnica de EDFRX utilizada não permitiu quantificar o Cd nas uvas ⁽³¹⁾. O valor de Cd mais elevado encontrado na vinificação foi precisamente no mosto inicial (2,5 µg/l), tendo reduzido praticamente para metade no mosto a meio da fermentação,

sendo impossível o doseamento a partir do fim da fermentação até ao término das amostras de vinho incluídas no estudo ($<0,5 \mu\text{g/l}$).

O abaixamento marcado dos teores de cádmio ao longo da fermentação parecem estar relacionado com a formação e precipitação de CdS , o qual é favorecido pelo meio redutor e sulfitado na vinificação ⁽⁴⁰⁾.

Os teores de Cd presentes no vinho da última etapa da vinificação analisada ($<0,5 \mu\text{g/l}$) inserem-se no leque de outros valores encontrados na bibliografia ($0,01\text{-}0,95 \mu\text{g/l}$) ^(38, 40, 41). Porém, existem dados recentes relativamente superiores para vinhos argentinos ($3,6 \mu\text{g/l}$) ⁽⁴²⁾. Um dos motivos para o enriquecimento de Cd nos vinhos é a migração secundária de metais pesados por utilização de bentonites antes do engarrafamento, tal como acontece no vinho em estudo, embora, neste caso, não se possam tirar relações porque as amostras analisadas não incluíram o vinho antes do engarrafamento. (*anexo 2*)

Potássio

O potássio é o principal constituinte metálico das uvas, possuindo as da Parcela do Martelo teores médios de $5.615,4 \mu\text{g/g}$ de peso seco. Assim, os níveis de K na vinificação são logicamente mais elevados no mosto inicial e meio da fermentação (2.404 mg/l e 2.641 mg/l , respectivamente), baixando para 1.303 mg/l no fim da fermentação (tabela 15). Este valor vai diminuindo gradualmente até Dezembro, começando a aumentar a partir do mês de Janeiro e atingindo um máximo de 1.371 mg/l no mês de Fevereiro. Curiosamente, teores de K apresentam-se mais baixos no mês de Março (995 mg/l), o que pode ser explicado pelas baixas temperaturas verificadas na região do Douro nessa altura do ano (Fevereiro – Março) provocando precipitações de bitartarato de potássio. A aplicação de

bentonites como agente clarificante provoca uma redução dos teores de K, mas na elaboração deste vinho apenas foram utilizadas antes do engarrafamento ⁽⁴³⁾. Os teores finais de K no vinho analisado (1.054 mg/l) são similares com resultados de outros estudos ^(38, 43).

Sódio

O sódio não foi detectado por EDFRX nas uvas da Parcela do Martelo. No entanto, por EAA, o mosto inicial apresenta valores na ordem dos 36 mg/l, e decresce progressivamente no meio e fim da fermentação (28 mg/l e 19 mg/l, respectivamente) (tabela 15). Contrariamente ao que acontece nos elementos metálicos, o teor de Na é mais baixo no vinho de prensas do que em qualquer das outras etapas da vinificação apreciadas (11 mg/l). O fenómeno de diluição provocado pela incorporação do vinho de prensas para a obtenção do vinho jovem não é apreciável neste caso, pois não se verificaram alterações em relação ao mosto no fim da fermentação (tendo-se mantido praticamente estáveis ao longo de todo o processo). Porém, pode-se ainda considerar uma ligeira alteração dos seus teores do mês de Fevereiro (18 mg/l) para o mês de Março (21 mg/l). A aplicação de bentonites, parece ser um factor considerável de contaminação de Na, embora esse enriquecimento não coloque problemas na qualidade higiénica do vinho, nem se conheçam fenómenos de instabilidade físico-química, pode implicar o incumprimento da legislação em vigor respeitante ao teor de Na excedentário ⁽⁴³⁾.

Os teores descritos na bibliografia são muito dispares, e os valores de Na no vinho estudado encontram-se próximos do limite inferior verificados noutros vinhos ⁽³⁸⁾.

Cálcio

As uvas que serviram de matéria-prima para a produção do vinho analisado possuíam cerca de 973,1 µg/g de peso seco de Ca. O valor do mosto inicial de 110 mg/l baixou para 100 mg/l no fim da fermentação. O vinho de prensas apresenta valores ligeiramente mais baixos (85 mg/l), que associado à baixa percentagem de incorporação para a elaboração do vinho jovem, fazem com que este último tenha valores muito próximos do mosto no fim da fermentação (97 mg/l). Deste ponto até ao vinho de Junho o decréscimo de Ca foi muito reduzido, sendo os teores finais de Ca cerca de 85 mg/l (tabela 15). Estes valores estão enquadrados no limite superior dos teores de Ca encontrados noutros vinhos, inclusivamente nos vinhos do Porto ^(38, 44). É de salientar que teores de Ca superiores a 60 mg/l nos vinhos tintos podem originar perturbações na sua estabilidade devido à precipitação deste elemento sob a forma de tartarato de cálcio ⁽⁴³⁾. Valores aumentados de Ca podem ser o resultado de inadequadas operações de desacidificação de vinhos com a aplicação de, por exemplo, carbonato de cálcio ⁽⁴⁵⁾.

Assim os níveis verificados poderão representar uma preocupação no ponto de vista enológico, mas não do ponto de vista da segurança alimentar.

Os valores finais de Ca encontrados neste vinho tinto da RDD são concordante com outros valores encontrados, por exemplo, em vinhos brasileiros (57,6 – 92,8 mg/l) ⁽³⁶⁾.

Magnésio

Tal como aconteceu com o Cd e o Na, a técnica de EDFRX não conseguiu quantificar os teores de magnésio nas uvas. Da totalidade dos elementos em

estudo, o magnésio é o que apresenta a maior estabilidade de valores ao longo de todo o processo de vinificação. Na verdade, o valor máximo verifica-se no vinho de prensas (132 mg/l) e o valor mínimo verificou-se no mosto a meio da fermentação (119 mg/l). A partir do vinho jovem até ao vinho de Junho a variação foi mínima, tendo os teores variado entre 122 mg/l e 124mg/l (tabela 15). Os valores de magnésio deste vinho tinto da RDD apresenta valores ligeiramente superiores aos descritos na literatura (70 – 115 mg/l, para vinhos italianos) ^(38, 46).

Operações de acabamento nos vinhos

Bentonites

As bentonites são os produtos enológicos mais importantes previstos na lista dos aditivos, adjuvantes e agentes de clarificação para os vinhos, são utilizadas nas operações de colagem e estabilização proteica, sendo úteis para a remoção de sólidos suspensos e na prevenção da turvação e remoção de proteínas sensíveis ^(17, 47). A bentonite é uma argila natural composta por silicatos de alumínio e magnésio hidratados designados por Montmorillonite, podendo conter na sua composição arsénio, ferro e chumbo. O uso de bentonites aparenta influenciar a composição metálica dos vinhos, e a sua caracterização aprofundada ainda está pouco estudada. No entanto, estudos mostraram que vinhos clarificados com bentonites apresentavam reduções estatisticamente significativas nos teores de Cu, K, Rb e Zn. Tecnologicamente, as alterações dos teores de K, Rb e Zn são negligenciáveis, enquanto que a depleção de Cu (43%) é notável e bastante interessante, por exemplo, para limitar a turvação provocada pelo complexo proteína-metal ⁽⁴⁶⁾.

Taninos

Entre outros produtos permitidos, pela comunidade europeia para a clarificação de vinhos, estão os taninos, sendo um dos mais tradicionais. Porém, uma nova tendência na sua aplicação parece estar a surgir, em que a finalidade prende-se com o aumento do *mouthfeel* dos vinhos. Neste caso, a adição de taninos durante a vinificação é limitada quantitativamente e é aplicada de forma a que os taninos fiquem em solução e não se precipitem com proteínas. Estudos recentes sobre a contribuição dos taninos para a composição metálica dos vinhos, sugerem um aumento muito significativo dos teores de sódio para alguns dos produtos testados. Relativamente ao incremento de outros elementos como o Pb e Cd, os taninos parecem actuar de forma negligenciável quer do ponto de vista tecnológico, quer do ponto de vista da segurança alimentar ⁽⁴⁸⁾.

Paredes celulares de leveduras

Estudos recentes realizaram experiências sobre a aplicação de leveduras não-vivas nos vinhos. A bioadsorção é o mecanismo explicativo para a fixação de cationes metálicos pelas células das paredes celulares de leveduras não-vivas, mecanismo esse que envolve complexos de proteínas-polissacarídeos. A bioadsorção de metais pela *Saccharomyces cerevisiae* não é modificável entre 4°C e 25°C, e estas são precisamente as temperaturas geralmente utilizadas na fermentação. Os resultados destes estudos mostraram que a utilização de preparações de paredes celulares de leveduras produziam depleções significativas nos teores de urânio, bem como nos valores de ferro e cobre ⁽⁴⁶⁾.

Correlação entre os metais e compostos orgânicos

A especiação de metais com ligandos biológicos é uma matéria cujo interesse tem aumentado, uma vez que esta complexação pode reduzir a sua toxicidade e biodisponibilidade. O Fe, Cu e Zn são exemplos de elementos que tendem a formar complexos com aminoácidos, oligopeptídeos e polipeptídeos.⁽⁴⁹⁾ Num estudo em que foram comparadas as concentrações de elementos metálicos, polifenóis totais e antocianinas, foi encontrada uma correlação entre estes dois últimos e as concentrações de Fe e Cu. Quando as concentrações de polifenóis totais ou antocianinas aumentavam, as concentrações dos metais diminuía, tendo se verificado uma correlação inversa. Este comportamento similar do Fe e Cu pode ser explicado, uma vez que ambos participam em reacções de condensação com taninos e antocianinas ⁽¹⁸⁾.

Limites legais e recomendações para metais contaminantes nos vinhos

Considerando a última amostra de vinho analisado (Junho) como o vinho final, verifica-se que todos os valores de metais pesados e elementos traço cumprem a regulamentação comunitária em vigor e/ou estão enquadrados com as recomendações da OIV.

O Regulamento (CE) n.º 466/2001 estabelece como limite máximo 0,2 mg/kg de Pb nos vinhos, tendo o vinho em estudo 15 µg/l. Por outro lado, o Regulamento (CE) n.º 1622/2000 estabelece como limite máximo de cobre 1 mg/l, tendo o vinho em análise ficado abaixo desses valores com <0,2 mg/l. Dada a relevância dos resultados obtidos para os teores de Cd neste vinho (<0,5 µg/l), bem como os encontrados noutros estudos, importa realçar que o limite recomendado pela OIV (0,01 mg/l) é bastante superior, podendo de certa forma estar desajustado à realidade e possibilidades tecnológicas disponíveis na Indústria Vinícola.

CONCLUSÃO

De uma forma geral os elementos mais significativos na constituição do vinho estão presentes nas uvas, e a composição destas parece estar relacionada com a composição do solo.

Viticultura

Na constituição metálica do solo da Parcela do Martelo predominam o Fe (62,9%; 25902,3 µg/g), o K (20,6%; 5233,7 µg/g) e o Ca (9%; 22271,7 µg/g). Os teores de Pb são em média 35,5 µg/g. Nas folhas os elementos predominantes são o Ca (76,5%; 19503,8 µg/g) e o K (19,8%; 5046,5 µg/g). As uvas possuem como elemento mais abundante o K (84,1%; 5615,4 µg/g), seguido pelo Ca (14,5%; 973,1 µg/g). Ao longo do sistema solo-folhas-uvas verifica-se geralmente um decréscimo dos teores dos elementos metálicos, com especial interesse nos teores de Pb, Zn e Cu. Os valores quantificados de Pb, Zn e Cu estão genericamente dentro ou abaixo dos limites encontrados noutros estudos, tendo talvez para isso contribuído as boas práticas vitícolas da Quinta do Seixo implícitas no plano de Protecção Integrada da Vinha no qual está inserida.

Vinificação

No processo de vinificação importa salientar dois grandes aspectos. O primeiro é a redução marcada dos teores iniciais do mosto com o processo da fermentação alcoólica, especialmente no Pb, Cd, Zn, Cu, Na, Fe e K. Este cenário está na maioria das vezes relacionados com fenómenos de precipitação e posterior remoção no bagaço. O segundo prende-se com os valores mais elevados no vinho de prensas em relação ao mosto no fim da fermentação, nos casos específicos do Zn, Cu, Mn e Mg. O processo de extracção característico da

prensagem, o íntimo contacto do bagaço com o material das prensas, e o conteúdo naturalmente mais elevado em elementos metálicos resultante do processo fermentativo, estão na origem desta constatação. A pequena percentagem de incorporação do vinho de prensas para a elaboração do produto final explica a menosprezável influência do mesmo para o aumento dos teores dos elementos no vinho em estudo.

O vinho final analisado apresentou teores de metais pesados e elementos traço perfeitamente dentro dos limites legais impostos pela regulamentação comunitária, sendo igualmente concordantes com as recomendações internacionais para a elaboração de vinhos ou limites internos estabelecidos pelo IVDP. O vinho final (Junho) expressou os seguintes teores: Pb (15 µg/l), Cd (<0,5 µg/l), Cu (<0,2 mg/l), Fe (1,3 mg/l), Mn (2,4 mg/l), Zn (<0,4 mg/l), Ca (85 mg/l), Na (20 mg/l), K (1054 mg/l) e Mg (124 mg/l).

Apesar dos produtos enológicos poderem alterar o perfil metálico dos vinhos, analisando os teores finais presente no vinho em estudo, verifica-se que a sua aplicação neste vinho não provocou nenhum desvio que colocasse em causa quer a sua estabilidade físico-química, quer a sua segurança alimentar. Porém, teremos de ter em consideração as possíveis contaminações que poderão surgir em futuras operações de acabamento do vinho, bem como durante o processo de engarrafamento, as quais não puderam ser seguidas por motivos relacionados com o âmbito da realização deste trabalho de investigação.

Este trabalho ao representar um exemplo da evolução de elementos metálicos ao longo da vinificação num vinho da RDD, pode constituir uma ferramenta útil, mas, meramente indicativa, para a análise e controlo destes constituintes na produção de vinhos tintos nesta região tão específica e distinta.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Amaral JD. O Grande Livro do Vinho. Círculo de Leitores, LDA; 1994.
- 2) Pimenta F. Qualidade do Vinho. Vinea: Revista de Viticultura do Alentejo. 2005;11: 17.
- 3) Jackson DI, Lombard PB. Environmental and Management Practices Affecting Grape Composition and Wine Quality – A Review. Am. J. Enol. Vitic. 1993; 44 (4): 409-430.
- 4) Ratola N, Abade E, Simões T, Venâncio A. Evolution of ochratoxin A content from must to wine in Port Wine microvinification. Anal Bioanal Chem. 2005; 382: 405-411.
- 5) Instituto da Vinha e do Vinho. Anuário Vinhos e Aguardentes de Portugal 03/04. Castel – Publicações e Edições, S.A; 2004.
- 6) ViniPortugal. Campanha1: Activar a Estratégia do Cluster do Vinho. ViniPortugal; 2003
- 7) Curvelo-Garcia AS, Catarino S. Os Metais Contaminantes dos Vinhos. Origens da sua presença, teores, influência dos factores tecnológicos e definição de limites (Revisão bibliográfica crítica). Ciência Téc. Vitiv. 1998; 13(1-2): 49-70.
- 8) Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes; Instituto do Vinho do Porto; Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica; Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa. Estudo do Consumidor Português de Vinhos. Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da universidade Católica. 2003.

BIBLIOGRAFIA

- 9) Filipe A, Pereira GM, Mota I, de Almeida JN, Franco J, Magalhães N, et al.. O Vinho do Porto e os Vinhos do Douro. Edição especial. Lisboa: Chaves Ferreira – Publicações, S.A; 1998. (Enciclopédia dos Vinhos de Portugal;4).
- 10) Fauvrelle N. Quintas do Douro. As arquitecturas do vinho do Porto. Santa Maria da Feira: GEHVID – Grupo de Estudos de História da Viticultura Duriense e do Vinho do Porto.; 2001. (Cadernos da revista Douro – Estudos & Documentos;8).
- 11) Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto: Anuário 2005. Porto: IVDP; 2005.
- 12) TomKins JP, Peterson DG, Yang TJ, Main D, Ablett ER, Henry RJ et al. Grape (*Vitis vinifera* L.) BAC library construction, preliminary STC Analysis, and identification of clones associated with flavonoids and stilbene biosynthesis. *Am. J. Enol. Vitic.* 2001; 52 (4): 287-291.
- 13) ANDOVI. Actas do seminário internacional: Os Vinhos de Qualidade e Desenvolvimento das suas Regiões de Produção;1997; Maio 26 e 27. Viseu: ANDOVI.
- 14) Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. World Statistics 2002. OIV.
- 15) Curvelo-Garcia A.S. Nota do Director. Folha Informativa do Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas. 2005; 114:1.
- 16) Conselho da União Europeia. Regulamento (CE) n.º 466/2001. Jornal Oficial das Comunidades Europeias; L 77 (2001-3-16): 1-26. Fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.
- 17) Conselho da União Europeia. Regulamento (CE) n.º 1622/2000. Jornal Oficial das Comunidades Europeias; L 194 (2000-7-31): 1-45. estabelece determinadas normas de execução do Regulamento (CE) n.º 1493/1999, que



estabelece a organização comum do mercado vitivinícola, e que constitui um código comunitário das práticas e tratamento enológicos.

- 18)Esparza I, Salinas I, Caballero I, Santamaria C, Calvo I, García-Mina JM et al. Evolution of metal and polyphenol content over a 1-year period of vinification: sample fractionation and correlation between metals and anthocyanins. Anal. Chim. Acta. 2004; 524: 215-224.
- 19)Grieken REV, Markowicz AA. Handbook of X-Ray Spectrometry: methods and techniques. New York: Marcel Dekker, INC; 1993. (Practical spectroscopy series; 14).
- 20)Salgueiro L, Ferreira JG. Introdução à física atómica e nuclear. Lisboa: Tipografia Matemática; 1975. II vol.
- 21)Klockenkämper R. Total-Reflection X-Ray Fluorescence analysis. New York: John Wiley & Sons, INC; 1997. (Chemical analysis; 140).
- 22)Skoog DA, West DM, Holler FJ. Principles of Instrumental Analysis. 3ª Edição. New York: Saunders College Publishing; 1985.
- 23)Manso M. Caracterização de elementos tóxicos e essenciais em tecidos de cefalópodes por Espectroscopia de Raios-X e Absorção Atómica. [tese mestrado] : Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa; 2005.
- 24)Lourenço H. Espectrometria de absorção atómica de chama [tese de mestrado]. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa; 2000.
- 25)Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Recueil des Méthodes Internationales D'analyse des Vins et des Mouts. Edição 2005. Paris : OIV ;2005 ;1.
- 26)Carvalho ML, Gonçalves E. Quantitative Calculation on Elemental Contamination in Vineyards by X-Ray Spectrometry. In: IBER 2005 – 7th Joint

- Meeting on Atomic and Molecular Physics, Lisboa, Portugal, 21-23 Março; 2005.
- 27) Orescanin V, Katunar A, Kutle A, Valkovic V. Heavy Metals in Soil, Grape, and Wine. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*. 2003; 21(1): 171-180.
- 28) Angelova VR, Ivanov A, Braikov DM. Heavy Metals (Pb, Cu, Zn e Cd) in the system soil – grapevine – grape. *J Sci Food Agric*. 1999; 79: 713-721.
- 29) Carvalho ML, Pimentel AC, Fernandes B. Study of Heavy Metals in Wild edible Mushrooms under Different Pollution Condition by X-Ray Fluorescence Spectrometry. *Analytical Sciences*. 2005; 21: 747-750.
- 30) Teissedre PL, Cabanis MT, Champagnol F, Cabanis JC. Lead Distribution in Grape Berries. *Am. J. Enol. Vitic*. 1994; 45(2): 220-228.
- 31) Kristl J, Veber M, Slekovec M. The contents of Cu, Mn, Zn, Cd and Pb at different stages of the wine making process. *Acta Chim. Slov*. 2003; 50:123-136.
- 32) Nicolini G, Larcher R. Evidence of changes in the micro-element composition of wine due to the yeast strain. *Riv. Vitic. Enol*. 2003; (4): 45-47.
- 33) Roses OE, Gonzalez DE, López CM, Piñeiro AE, Villaomil EC. Lead levels in argentine market wines. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 1997; 59: 210-215.
- 34) Catarino S, Pinto D, Curvelo-Garcia AS. Validação e comparação de métodos de análise em espectrofotometria de absorção atômica com chama para doseamento de cobre e ferro em vinhos e aguardentes. *Ciência Téc. Vitiv*. 2003; 18(2): 65-76.
- 35) Cabrera-Vique C, Teissedre PL, Cabanis MT, Cabanis JC. Manganese Determination in Grape and Wines from Different Regions of France. *Am. J. Enol. Vitic*. 2000; 51(2): 103-107.



- 36) Anjos MJ, Lopes RT, de Jesus EFO, Moreira S, Barroso RC, Castro C. Trace elements determination in red and white wines using total-reflection X-ray fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B*. 2003; 58: 2227-2232.
- 37) Salinas I, Esparza I, Gómez S, Santamaría C, Fernández JM. A Study of heavy Metals Complexation in Grape Juice. *Electroanalysis*. 2005; 17 (5): 469-475.
- 38) Marengo E, Aceto M. Statistical investigation of the differences in the distribution of metals in Nebbiolo-based wines. *Food Chemistry*. 2003; 81:621-630.
- 39) Galani-Nikolakaki S, Kallithrakas-Kontos N, Katsanos AA. Trace element analysis of Cretan wines and wine products. *Sci. Total Environ*. 2002; 285:155-163.
- 40) OIV. Catarino S, Curvelo-Garcia AS. Le Plomb et le Cadmium dans les raisins et les vins. Alguns resultados do projecto da EVN (Project PAMAF-IEDn.º2053); 2001: 187-191
- 41) Mena C, Cabrera C, Lorenzo ML, López MC. Cadmium levels in wine, beer and other alcoholic beverages: possible sources of contamination. *Sci. Total Environ*. 1996; 181: 201-208.
- 42) Brainina KZ, Stozhko NY, Belysheva GM, Inzhevatova, Kolyadina LI, Cremisini C, et al. Trace element determination of argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*. 2005; 43: 293-297.
- 43) Catarino S, Soares J, Curvelo-Garcia AS, Bruno de Sousa R. Implicações da utilização de bentonites sobre a fracção mineral de vinhos: potássio, sódio, cálcio, alumínio e chumbo. Efeito do pH. *Ciência Téc. Vitiv*. 2004; 19(1): 29-45.

BIBLIOGRAFIA

- 44)Ferreira M. Estudo dos valores mais frequentes em diversas determinações efectuadas em Vinho do Porto. Porto: Instituto do Vinho do Porto; 2002.
- 45)Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Code International des Pratiques Oenologiques. Edição 2005. Paris : OIV ; 2005.
- 46)Nicolini G, Larcher R, Pangrazzi P, Bontempo L. Changes in the contents of micro and trace elements in wine due to winemaking treatments. *Vitis*. 2004; 43 (1): 41-45.
- 47)Conselho da União Europeia. Regulamento (CE) n.º 1493/1999. Jornal Oficial das Comunidades Europeias; L 179 (1999-7-14): 1-84. Estabelece a organização comum do mercado vitivinícola.
- 48)Nicolini G, Larcher R, Bontempo L. Micro and Trace Element Composition of Tannins used in Winemaking. *J. Commodity Sci*. 2004; 43 (1): 21-29.
- 49)Karadjova I, Belgin I, Gucer S. Fractionation and speciation of Cu, Zn and Fe in wines samples by atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*. 2002; 57: 581-590.

Anexos



Índice de Anexos

Anexo 1 - Estatísticas sobre padrões de consumo de vinho	a1
Anexo 2 - Processo de vinificação do vinho de mesa tinto em estudo na Quinta do Seixo	a7
Anexo 3 - Aprofundamento teórico da Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X.....	a11
Anexo 4 - Gráficos complementares dos resultados da viticultura	a19

Anexo 1

Estatísticas sobre padrões de consumo de vinho

World Wine Consumption

(thousands of hl)

PAYS	86-90	91-95	96-00	2000	2001	2002	Var 02/01	
							V abs	%
EUROPE								
ALLEMAGNE	18 389	18 544	19 279	20 150	20 044	20 272	228	1,14%
AUTRICHE	2 630	2 563	2 476	2 477	2 291	2 403	112	4,90%
Belgique-Luxembourg	2 086	2 226	2 366	2 756				
BELGIQUE					2 400	2 710	310	12,93%
LUXEMBOURG					256	283	27	10,72%
DANEMARK	1 014	1 190	1 560	1 623	1 772	1 709	-63	-3,53%
ESPAGNE	17 402	15 439	14 427	14 046	14 238	13 960	-278	-1,95%
FINLANDE	167	272	305	352	382	416	34	8,90%
FRANCE	41 715	37 310	35 305	34 500	33 916	33 580	-336	-0,99%
GRECE	3 022	2 752	2 834	2 861	2 940	2 420	-520	-17,69%
IRLANDE	123	152	333	420	470	495	25	5,32%
ITALIE	36 621	35 122	31 950	30 800	30 150	27 709	-2441	-8,10%
PAYS-BAS	2 071	2 149	2 455	3 100	3 330	3 330	0	0,00%
PORTUGAL	5 900	5 650	5 074	4 595	4 697	4 650	-47	-1,00%
ROYAUME-UNI	6 039	6 542	8 139	9 081	9 794	10 047	253	2,59%
SUEDE	1 026	1 058	1 136	1 182	1 320	1 473	153	11,55%
SOUS-TOTAL UE	138 205	130 968	127 638	127 944	128 000	125 458	-2542	-1,99%
ALBANIE	76	133	159	77	147	177	30	20,59%
BOSNIE-HERZEG.*		150	42	54	102	82	-19	-18,97%
BULGARIE	1 161	987	851	1 151	1 533	1 309	-224	-14,61%
CROATIE*		1 757	2 011	2 019	1 987	2 142	155	7,80%
HONGRIE	2 361	3 175	3 054	3 150	3 200	3 454	254	7,94%
MACEDOINE*		233	267	100	118	150	32	27,39%
POLOGNE	972	310	551	589	504	538	34	6,82%
REP. TCHEQUE*		595	650	650	650	650	0	0,00%
ROUMANIE	6 777	5 272	5 968	5 215	4 705	4 964	259	5,50%
SLOVAQUIE*		401	477	632	640	608	-32	-5,00%
SLOVENIE*		825	830	683	600	600	0	0,00%
YUGOSLAVIE (S.M.) ⁿ velle série		2 122	1 786	1 012	1 054	1 296	242	22,94%
TCHECOSL. (EX)	1 531							
YUGOSL. (EX)	5 270							
SOUS-TOTAL PECO	18 148	15 960	16 646	15 334	15 238	15 969	731	4,80%
U.R.S.S. (EX)	17 574							
ARMENIE*		221	48	38	54	66	12	21,53%
AZERBAIDJAN* nvelle série		44	15	26	22	41	20	91,09%
BIELORUSSIE* nvelle série		241	268	267	251	274	23	9,02%
ESTONIE*		37	93	104	97	100	2	2,55%
GEORGIE* nvelle série		1 746	1 370	902	665	508	-156	-23,51%
KAZAKHSTAN*		311	262	315	163	272	108	66,17%
KYRGISTAN*		63	40	17	39	38	-1	-1,91%
LETTONIE*		52	108	147	119	145	26	22,29%
LITUANIE*		82	224	190	204	233	29	14,28%
MOLDAVIE*		1 611	745	578	429	208	-221	-51,55%
RUSSIE*		6 487	4 565	4 699	6 067	7 034	966	15,93%
TADJIKISTAN*		64	57	34	55	60	5	9,15%
TURKMENISTAN*		162	291	355	239	242	3	1,27%
UKRAINE*		1 186	1 198	1 204	1 296	1 817	521	40,20%
OUBÉKISTAN*		609	530	390	422	322	-100	-23,63%
SOUS-TOTAL Ex-URSS	17 574	12 914	9 814	9 266	10 123	11 361	1238	12,23%
ILES FÉROÉ	2	2	2	2	2	3	0	8,70%
ISLANDE	16	13	20	23	23	24	1	4,35%
MALTE	22	27	30	25	30	35	5	16,67%
NORVEGE	254	284	429	463	500	550	50	10,00%
SUISSE	3 143	2 978	2 956	3 088	3 077	3 011	-66	-2,14%
SOUS-TOTAL autres Europe	3 436	3 304	3 437	3 601	3 632	3 623	-10	-0,27%
TOTAL EUROPE	177 363	163 147	157 535	156 145	156 993	156 410	-583	-0,37%
OCEANIE								
AUSTRALIE	3 297	3 208	3 606	3 899	3 976	4 007	31	0,78%
NOUVELLE-ZÉLANDE	432	364	385	413	606	656	50	8,25%
OCEANIE AUTRES PAYS	79	85	82	76	100	107	7	7,02%
TOTAL OCEANIE	3 808	3 657	4 072	4 388	4 682	4 770	88	1,88%
TOTAL MONDE	240 244	223 877	224 952	225 091	226 463	227 831	1368	0,60%

(*) Average 92-95

Numbers italics: O.I.V estimation

Tabela a1 – Consumo de Vinho a nível Mundial. Fonte: OIV, World Statistics, 2002.

World Wine Consumption

(thousands of hl)

PAYS	86-90	91-95	96-00	2000	2001	2002	Var 02/01	
							V.abs	%
AFRIQUE								
ANGOLA	195	400	349	248	378	398	20	5,18%
AFRIQUE DU SUD	3 359	3 651	3 961	3 906	3 972	3 884	-88	-2,22%
ALGERIE	230	247	223	225	203	320	117	57,64%
COTE d'IVOIRE	396	181	225	210	244	286	43	17,49%
EGYPTE	21	24	28	30	42	42	0	0,10%
MADAGASCAR	83	88	92	92	93	92	-1	-1,28%
MAROC	286	233	385	300	300	292	-8	-2,67%
TUNISIE	206	215	216	208	224	202	-22	-9,82%
AUTRES PAYS D'AFRIQUE	1 261	1 249	811	785	955	934	-20	-2,13%
TOTAL AFRIQUE	6 038	6 288	6 289	6 004	6 410	6 450	40	0,62%
AMERIQUE								
CANADA	1 831	1 792	2 394	2 756	2 800	2 884	83	2,98%
ETATS-UNIS	20 791	18 759	20 814	21 200	21 250	22 538	1288	6,06%
MEXIQUE	147	167	150	150	150	150	0	0,00%
ARGENTINE	17 804	15 720	12 899	12 491	12 036	11 988	-48	-0,40%
BOLIVIE	23	23	25	28	26	24	-3	-10,53%
BRESIL	2 861	2 992	2 725	3 177	3 079	3 178	99	3,22%
CHILI	3 499	2 350	2 410	2 271	2 250	2 297	47	2,09%
PARAGUAY	110	163	180	254	174	127	-47	-27,22%
PEROU	100	125	174	185	202	190	-11	-5,62%
URUGUAY	856	878	1 042	945	984	814	-170	-17,28%
AUTRES PAYS D'AMERIQUE	431	491	605	724	787	694	-93	-11,77%
TOTAL AMERIQUE	48 453	43 459	43 418	44 181	43 738	44 884	1145	2,62%
ASIE								
CHINE (yc Macao et H.K.)	2 739	5 098	9 858	10 791	11 054	11 470	416	3,76%
CHYPRE	70	78	86	90	115	126	11	9,57%
ISRAEL	135	106	77	90	71	86	14	19,73%
JAPON	1 204	1 361	2 801	2 626	2 579	2 784	205	7,95%
LIBAN	96	230	167	152	148	137	-11	-7,44%
TURQUIE	193	248	248	177	236	247	11	4,54%
AUTRES PAYS D'ASIE	147	204	401	447	437	469	32	7,27%
TOTAL ASIE	4 583	7 325	13 638	14 373	14 640	15 317	677	4,63%

(*) Average 92-95

Numbers italics: O.I.V estimation

Continuação da Tabela a1.

Per capita annual wine consumption
(litres per capita)

PAYS	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	Var moy/an 00-02/97-99
AFRIQUE									
AFRIQUE DU SUD	10,0	9,7	9,5	9,0	9,1	8,9	8,9	8,7	-1,32%
ALGERIE	0,9	0,9	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	1,0	3,64%
EGYPTE	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	10,34%
MADAGASCAR	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	-2,85%
MAROC	0,6	1,3	1,2	1,4	1,8	1,0	1,0	1,0	-10,77%
TUNISIE	2,8	2,3	2,2	2,6	2,3	2,2	2,3	2,1	-2,30%
AMERIQUE									
CANADA	6,2	6,8	7,0	8,0	8,8	9,0	9,0	9,2	4,79%
ETATS-UNIS	8,1	7,5	7,5	7,4	7,4	7,4	7,4	7,7	0,28%
MEXIQUE	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	-1,53%
ARGENTINE	39,9	37,9	37,5	35,1	34,3	33,7	32,1	31,6	-2,99%
BOLIVIE	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,18%
BRESIL	1,5	1,4	1,6	1,5	1,7	1,8	1,8	1,8	4,05%
CHILI	15,0	15,9	13,1	18,3	19,0	14,9	14,6	14,7	-4,10%
PARAGUAY	3,8	3,5	3,4	2,4	3,4	4,6	3,1	2,2	3,00%
PEROU	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7	1,66%
URUGUAY	30,3	29,7	33,1	34,4	32,8	28,3	29,2	24,0	-6,24%
ASIE									
CHINE	0,6	0,6	0,7	0,9	0,8	0,8	0,9	0,9	1,65%
CHYPRE	11,2	11,1	11,2	11,2	10,8	11,5	14,6	15,8	8,72%
ISRAEL	1,9	1,1	1,3	1,4	1,3	1,5	1,2	1,4	-0,20%
JAPON	1,4	1,4	1,9	3,1	2,6	2,1	2,0	2,2	-5,86%
LIBAN	8,6	4,4	6,5	4,8	4,8	4,4	4,2	3,8	-7,90%
TURQUIE	0,5	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	-5,02%
EUROPE									
ALBANIE	5,8	9,8	5,4	3,4	4,2	2,5	4,7	5,6	-0,71%
ALLEMAGNE	22,9	22,9	22,9	23,1	24,0	24,5	24,3	24,6	1,63%
ARMENIE	3,1	2,5	1,4	0,6	1,8	1,2	1,8	2,2	12,04%
AUTRICHE	31,6	30,0	30,9	30,6	30,9	30,6	28,3	29,6	-1,42%
AZERBAIDJAN*	0,3	0,2	0,2	0,2	0,0	0,3	0,3	0,5	67,03%
BELGIQUE							23,4	26,3	
BIELORUSSIE*	2,4	2,9	3,1	2,8	1,7	2,7	2,5	2,8	1,21%
BOSNIE-HERZEG	5,1	1,0	0,2	1,8	1,3	1,4	2,5	2,0	25,91%
BULGARIE	10,0	10,3	7,3	7,9	12,1	14,2	19,1	16,4	27,34%
CROATIE	35,2	38,7	48,7	48,1	46,2	45,4	44,7	48,2	-1,09%
DANEMARK	24,1	27,2	30,2	30,1	29,5	30,5	33,2	31,9	2,16%
ESPAGNE	38,4	36,1	36,2	36,6	35,1	34,5	34,8	34,1	-1,40%
ESTONIE*	3,8	5,5	6,5	7,4	6,6	7,6	7,2	7,5	2,82%
FINLANDE	5,5	5,2	5,0	6,1	6,5	6,8	7,4	8,0	8,73%
FRANCE	62,8	59,6	60,6	61,8	59,9	58,2	56,9	56,1	-2,02%
GEORGIE*	37,9	37,5	31,6	20,9	21,9	17,1	12,7	9,8	-15,55%
GRECE	25,8	25,0	25,2	27,2	28,2	26,2	26,9	22,1	-2,29%
HONGRIE	30,2	30,0	29,0	29,2	31,6	31,5	32,1	34,8	3,16%
IRLANDE	4,3	7,1	7,8	8,7	9,9	11,0	12,2	12,7	11,94%
ISLANDE	5,6	5,9	6,3	7,2	8,1	8,2	8,1	8,4	4,55%
ITALIE	62,2	60,5	53,7	55,4	54,9	53,5	52,4	48,2	-1,99%
KAZAKHSTAN*	0,9	1,0	1,5	2,0	1,6	2,0	1,1	1,8	-2,37%
KYRGISTAN*	0,7	1,5	1,4	0,7	0,3	0,4	0,8	0,8	-7,31%
LETTONIE*	3,8	4,1	3,0	2,3	6,9	6,2	5,0	6,2	14,30%
LITUANIE	3,5	8,0	5,5	5,9	7,0	5,4	5,8	6,7	-0,61%
LUXEMBOURG							58,0	63,4	
MACEDOINE	6,6	9,8	19,2	24,0	8,9	4,9	5,8	7,3	-21,80%
MALTE	7,4	8,4	8,5	5,7	9,5	6,4	7,7	8,9	-0,97%
MOLDAVIE*	33,8	20,3	24,9	16,3	11,5	13,5	10,0	4,9	-15,37%
NORVEGE	7,3	8,3	9,5	9,7	10,6	10,4	11,1	12,2	4,34%
OUBÉKISTAN*	3,6	2,1	2,6	2,4	2,4	1,6	1,7	1,3	-13,07%
PAYS-BAS	14,0	13,2	15,3	14,0	15,9	19,5	20,8	20,7	11,64%
POLOGNE	0,8	0,9	1,3	1,6	1,7	1,5	1,3	1,4	-3,41%
PORTUGAL	57,3	54,8	52,5	50,7	50,6	45,9	46,8	46,3	-3,20%
REP. TCHÈQUE*	6,2	6,2	6,4	6,4	6,3	6,3	6,3	6,3	-0,02%
ROUMANIE	28,9	30,5	28,8	24,0	25,9	23,2	21,0	22,2	-5,21%
ROYAUME-UNI	10,9	11,7	14,0	14,2	14,3	15,4	16,6	16,9	5,15%
RUSSIE*	4,7	2,9	3,6	3,5	2,3	3,2	4,2	4,9	10,25%
SLOVAQUIE	7,6	11,6	6,1	6,6	8,3	11,7	11,9	11,3	22,18%
SLOVENIE	44,7	56,3	50,1	40,1	27,4	34,3	30,2	30,2	-6,47%
SUEDE	12,1	12,9	11,9	12,4	13,6	13,4	14,9	16,6	6,17%
SUISSE	39,3	41,0	40,5	40,6	41,1	43,1	42,9	42,0	1,56%
TADJIKISTAN*	1,2	1,8	1,0	0,8	0,7	0,6	0,9	1,0	0,10%
TURKMENISTAN*	5,2	4,2	6,4	7,0	7,1	7,6	5,1	5,0	-4,47%
UKRAINE*	1,9	2,2	2,4	2,5	2,3	2,4	2,6	3,7	7,22%
YUGOSLAVIE (S.M.)	22,2	23,3	27,9	14,7	8,8	9,6	10,0	12,3	-12,69%
OCEANIE									
AUSTRALIE	18,1	18,0	18,7	19,4	19,7	20,4	20,5	20,5	2,04%
NOUVELLE-ZÉLANDE	8,6	9,8	10,5	10,3	10,2	10,9	15,9	17,1	13,77%

Tabela a2 – Consumo de vinho anual per capita.

Anexo 2

Processo de vinificação do vinho de mesa tinto em estudo na
Quinta do Seixo

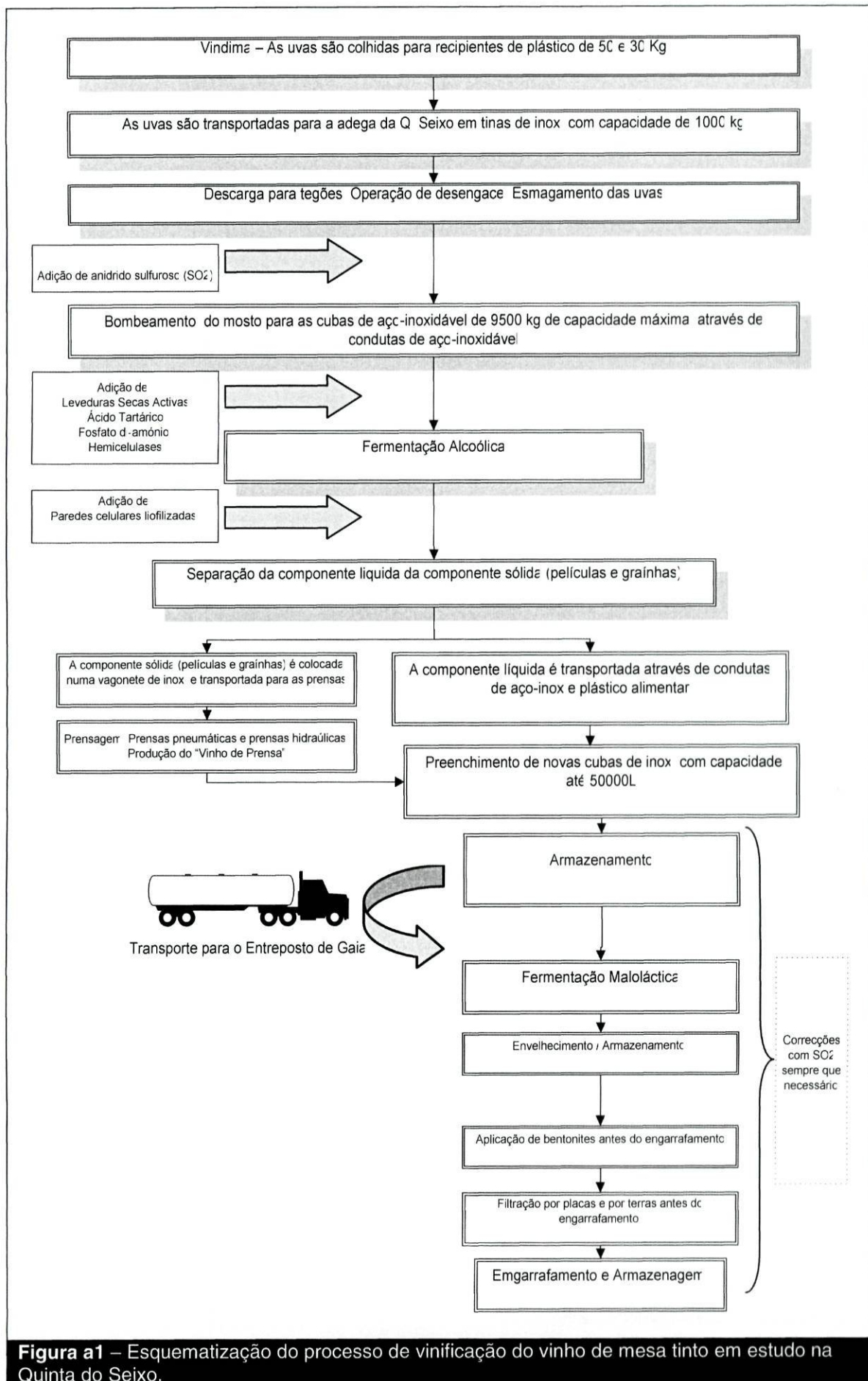


Figura a1 – Esquematização do processo de vinificação do vinho de mesa tinto em estudo na Quinta do Seixo.

Anexo 3

Aprofundamento teórico da Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X

ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X

Emissão de radiação por fluorescência de raios X

No átomo, os electrões distribuem-se à volta do núcleo em zonas designadas por orbitais. Cada orbital possui uma energia bem definida. Para que se consiga extrair um electrão a uma determinada orbital, tem que se fornecer ao átomo uma energia igual ou superior à do electrão que se encontra nessa orbital. Essa energia é designada por energia de ligação do electrão.

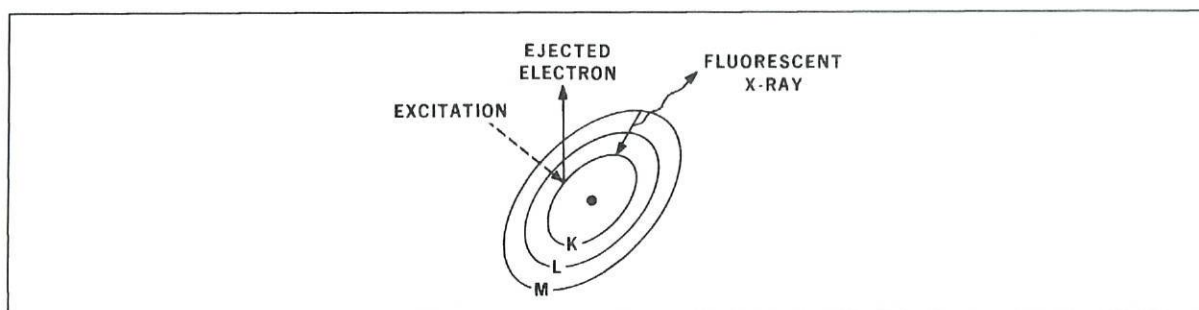
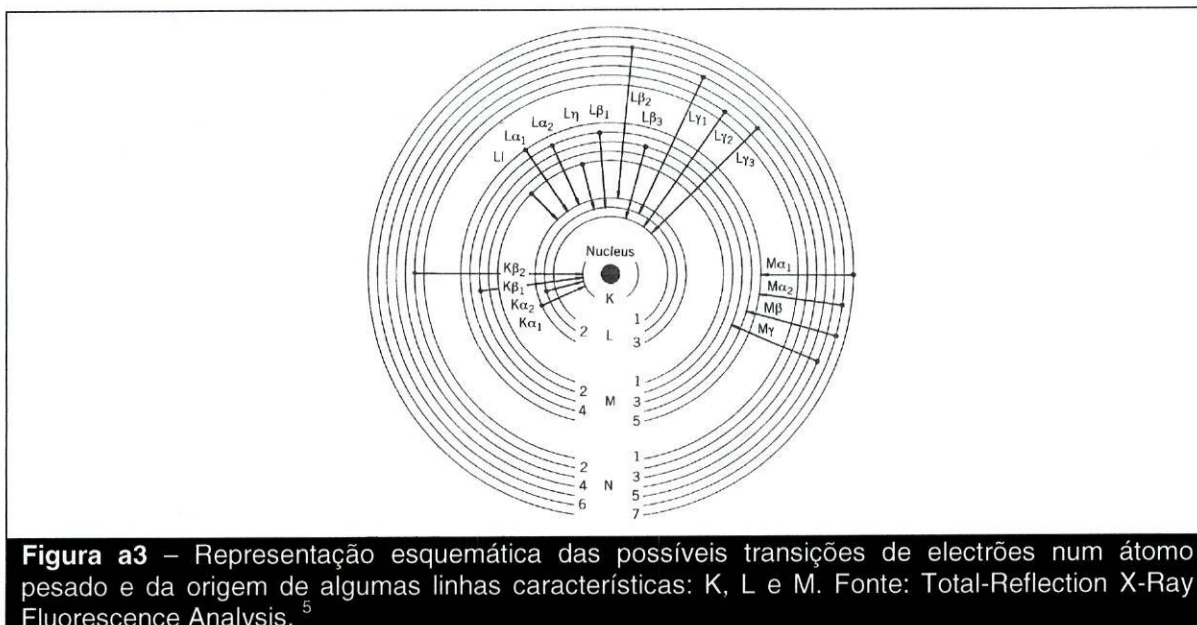


Figura a2 – Processo de fluorescência. Fonte: *Handbook of X-Ray Spectrometry: methods and techniques*.³

Quando se bombardeia um átomo de um determinado elemento com fotões de uma determinada energia, pode arrancar-se um electrão das camadas mais internas (K e L), formando-se uma lacuna. O átomo fica assim ionizado e a sua energia total aumenta. Obedecendo ao princípio de energia mínima, este sofre um processo de rearranjo, em que um electrão decai de uma camada mais externa para preencher a lacuna com emissão de um fotão.⁴

³Grieken REV, Markowicz AA. *Handbook of X-Ray Spectrometry: methods and techniques*. New York: Marcel Dekker, INC; 1993. (Practical spectroscopy series; 14).

⁴ Salgueiro L, Ferreira JG. *Introdução à física atómica e nuclear*. Lisboa: Tipografia Matemática; 1975. II vol.



Para se obter a fluorescência de raios X pode-se utilizar uma fonte de radiação electromagnética (tubos de raios X ou fontes radioactivas) ou feixes de partículas carregadas (electrões, prótons). Normalmente utiliza-se a designação de Espectrometria de Fluorescência de Raios X quando se utiliza a radiação electromagnética para a excitação do átomo.

Processos de interacção da radiação eléctrica com a matéria

É necessário ter em consideração algumas interacções entre a radiação electromagnética e os átomos da amostra. Estas podem ser devido a:

- a) Difusão elástica
- b) Difusão inelástica
- c) Efeito fotoeléctrico

Quando um feixe de fótons interage com os átomos de uma substância, a intensidade desse feixe é atenuada, fruto de vários processos de interacção da

⁵ Klockenkämper R. Total-Reflection X-Ray Fluorescence analysis. New York: Jonh Wiley & Sons, INC; 1997. (Chemical analysis; 140).

radiação com os electrões dos átomos. Na gama de energia da radiação X, estes processos são basicamente de dois tipos: efeito fotoeléctrico e fenómenos de difusão. A predominância destas duas interações depende fortemente da energia do feixe incidente, do seu grau de monocromatização, do número atómico médio do material irradiado e da estrutura cristalina da substância difusora.

Em cada processo pode haver absorção total de radiação ou fenómenos de difusão com ou sem variação de energia, podendo assim distinguir-se dois tipos de difusão:

- Difusão de Rayleigh (elástica), na qual os fotões não perdem energia no processo de colisão;
- Difusão de Compton (inelástica), na qual os fotões perdem parte da sua energia durante a colisão.

Principias componentes de um sistema de espectroscopia de raios x dispersivo em energia (EDFRX)

O espectrómetro de raios X para a análise elementar de uma amostra é constituído por um sistema de produção de raios x e por um sistema de detecção da radiação característica.

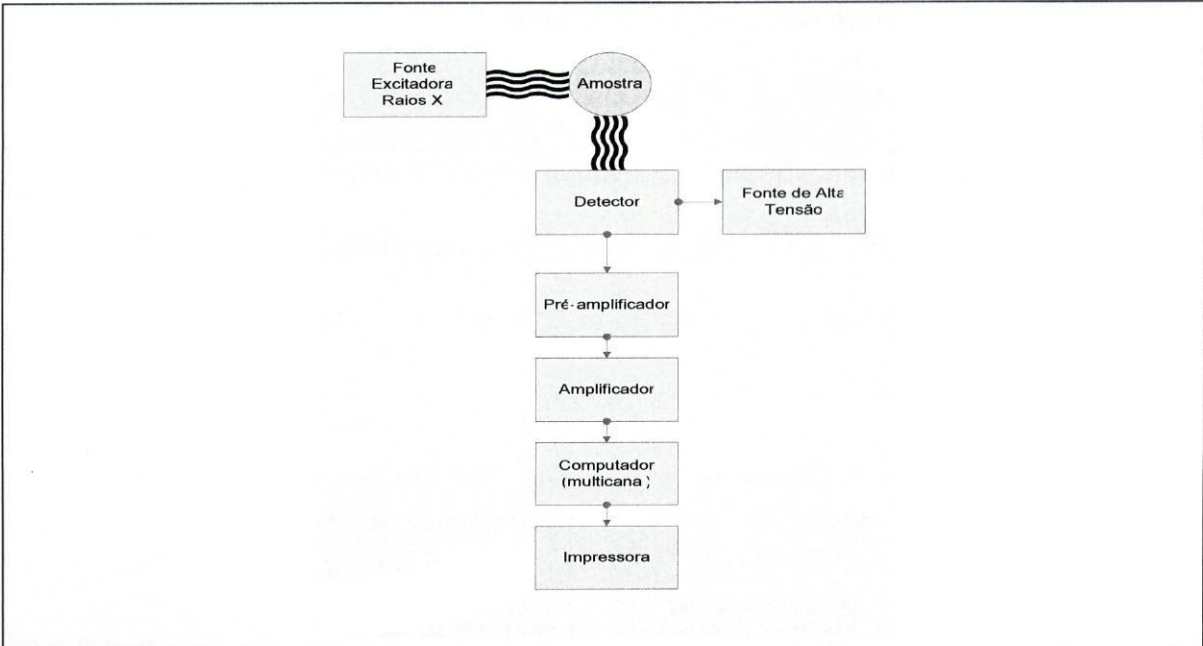


Figura a4 – Principais componentes de um sistema de espectroscopia de raios X dispersiva em energia.

Importa referir que a ampola de raios X, o alvo secundário (molibdénio) e a amostra estão montados numa geometria triaxial. Esta característica, e o facto de se utilizar uma radiação monocromática, aumenta significativamente a sensibilidade desta técnica.

Análise de espectros

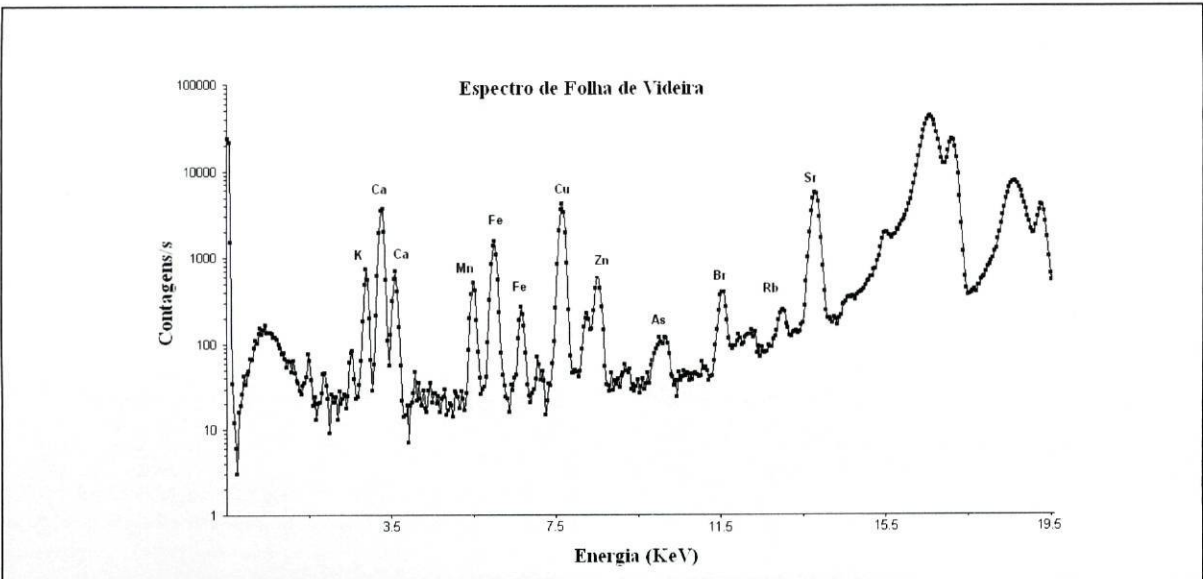


Gráfico a1 – Espectro de uma amostra de folhas de videira. Estão identificados os elementos traço e seus picos correspondentes.

Observando o espectro verifica-se que as contagens obtidas na gama de baixas energias correspondem ao efeito de Compton no próprio detector. Nas gamas de elevada energia (picos à direita) as contagens referem-se à radiação difusa do Molibdénio (alvo secundário para uma a produção de radiação X monocromática). Assim sendo, é a região intermédia do espectro que apresenta os picos de interesse para a análise da amostra. Os picos estão identificados de acordo com o respectivo elemento. Esta identificação é realizada com base nas energias de ionização características de cada elemento das transições L e K.

Espectrómetro Dispersivo em Energia

O espectrómetro utilizado neste trabalho de investigação encontra-se instalado no Centro de Física Atómica da Universidade de Lisboa.

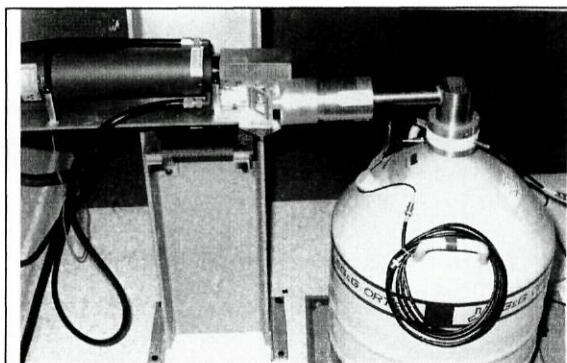


Figura a5 – Vista geral do espectrómetro.

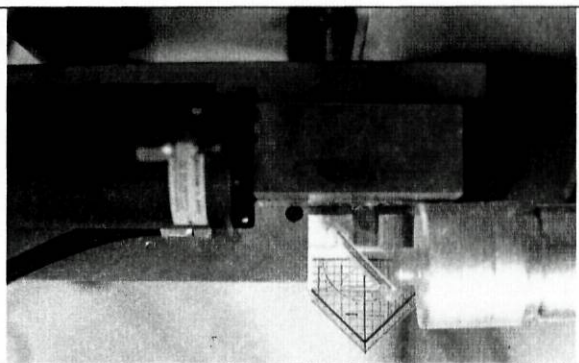


Figura a6 – Vista de cima do espectrómetro.

Anexo 4

Gráficos complementares dos resultados da viticultura

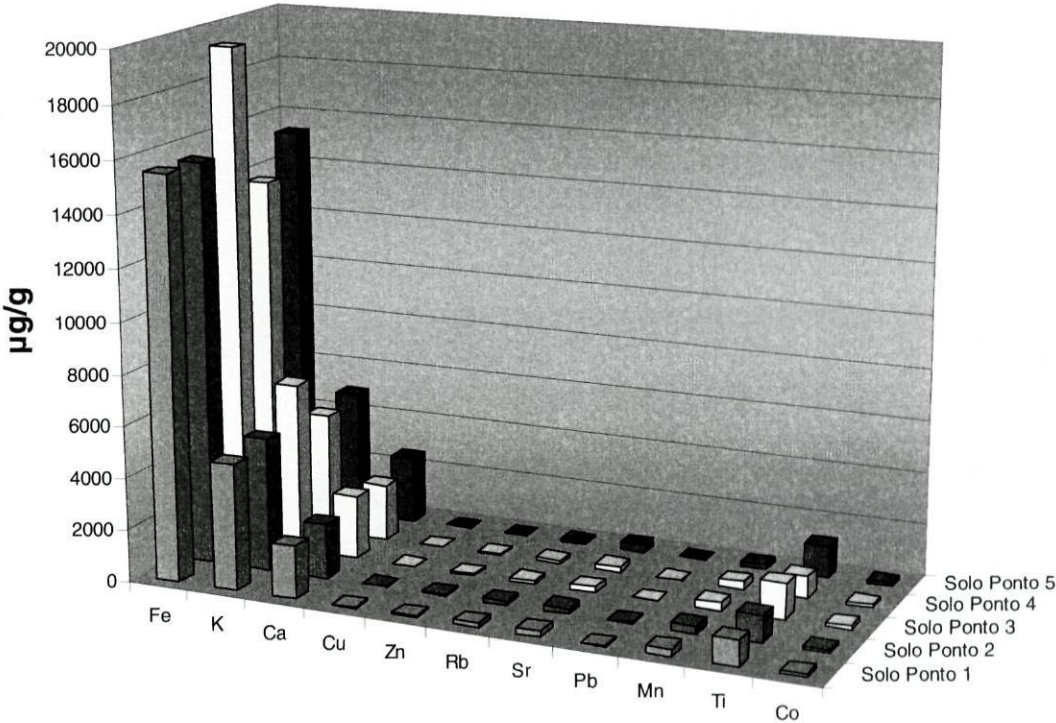


Gráfico a2 – Evolução dos teores dos elementos metálicos no solo da PM a diferentes altitudes de recolha de amostras. Ponto 5 é o ponto mais alto da parcela, e o ponto 1 é o mais baixo.

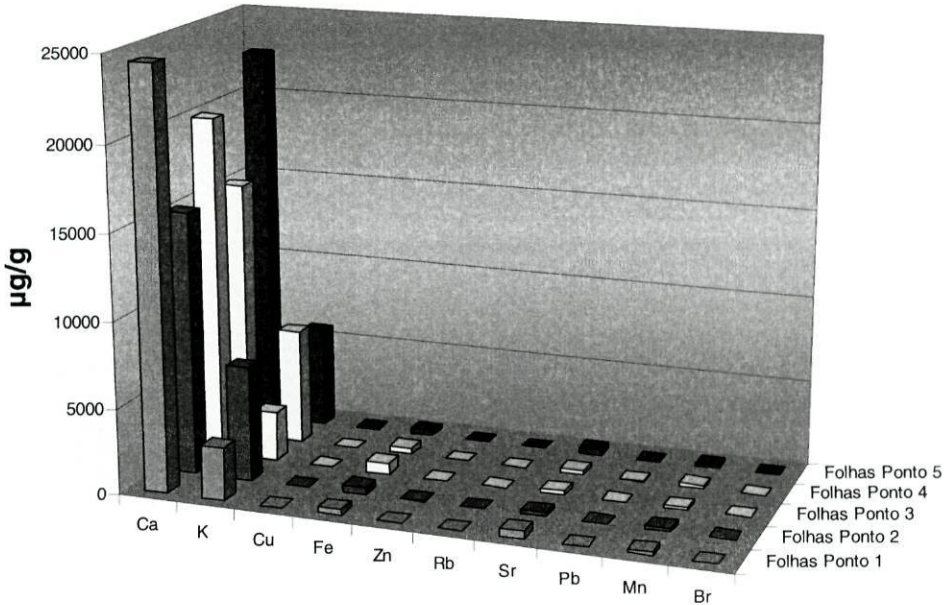
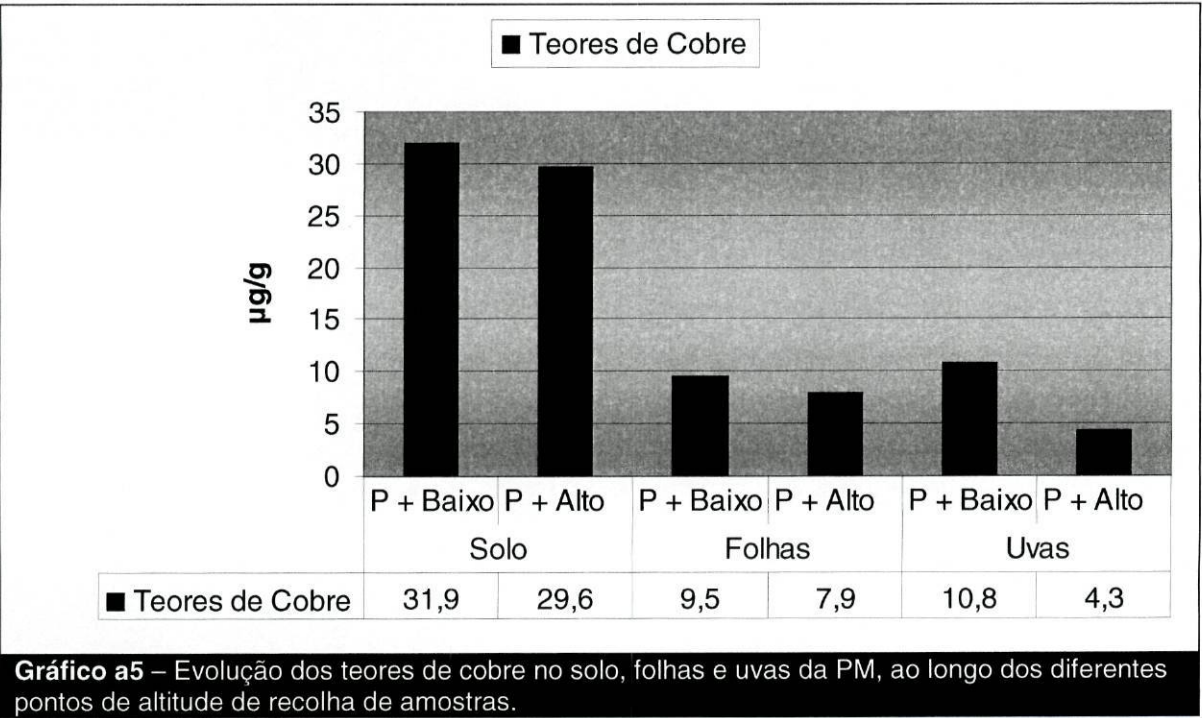
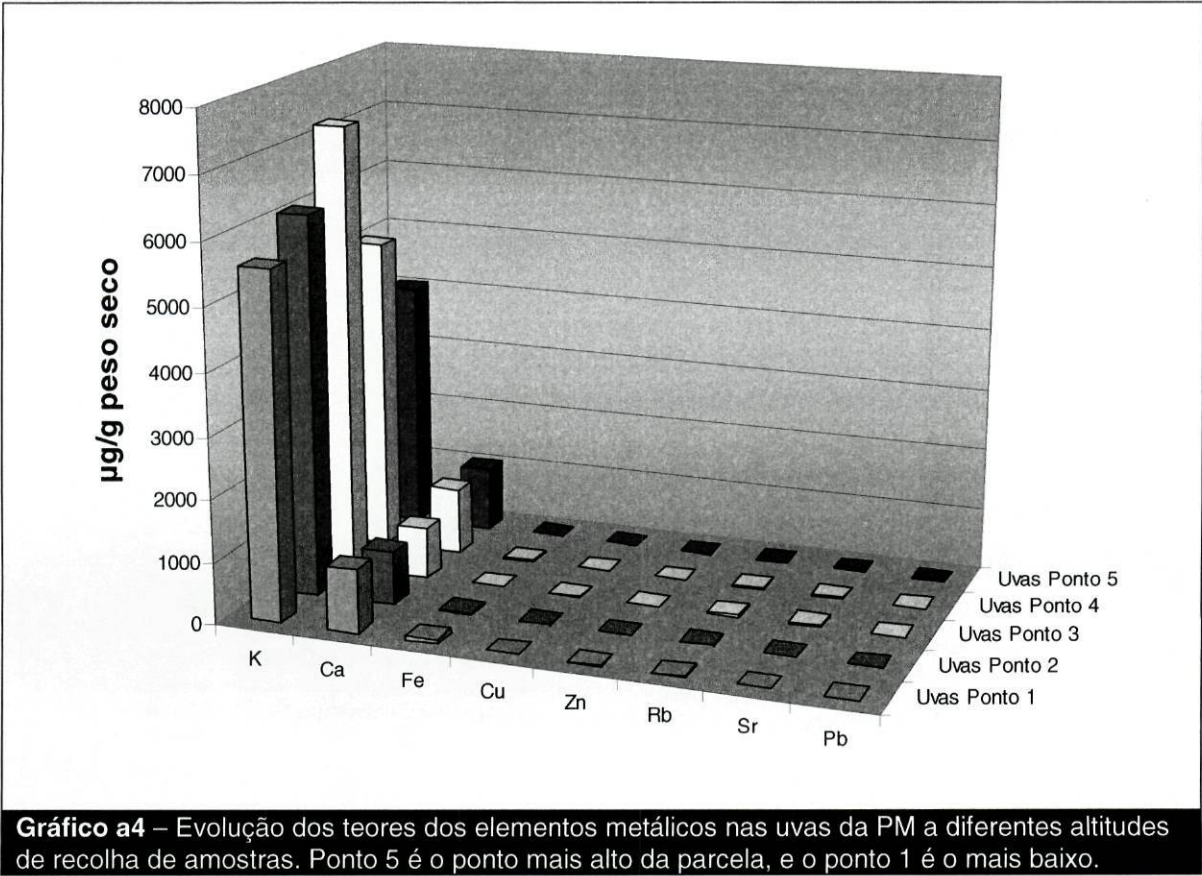


Gráfico a3 – Evolução dos teores dos elementos metálicos nas folhas da PM a diferentes altitudes de recolha de amostras. Ponto 5 é o ponto mais alto da parcela, e o ponto 1 é o mais baixo.



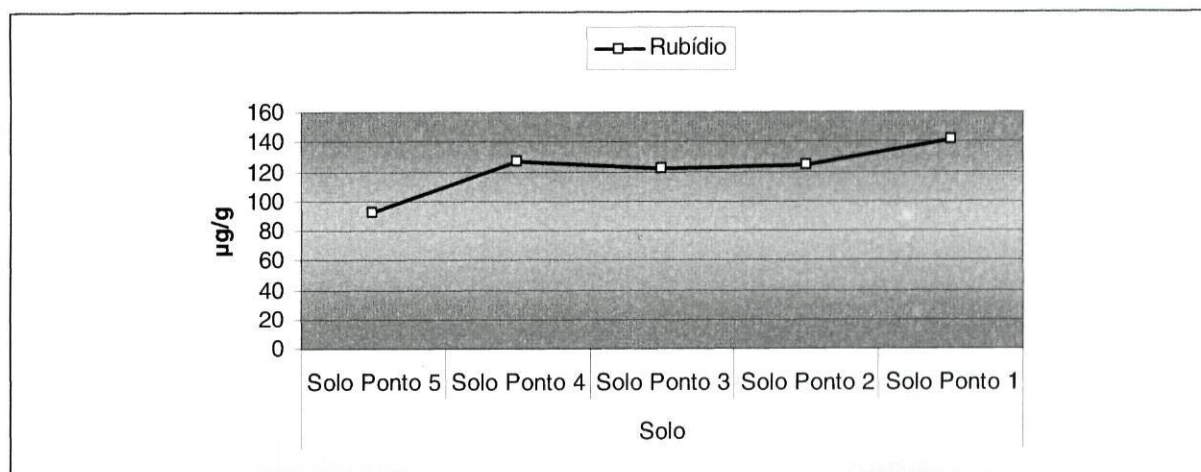


Gráfico a6 – Evolução dos teores de Rubídio no solo da PM ao longo dos vários pontos de recolha de amostras. Ponto 5 é o ponto mais alto da parcela, e o ponto 1 é o mais baixo.

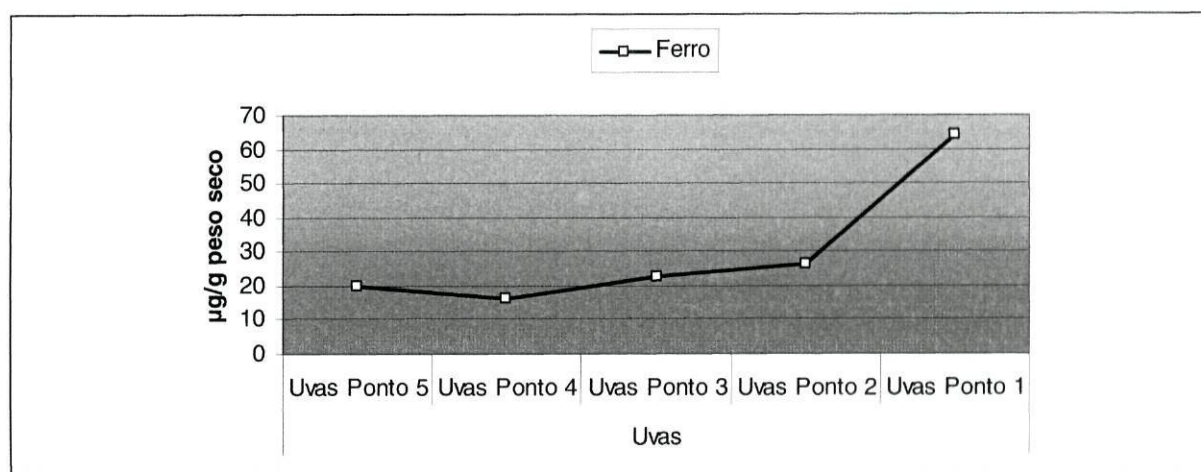


Gráfico a7 – Evolução dos teores de Ferro nas uvas da PM ao longo dos vários pontos de recolha de amostras. Ponto 5 é o ponto mais alto da parcela, e o ponto 1 é o mais baixo.

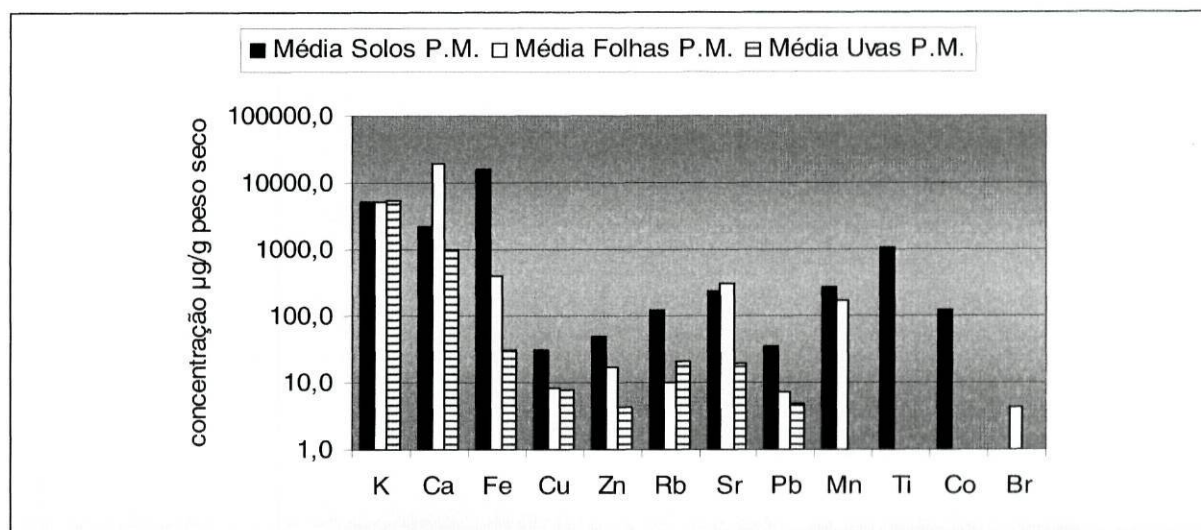


Gráfico a8 – Concentrações médias dos elementos metálicos nos solos, folhas e uvas da Parcela do Martelo.

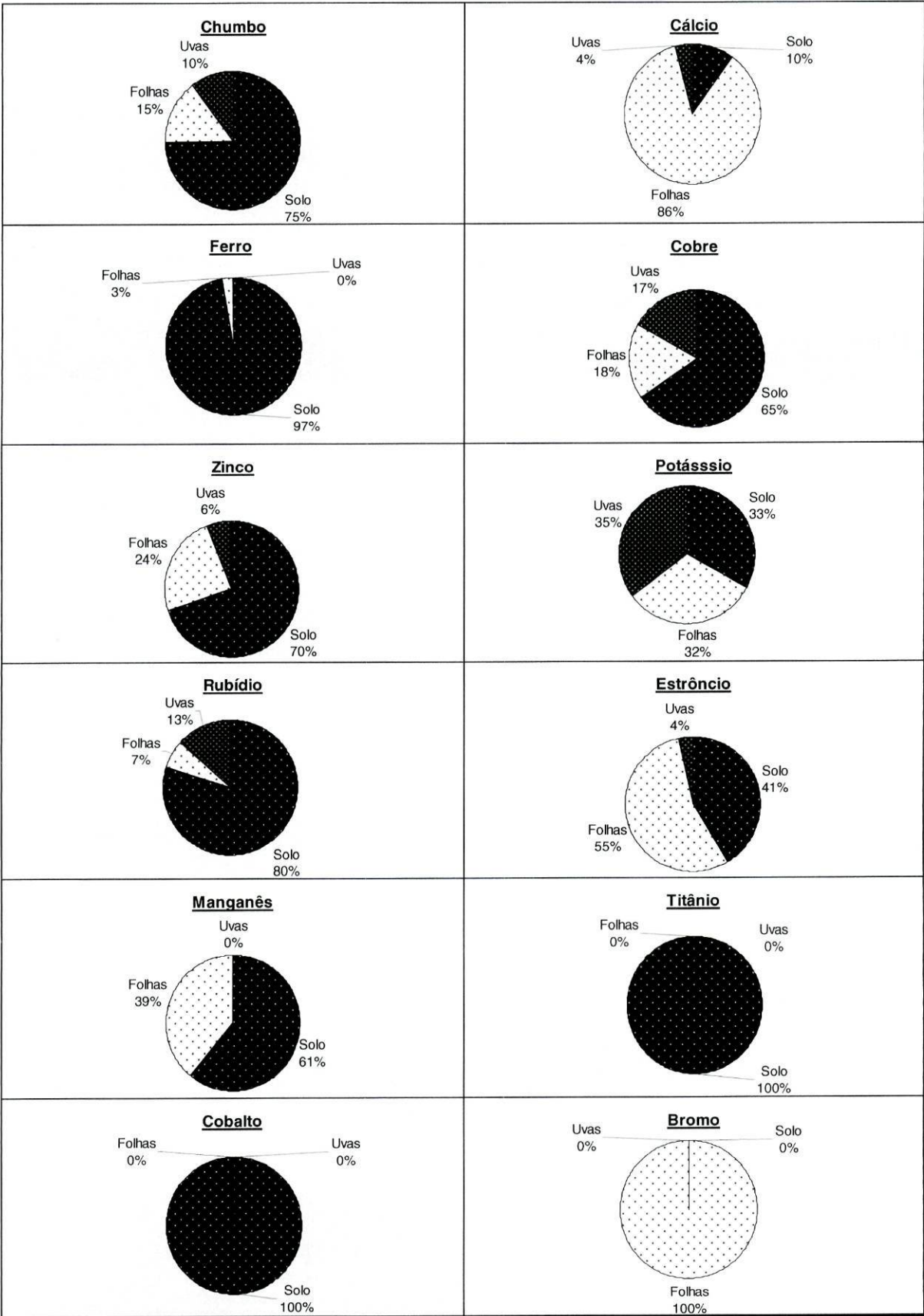


Gráfico a9 – Contribuição percentual de Pb, Ca, Fe, Cu, Zn, K, Rb, Sr, Mn, Ti, Co e Br para a composição metálica dos solos, folhas e uvas.