

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE FÍSICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

**Estudo da influência do processo de cultivo, vinificação e  
envelhecimento na composição elementar do vinho utilizando a  
técnica PIXE**

Carla Eliete Lochims dos Santos

Porto Alegre, Novembro 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE FÍSICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

**Estudo da influência do processo de cultivo, vinificação e  
envelhecimento na composição elementar do vinho utilizando a  
técnica PIXE\***

Carla Eliete lochims dos Santos

Tese realizada sob a orientação dos  
professores Johnny Ferraz Dias e Lívio  
Amaral e apresentada ao Instituto de  
Física da UFRGS como requisito parcial  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências.

Porto Alegre, Novembro 2011

\*Trabalho financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
Tecnológico (CNPq)

## AGRADECIMENTOS

Esta página, apesar de ser a segunda da tese, foi a última a ser escrita. Porque pensei várias formas de expressar aqui a minha gratidão às pessoas que estão presentes em minha vida, talvez de uma forma diferente do que em geral se costuma escrever nos agradecimentos de uma tese, mas acabei optando por simplesmente dizer *muito obrigada!*

- ao meu esposo, Paulo, por estar presente em minhas conquistas, pela ajuda na coleta das amostras na vinícola sob o sol de janeiro, pela companhia nos almoços no *Sborneas*...enfim, existem tantas coisas pelas quais agradecer. A convivência é o compartilhar dos momentos adversos e tranquilos, o que nos propicia o crescimento mútuo, e também do mais forte dos sentimentos, o amor, que é o que nos une.

- aos meus irmãos, Cláudia e Leandro, e meu cunhado Jorge, por ficarem na torcida por mim, fazendo orações, cada um do seu jeito especial... por serem meus irmãos. Vocês são muito especiais para mim.

- a minha sogra Thaís, por acreditar em mim e me apoiar;

- ao meu sogro Paulo, pelo apoio;

- ao Johnny, pela dedicação, ótima orientação e, com certeza, grande participação no meu crescimento profissional;

- ao Lívio, pela excelente co-orientação e entusiasmo a cada novo projeto, idéia ou resultado;

- à Lúcia, pelo considerável auxílio nas discussões dos artigos, tese e análises estatísticas;
- à vinícola Larentis, pelo carinho e colaboração desde 2005. Sem esta colaboração, este trabalho não teria sido realizado;
- ao grupo PIXE (e MEIS), pessoal do LII (colegas, professores e técnicos, em especial, ao Borba e ao Agostinho). Cada um, de forma diferente, contribuiu para esta tese;
- à Miriam Caldasso, por me incentivar a superar meus limites, mostrando, por sua própria vivência, que posso sempre ir mais distante.
- à minha avó, meus tios, primos, amigos de Passo do Sobrado. Acho que não lerão esta tese, mas deixo aqui registrado que sou grata por fazerem parte de minha história.

E, por fim, ao Instituto de Física e a UFRGS. Realmente sou muito grata por fazer parte desta instituição, que é de excelência.

*Aos meus pais. Vocês fazem parte da conquista de meus sonhos. Com vocês aprendi a apreciar as coisas simples da vida, que em geral são as mais bonitas, e a não desistir dos meus ideais.*

*"A fé é o fundamento da esperança e a certeza das coisas que não se vê."*

Hebreus, 11

## APRESENTAÇÃO

Em uma época em que a interligação de diferentes áreas do conhecimento e suas aplicações é indispensável para o entendimento de como os sistemas se comportam, a diferenciação de campos de atuação científica é difícil de ser feita. Isto ocorre principalmente pela relação de completeza entre os diferentes ramos de pesquisa e a busca pelo aprimoramento de instrumentos, técnicas e teorias, que é facilitada pela discussão e pelo trabalho interdisciplinar.

No que diz respeito à Física, a dificuldade de delimitar um campo de atuação é ainda maior uma vez que, como em geral dito nos livros de Ensino Médio, ela *está no dia-a-dia*. Historicamente, a Física era designada como a *ciência que estuda os fenômenos naturais*. Disto, percebe-se sua abrangência apesar de ter sido delimitada somente ao estudo dos *fenômenos físicos* a partir do século XIX <sup>1</sup>. O então “estudo dos fenômenos físicos” é o que possibilita ao pesquisador um amplo espaço de investigações, em uma escala que compreende fenômenos “micro” e “nano” e astronômicos. Assim, a capacidade do físico de atuar em diferentes áreas do conhecimento é inquestionável.

Isto justifica muitos trabalhos realizados e publicados por físicos em outras áreas, como Biociências e Ciência dos Alimentos. Em alguns estudos, o objetivo pode ser somente padronizar uma técnica, um método ou um algoritmo, verificando quão aplicável e precisa é para um determinado tipo de amostras. Em outros, em geral realizados em colaborações com profissionais da área de interesse, busca-se compreender os processos envolvidos e

responsáveis pelos resultados obtidos com a aplicação de algum método de análise, por exemplo.

Esta tese tenta reunir ambas as situações. Primeiramente, foi necessário o desenvolvimento de um método de preparação de amostras líquidas, no caso o vinho, que preservasse suas características elementares para análise com uma técnica analítica, PIXE, em um sistema de vácuo. A partir disto, testar a reprodutibilidade do método e dos resultados e então aplicar a um estudo amplo, cujos resultados possam facilitar a compreensão dos mecanismos de alteração da composição elementar durante o processamento do produto e ser utilizados por outros pesquisadores como base para futuras pesquisas e aprimoramento do processo de cultivo e vinificação.

Trabalhos como este englobam vários processos e fenômenos físicos envolvidos, propiciando ao aluno ou professor uma relação direta com a física de princípios básicos (física nuclear e atômica, campos elétrico e magnético, interação da radiação com a matéria, por exemplo) e suas aplicações, desde a obtenção do feixe de íons com determinada energia, interação deste com o material em estudo e todos os processos e fatores envolvidos que interferem na quantificação dos resultados (efeito fotoelétrico, secção de choque, absorção de radiação pela matéria, dentre outros). Além disto, o problema de estudo (material biológico ou alimento) é escolhido por questões e objetivos importantes de acordo com seu uso e impacto na sociedade.

Em suma, físicos atuando em diferentes áreas como as citadas não se tornam especialistas nas mesmas, e não é este o objetivo. Tal atuação proporciona ampla visão de possíveis soluções de problemas interdisciplinares,

possibilita a aprendizagem de como organismos vivos e materiais orgânicos se comportam do ponto de vista de mecanismos físicos e a aplicação de conhecimentos da Física mais diretamente à sociedade.

## RESUMO

O processo de cultivo da uva e elaboração do vinho tinto varietal Marselan foi parcialmente acompanhado junto a uma vinícola do Vale dos Vinhedos (RS, Brasil), com o objetivo de verificar, com técnicas analíticas baseadas em feixes iônicos, como PIXE, alterações elementares no vinho devido ao seu processamento. Amostras de solo, folhas e galhos das videiras, uvas, mosto e vinhos foram coletadas nas etapas mais importantes do ciclo de cultivo da uva e de produção do vinho. Os alvos foram preparados de acordo com as características de cada material e exigências da técnica e, então, irradiados no sistema de PIXE do Laboratório de Implantação Iônica (IF-UFRGS). Os resultados, de acordo com as análises estatísticas realizadas com teste t, ANOVA FATOR ÚNICO e Tukey, mostraram que a composição elementar do solo é constituída por Mg, Al, P, K, Ti, Mn, Fe, As, Rb e Zr. Além disso, foi verificada contaminação superficial devido, principalmente, ao Ca e Cu. Quanto ao cultivo, folhas e galhos revelaram a influência das aplicações de produtos químicos pelo acúmulo de alguns elementos no período de latência. A concentração elementar das uvas variou em função do crescimento e amadurecimento dos bagos. Em geral, durante o processo de vinificação e, em especial durante a fermentação, a concentração de vários elementos aumentou. Este foi o caso de elementos como o Mg, K, Rb e Sr. Por outro lado, alguns elementos tiveram um decréscimo na concentração devido a precipitação, como o Ca e o Cu.

*Palavras-chave: PIXE, composição elementar, vinificação, vinho, uva, solo.*

## ABSTRACT

The study of the Marselan grape cultivation and winemaking process was partially carried out in a winery located in Vale dos Vinhedos (RS, Brazil). The main goal was to employ ion-based techniques like PIXE in order to obtain elemental variations throughout the production chain of wine. Soil, vine leaves and branches, grapes, must and wine samples were collected at every important step of the production chain. Samples were prepared according to the peculiarities of each material and technique requirements. All PIXE measurements were carried at the Ionic Implantation Laboratory (IF-UFRGS). The data were analyzed with t test, ANOVA ONE WAY and Tukey. The elemental composition of soil comprises Mg, Al, P, K, Ti, Mn, Fe, As, Rb and Zr. Other elements like Cu and Ca were present over superficial layers and might be related to contaminants. With respect to the cultivation process, leaves and branches suffered from the influence of chemicals accumulated during the latency period. The elemental concentration of grapes changed during the berry growth and ripening. In general, later steps including fermentation tended to increase the concentrations of several elements like Mg, K, Rb and Sr. On the other hand, other elemental concentrations decreased due to precipitation, like Ca and Cu.

*Keywords: PIXE, elemental composition, winemaking process, wine, grape, soil.*

## SUMÁRIO

Lista de siglas e termos.....	14
Lista de figuras.....	17
Lista de tabelas.....	19
CAPÍTULO 1- Introdução	20
CAPÍTULO 2- Objetivos	25
2.1. Objetivos gerais.....	25
2.2. Objetivos específicos.....	25
CAPÍTULO 3- Técnicas analíticas por feixe de íons	26
3.1. Particle-Induced X-ray Emission (PIXE).....	27
3.1.1. Seção de choque de ionização.....	31
3.1.2. Perda de energia.....	34
3.1.3. O sistema de PIXE do LII (IF-UFRGS).....	36
3.2. Rutherford Backscattering Spectrometry (RBS).....	37
3.3. microPIXE ( $\mu$ PIXE).....	39
CAPÍTULO 4- Metodologia	40
4.1. Descrição do local.....	40
4.2. Descrição da coleta de amostras.....	41
4.3. Preparação das amostras.....	46
4.4. Parâmetros das medidas com PIXE, $\mu$ PIXE e RBS.....	48
4.5. Análise estatística dos dados.....	49

CAPÍTULO 5-Resultados e discussões	50
5.1. Solo.....	50
5.2. Folhas e galhos.....	55
5.3. Uvas.....	61
5.4. Mosto, bagaço, borra e vinho.....	64
5.5. Análise de correlação linear.....	74
5.6. Análise de Fatores.....	76
CAPÍTULO 6-Conclusões	78
ANEXO 1- Artigos publicados durante o curso de Doutorado....	81
ANEXO 2- Tabela com os resultados do SRIM para uma amostra de vinho (perda de energia, alcance projetado e stragling.....	83
REFERÊNCIAS.....	86

## Lista de siglas e termos

AAS: *Atomic Absorption Spectrometer* (Espectrometria de Absorção Atômica)

Bentonite: clarificante mineral utilizado na clarificação de vinhos

° Brix: unidade de medida da quantidade de sólidos solúveis totais presentes no suco da polpa do fruto

D.O.: Denominação de Origem

Espaldeira: sistema de condução da videira cujo dossel é vertical

FAAS: *Flame Atomic Absorption Spectrometer* (Espectrometria de Absorção Atômica em Chama)

HVEE: *High Voltage Engineering Europa*

ICP-MS: *Inductively Coupled Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massa por Plasma Acoplado Indutivamente)

IF-UFRGS: Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

I.P.V.V.: Indicação de Procedência Vale dos Vinhedos

Latada: sistema de condução da videira cujo dossel é horizontal

LII: Laboratório de Implantação Iônica

LOD: limite de detecção do sistema, obtido a partir de três desvios-padrão da área de radiação de fundo na região do pico de um determinado elemento

MEIS: *Medium Energy Ion Scattering* (Espalhamento de Íons com Energias Intermediárias)

Mylar: filme de poli (tereftalato de etileno) (PET)

NIST: *National Institute of Standards and Technology*

OIV: *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin* (Organização Internacional da Uva e do Vinho)

PIXE: *Particle-Induced X-ray Emission* (Emissão de Raios-X Induzidos por Partículas)

ppm: partes por milhão. Unidade de concentração elementar igual a miligramas por kilograma (ppm = mg/kg)

RBS: *Rutherford Backscattering Spectrometry* (Espectrometria de Espalhamento Rutherford)

SNICS: *Source of Negative Ions by Cesium Sputtering* (Fonte de Íons Negativos por *sputtering* de Cs)

SRIM: *Stopping and Range of Ions in Matter* (Freamento e Alcance dos Íons na Matéria)

SRTXRF: *Synchrotron Radiation Total-Reflection X-ray Fluorescence* (Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total)

STIM: *Scanning Transmission Ion Microscopy* (Microscopia de Varredura por Transmissão de Íons)

Stopping power: poder de freamento dos íons na matéria

Straggling: alargamento na distribuição da perda de energia após o íon ter percorrido uma distância  $dx$  na amostra

Vinho fortificado: vinho cuja fermentação alcoólica é inibida pela adição de aguardente

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Esquema do acelerador de partículas Tandetron do LII (IF-UFRGS).....	26
<b>Figura 2.</b> Exemplo de um espectro de PIXE, de contagens de raios-x em função da energia dos elementos, para uma amostra de vinho.....	27
<b>Figura 3.</b> Gráficos das seções de choque de ionização obtidas com os programas GuCSA e CASP para C, K e Rb.....	33-34
<b>Figura 4.</b> Perda de energia dos íons simulada para uma amostra de vinho....	35
<b>Figura 5.</b> Ilustração do processo de interação entre o íon incidente ( $M_1$ ) com velocidade $v_0$ e energia $E_0$ , em um átomo de massa $M_2$ .....	37
<b>Figura 6.</b> Exemplo de um espectro de RBS de contagens em função do canal e energia, ajustado com o SIMNRA, para uma amostra de uva.....	38
<b>Figura 7.</b> Imagens obtidas por $\mu$ PIXE no LII, referentes à distribuição de Fe em tecidos de fígado lesionados de peixe, para diferentes áreas de varredura do feixe.....	39
<b>Figura 8.</b> Sistema de condução espaldeira.....	41
<b>Figura 9.</b> Amostras coletadas em cada período/etapa.....	45
<b>Figura 10.</b> Média e desvio padrão da concentração dos elementos que apresentaram diferença entre os períodos e entre os níveis.....	54
<b>Figura 11.</b> Ilustração da parte da folha usada para análise e amostras de galho.....	56

<b>Figura 12.</b> Distribuição elementar do K e Ca em amostras de casca (imagens superiores) e da parte interna (imagens inferiores).....	57
<b>Figura 13.</b> Composição elementar do galho (casca e parte interna).....	59
<b>Figura 14.</b> Espectro de PIXE, qualitativo, das amostras de uva.....	61
<b>Figura 15 a.</b> Concentração elementar do Mg, P, Ca e K.....	62
<b>Figura 15 b.</b> Concentração elementar do Mn, Cu e Zn.....	62
<b>Figura 16.</b> Variação do conteúdo de Cl e Rb ao longo do processo de vinificação.....	68
<b>Figura 17.</b> Variação do conteúdo de Mg e Ca durante as etapas.....	69
<b>Figura 18.</b> Precipitação do Cu e diminuição de seu conteúdo no vinho.....	70
<b>Figura 19.</b> Precipitação do Ca e diminuição de seu conteúdo no vinho.....	71
<b>Figura 20.</b> Precipitação do Mg.....	71
<b>Figura 21.</b> Gráficos da concentração elementar do mosto, bagaço, borra e vinhos.....	72
<b>Figura 22.</b> Exemplos de diagrama de correlação. (a) sem correlação (nuvem circular), (b) correlação intermediária (nuvem inclinada), (c) correlação intermediária do tipo inversa ou negativa.....	76

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Descrição do método de preparação das amostras.....	47
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros das medidas realizadas com PIXE, $\mu$ PIXE e RBS.....	48
<b>Tabela 3.</b> Média e desvio padrão, valor mínimo e máximo da concentração dos elementos que não apresentaram diferença entre os níveis A e B do solo e entre os períodos S1 e S2.....	53
<b>Tabela 4.</b> Concentração elementar das folhas coletadas no período de latência (F1) e brotação (F2).....	58
<b>Tabela 5.</b> Concentração elementar das uvas.....	63
<b>Tabela 6.</b> Concentração elementar das amostras de mosto e vinho em mg/kg.....	66
<b>Tabela 7.</b> Concentração elementar das amostras de mosto e vinho em mg/L.....	67
<b>Tabela 8.</b> Concentração elementar do bagaço (B1) e borra trasfega (B2).....	73
<b>Tabela 9.</b> Correlação linear entre solo e uva e solo e folha.....	75
<b>Tabela 10.</b> Resultado da Análise de Fatores entre os grupos de mosto e vinhos.....	77

## CAPÍTULO 1- Introdução

Em um mercado cada vez mais competitivo na vitivinicultura, em que novas regiões produtoras ganham espaço na produção de uvas, vinhos finos e outros derivados, garantir a qualidade de produção é fundamental para o sucesso da indústria deste setor, seja ela de caráter familiar ou de grande produção. O Rio Grande do Sul é o maior produtor de uvas e vinhos no cenário nacional e de acordo com os dados mais atuais, comercializou quantidade superior a quatrocentos milhões de litros de vinhos (finos, de mesa e espumantes) e sucos em 2010 <sup>2</sup>. Dentre as regiões gaúchas produtoras, a Serra se destaca por sua considerável produção <sup>3</sup> e preservação da cultura dos imigrantes italianos. Além disso, uma das sub-regiões, o Vale dos Vinhedos, foi a primeira região brasileira a obter um selo de indicação de procedência, I.P.V.V, e recentemente, a classificação de denominação de origem, sendo atualmente onze vinhos que ostentam a D.O, de acordo com dados da Aprovale <sup>4</sup>. Logo, é inevitável a preocupação com o cultivo das videiras e o processamento da matéria-prima, dentre outros aspectos, para garantir um produto de qualidade diante da crescente concorrência.

A garantia de que o produto atenderá as exigências do mercado consumidor depende do cuidadoso manejo das videiras e do solo, boas práticas durante a colheita, processamento da uva e seqüência de etapas pós-colheita até a comercialização.

Dentre todos os compostos que contribuem para a qualidade do vinho, como açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, polifenóis e substâncias aromáticas, estão os minerais ou compostos inorgânicos <sup>5</sup>. A presença destes

no vinho é devido a uma gama de fatores, tais como propriedades minerais do solo, capacidade da videira em extraí-las através do sistema radicular e técnicas de cultivo e processamento da matéria-prima na vinícola. Desta forma, alguns elementos são naturalmente encontrados no vinho enquanto outros provem de fontes antropogênicas.

O conhecimento das fontes naturais e de possíveis contaminações e conseqüente alteração da composição elementar do vinho são objetos de estudo de diversos pesquisadores do setor vitivinícola e afins. O monitoramento de fatores que interferem na concentração de metais no vinho é muito importante para o aprimoramento de tecnologias e técnicas de cultivo e elaboração da bebida, controle de qualidade e toxicidade <sup>6</sup>, além da garantia de autenticação de origem geográfica da mesma <sup>7</sup>.

As influências do processo de elaboração e armazenamento de vinhos brancos na composição de elementos de terras raras foram estudadas por Rossano e colaboradores <sup>8</sup>, usando ICP-MS. Alterações nos níveis destes elementos foram observadas em função da clarificação do vinho pelo uso de bentonite, um clarificante mineral, e também pela condição de armazenamento, se em tanques de aço inoxidável ou em garrafas de vidro. A influência da clarificação com bentonites de diferentes características químicas e físicas na concentração de vários elementos também foi verificada por Catarino et al. <sup>9</sup>. As concentrações de Mg, Al, Ca, Mn, Fe, Ni, dentre outros, aumentaram, enquanto um decréscimo na quantidade de K, Cu, Zn e Rb foi observado.

Com o objetivo de investigar o efeito de diferentes cultivares (Cabernet Sauvignon, Bonarda, Malbec e Syrah) na absorção de metais do solo, a

concentração de 11 elementos (Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Co, Ni, K e Na) foi determinada em amostras de solo, suco de uva e vinho, procedentes do Valley de Tulum, Argentina <sup>10</sup>. Para tal, FAAS foi utilizada. Resultados revelaram que Mn pode ser usado para diferenciar variedades, de acordo com a fisiologia da planta. Além disso, o conteúdo de alguns elementos no vinho, em particular do Mg, foi associado ao solo, apesar de não depender somente das características geoquímicas do mesmo, uma vez que a concentração elementar foi afetada pelo processamento e variedade da uva. Esta mesma técnica analítica foi usada para determinar a correspondência da composição elementar entre amostras de solo e vinho de três regiões de produção da Argentina (Córdoba, La Rioja e San Juan). Os resultados mostraram que 86% do conteúdo de metais presentes no vinho pode ser relacionado à composição do solo e os restantes 14%, a fatores como clima, poluição e práticas de cultivo e vinificação <sup>11</sup>.

De forma mais abrangente e reunindo ambos os fatores, a influência do solo e processamento, a produção de dois vinhos portugueses da região de Douro foi estudada por Almeida e colaboradores <sup>12</sup> bem como a contribuição do solo para a composição elementar dos mesmos. Um dos vinhos, polivarietal (fortificado), procede de um parreiral antigo, com cerca de 60-70 anos de idade, e segue um processo tradicional de vinificação, com menos etapas comparado ao que segue técnicas atuais e adotado para a produção de um vinho monovarietal, proveniente de um parreiral jovem (10 anos de idade). Amostras de solo, suco de uva e de diferentes passos da vinificação foram medidas por ICP-MS. Concentrações de Al, Cu e Zr, dentre outros, estavam em menores valores no vinho fortificado que no respectivo suco. A diminuição na

concentração está associada à diluição e precipitação dos elementos juntamente com outras partículas durante a fermentação. Para o vinho de mesa, evidências de contaminação foram observadas para Al, Cr, Fe, Ni, Pb e V. Em resumo, a composição elementar de ambos os vinhos é alterada devido ao processo de elaboração e correlações foram obtidas entre vinho e solo para elementos em comum.

De acordo com o *International Oenological Codex*, da OIV <sup>13</sup>, Na, Ca, K, Fe, Cu, Cr, Ni, Pb, dentre outros, devem ser analisados por AAS para fins de controle, seguindo uma metodologia definida de análise. No entanto, diferentes técnicas analíticas são usadas com a mesma ou semelhante finalidade, como as já citadas anteriormente e sumarizado por González e colaboradores <sup>7</sup>.

Neste contexto, pode-se dizer que PIXE <sup>14</sup> é uma técnica de uso recente na análise elementar de vinhos e suco de uva <sup>15 16</sup> e outras bebidas e alimentos <sup>17 18</sup>. Baseada na emissão de raios-x característicos dos átomos constituintes do material, é multielementar, com bons limites de detecção (em torno de uma parte por milhão) e, dependendo do material, o espectro é relativamente fácil e rápido de ser obtido e analisado. Detalhes sobre a técnica e respectivas análises estão descritos na página 27.

Recentemente, a caracterização elementar de vinhos procedentes de quatro regiões do estado do Rio Grande do Sul – região central, Campanha, Serra Gaúcha e sua sub-região, Vale dos Vinhedos – foi estudada com a técnica PIXE e a metodologia de preparação de amostras líquidas para PIXE foi desenvolvida <sup>15</sup>.

De acordo com os resultados obtidos para o varietal Cabernet Sauvignon, vinhos procedentes das quatro diferentes regiões foram compatíveis do ponto de vista elementar, embora o conteúdo de Mg, Al, Cl, K e Ca em vinhos do Centro tenha sido menor se comparado aos demais. K foi o elemento mais abundante no vinho, seguido de P, S, Mg e Ca, que, exceto pelo S, são conhecidos como os principais constituintes do vinho <sup>19</sup>. Além disso, os resultados obtidos com PIXE para Mn, Fe, Zn e Rb foram compatíveis com os obtidos por Anjos e colaboradores, no estudo de vinhos da região sul do Brasil utilizando SRTXRF <sup>20</sup>.

Em se tratando do Vale dos Vinhedos, a análise dos vinhos das oito diferentes vinícolas revelou algumas diferenças como no conteúdo de K e P. Considerando que o Vale é uma região delimitada geograficamente de acordo com o perfil do solo e das características topográficas e topoclimáticas, os resultados levaram a conclusão de que existem peculiaridades, provavelmente advindas do cultivo e processamento da uva e do vinho de cada vinícola em particular. Portanto, uma análise etapa por etapa tornou-se importante para elucidar as principais razões de alterações da composição elementar do vinho, ampliando o conhecimento geral sobre o cultivo, processamento e vinificação, e de forma específica, o conhecimento sobre a produção do Vale dos Vinhedos, que ainda é pouco investigada do ponto de vista elementar.

## CAPÍTULO 2 - Objetivos

### **2.1. Objetivos gerais**

- Aplicar PIXE <sup>14</sup> ao estudo do balanço elementar de todo o ciclo de cultivo da uva e elaboração do vinho, considerando um processo real junto a uma vinícola;

- Identificar possíveis fontes de alteração da composição elementar ao longo do processo de vinificação.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar a composição elementar do solo, videira e uva;

- Verificar a influência das técnicas de manejo na composição elementar principalmente da videira e da uva;

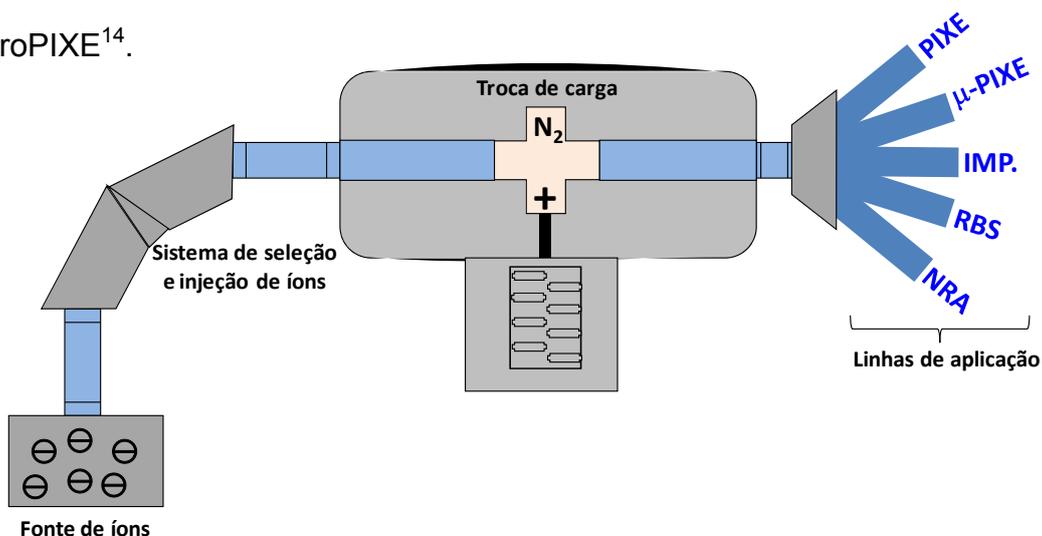
- Verificar como as etapas durante a vinificação, como fermentação e trasfega, influenciam na composição elementar do vinho;

- Aprimorar a metodologia de preparação de amostras, como as de vinho e de planta, para análise com PIXE <sup>14</sup>.

## CAPÍTULO 3 - Técnicas analíticas por feixe de íons

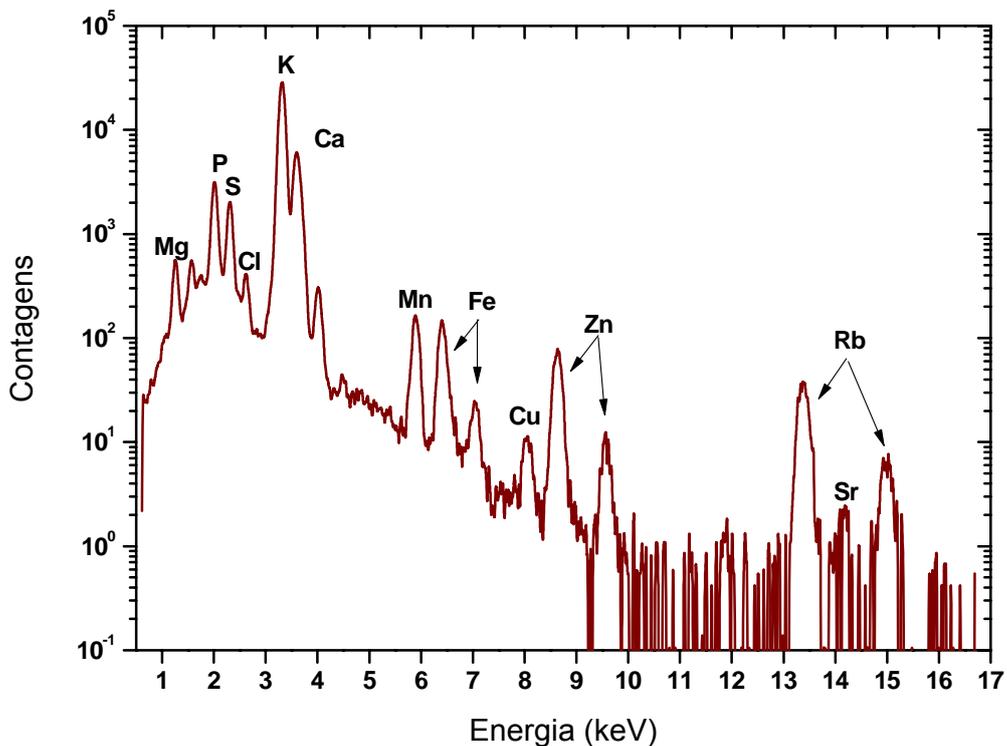
O Laboratório de Implantação Iônica do IF-UFRGS conta com as facilidades de um acelerador Tandetron (modelo TN-4130-HC) de tensão terminal de 3 MV, fabricado pela HVEE, que oferece importantes linhas de aplicação, como RBS, PIXE e  $\mu$ PIXE, além de um acelerador eletrostático, usado principalmente para MEIS e Implantação Iônica. Este trabalho foi desenvolvido utilizando o Tandetron. A figura 1 é uma ilustração deste acelerador, que consiste basicamente de duas fontes de íons, usadas de acordo com a técnica escolhida, sendo uma do tipo *sputtering* (SNICS) e outra do tipo *duoplasmatron*; sistema de seleção e injeção de íons, composto por magnetos e fendas ajustáveis; sistema tipo *stripper*, de nitrogênio gasoso, no qual ocorre a troca de carga dos íons, junto ao terminal central positivo do acelerador, e linhas de aplicação.

Na seqüência deste capítulo é descrita a principal técnica utilizada neste trabalho, PIXE<sup>14</sup>, bem como as de caráter complementar, RBS<sup>21</sup> e microPIXE<sup>14</sup>.



**Figura 1.** Esquema do acelerador de partículas Tandetron do LII (IF-UFRGS).

**3.1. Particle-Induced X-ray Emission (PIXE)** <sup>14</sup> é uma técnica analítica cujo princípio básico é a emissão de raios-x pelos átomos através da interação com um feixe de íons (neste caso, prótons) com determinada energia, em geral 2-3 MeV (em uma faixa mais abrangente, de 1 MeV à altas energias, como 68 MeV <sup>22</sup>). O feixe, ao incidir na amostra, pode ionizar os átomos constituintes, ocasionando a ejeção de um elétron, que é substituído por outro elétron de uma camada mais externa. Na transição deste elétron, ocorre liberação de raios-x, com uma energia referente à diferença de energia entre camadas. Portanto, os raios-x emitidos são característicos de cada átomo.



**Figura 2.** Exemplo de um espectro de PIXE <sup>14</sup>, de contagens de raios-x em função da energia dos elementos, para uma amostra de vinho ( $Z > 11$ ).

O espectro de PIXE <sup>14</sup> (figura 2) obtido desta forma é dependente da amostra no qual o feixe incide e esta é, para fins de cálculo das concentrações

elementares, categorizada como *finas*, *grossas*, de espessura *intermediária* ou constituída por *camadas*. Aplicações desta técnica no estudo de alimentos e materiais biológicos tratam, em geral, de amostras multielementares, homogêneas, finas ou grossas (ênfase será dada à descrição de processos e contabilização de raios-x para amostras grossas, por serem assim as analisadas neste trabalho). Estes termos definem as amostras de acordo com a perda de energia das partículas do feixe no interior das mesmas e não exatamente com a espessura. Resumidamente, amostras finas são aquelas nas quais o feixe praticamente não perde energia e os efeitos de matriz com relação aos raios-x emitidos são desprezíveis. Matriz é o termo usado para designar o conjunto de elementos de maior concentração em uma amostra que podem não ser detectáveis por PIXE <sup>14</sup>, mas são os responsáveis principalmente pela atenuação dos raios-x. O espectro de amostras finas, em especial se for constituída por um único elemento, é mais fácil de ser analisado em comparação com o de uma amostra grossa, na qual o feixe perde toda a energia de incidência e os efeitos de matriz são relevantes para a quantificação.

Portanto, a conversão do número de raios-x emitidos por um determinado elemento em concentração pode ser complexa, envolvendo vários conceitos e necessitando de uma base de dados completa, que inclui <sup>23 24</sup>:

- energia das linhas de raios-x;
- seção de choque de produção de raios-x;
- poder de freamento dos prótons e fatores de atenuação de raios-x nos materiais;

- seção de choque do efeito fotoelétrico.

A informação sobre a energia das linhas de raios-x é necessária para identificação de cada pico do espectro. As seções de choque de produção de raios-x são obtidas pela combinação da seção de choque de ionização induzida por prótons, fluorescência e probabilidades de transição Coster Kronig; informações sobre poder de freamento e fatores de atenuação de raios-x, bem como seção de choque do efeito fotoelétrico, são necessárias para determinação das contagens de raios-x e contribuições de fluorescência secundária, respectivamente.

A partir da base de dados e de procedimentos numéricos é possível modelar o espectro de PIXE <sup>14</sup>, determinar as áreas dos picos e convertê-las em concentrações elementares considerando algum tipo de padronização. Matematicamente, o número de contagens de raios-x referentes à camada K de um elemento de número atômico Z e massa atômica A é dada pela equação 1,

$$Y(Z) = \frac{N_{av} \omega_{KZ} b_{K,Z} t_{K,Z} \epsilon_z^i (\Omega / 4\pi)}{A_Z} N_p C_Z \int_{E_0}^{E_f} \frac{\sigma_Z(E) T_Z(E)}{S_M(E)} dE \quad (1)$$

onde:

- $N_{av}$ : número de Avogadro;
- $\omega_{KZ}$ : fluorescência;
- $b_{KZ}$ : fração de intensidade dos raios-x.
- $t_{K,Z}$ : transmissão através de qualquer absorvedor interposto entre a amostra e o detector;

- $\varepsilon_z^i$ : eficiência intrínseca do detector (dependente da geometria do sistema e da eficiência intrínseca do cristal);
- $\Omega/4\pi$ : fração do ângulo sólido subtendida pelo detector;
- $N_p$ : número de prótons;
- $C_z$ : concentração;
- $E_0$  e  $E_f$ : energias de entrada e saída do próton.
- $\sigma_z(E)$ : seção de choque de ionização da camada K para prótons com energia E correspondendo a uma profundidade x no interior da amostra;
- $T_z(E)$ : fator de transmissão de raios-x na matriz;
- $S_M(E)$ : poder de freamento da matriz (*stopping power*), calculado pela equação 2, em que  $\rho$  representa a densidade da amostra.

$$S_M = \rho^{-1} \frac{dE}{dx} \quad (2)$$

A integral na equação 1 inclui os termos dependentes da energia e da matriz, que são totalmente considerados em amostras grossas, nas quais  $E_f = 0$ . Definindo  $Y(Z)$  como o número de contagens de raios-x por unidade de ângulo sólido, por unidade de carga dos prótons e por unidade de concentração, a equação 1 se resume a equação 3, através da qual se obtém a concentração  $C_z$  de um elemento.

$$Y(Z) = H\varepsilon_z^i t_z C_z Y_1(Z) \quad (3)$$

Nesta equação, H é uma *constante* que reúne os fatores experimentais e geométricos específicos de cada sistema de PIXE <sup>14</sup>, chamada de *constante* ou

*fator de padronização*. O termo *constante* nem sempre é corretamente aplicável uma vez que os valores de H podem ser dependentes da energia.

Na seqüência do texto, estão apresentados dois exemplos, para o caso de uma amostra de vinho (matriz orgânica), considerada grossa. O primeiro diz respeito às seções de choque de ionização, calculadas por dois diferentes métodos (GUCSA <sup>28</sup> e Casp <sup>29</sup>), enquanto que o segundo trata da perda de energia do feixe de prótons (H<sup>+</sup>) para o mesmo tipo de amostra.

### **3.1.1. Seção de choque de ionização**

A seção de choque de ionização ( $\sigma_{ion}$ ) está relacionada à probabilidade de que um átomo seja ionizado devido à interação com outras partículas ou fótons. No caso da técnica PIXE <sup>14</sup>, a ionização do átomo pode levar à emissão de raios-x característicos, uma vez que a seção de choque de produção de raios-x é menor do que a de ionização, devido à competição com outros processos físicos.

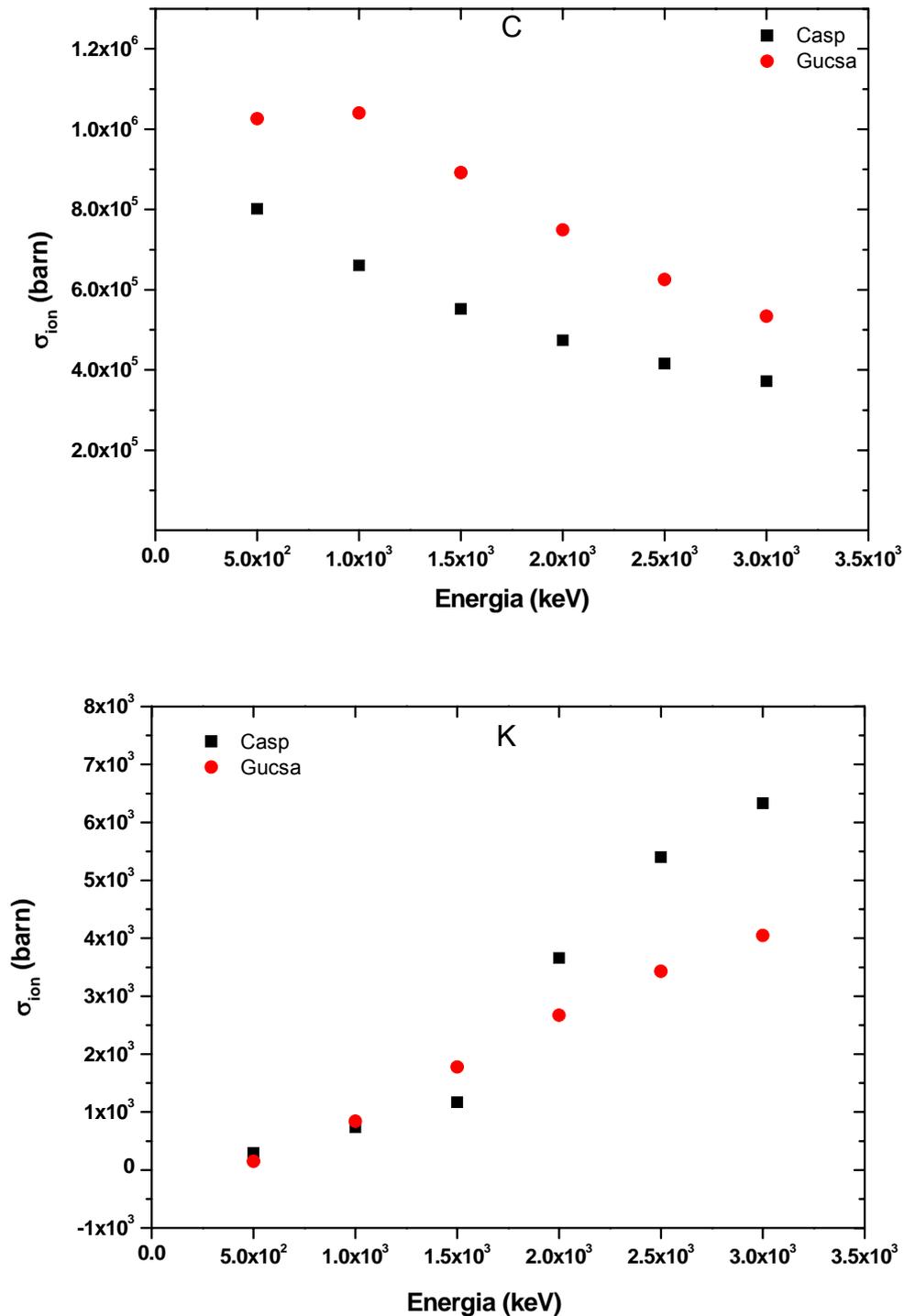
À medida que teorias e modelos matemáticos são aprimorados, atualizações na base de dados de programas como o GUPIXWIN <sup>25</sup>, usado para quantificação dos espectros de PIXE <sup>14</sup> no LII, são requeridas. Na versão original deste programa (1989), a base de dados para  $\sigma_{ion}$  considerava os valores calculados por Chen e Crasemann <sup>26</sup> de acordo com a teoria ECPSSR-BC-DHS, e era limitada a feixes de prótons incidentes com energia máxima de 3 MeV. A teoria ECPSSR calcula a perda de energia (E) considerando a deflexão por efeitos coulombianos (C), bem como a teoria do estado estacionário perturbado (PSS) e os efeitos relativísticos (R). Ou seja, ECPRSS descreve a interação entre um íon incidente (partícula 1) e o átomo da amostra

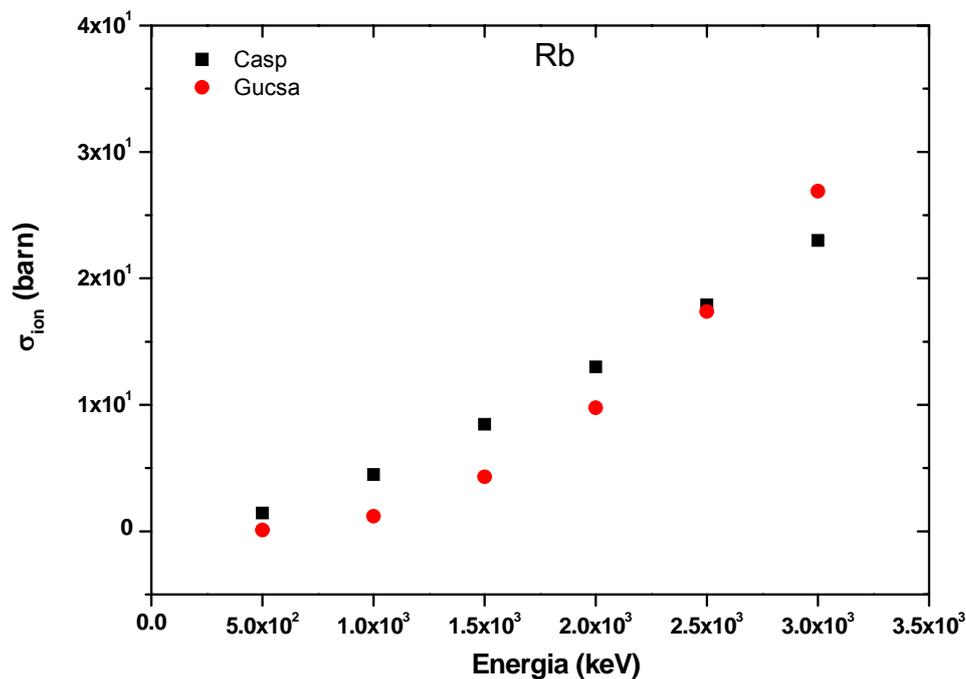
alvo (partícula 2), sendo que  $Z_1 \gg Z_2$  e  $v_1 \gg v_2$ ; considera um estado estacionário perturbado do elétron, usando teoria de perturbação de primeira ordem para resolver a mudança de energia de ligação, além de incorporar detalhes da interação coloumbiana entre o íon incidente e o núcleo atômico do alvo, importantes para baixas energias, e correção relativística no movimento do elétron.

Em versões posteriores do programa, foi possível aumentar a faixa de energia (até 5 MeV) para linhas K de 28 elementos ( $22 < Z < 92$ ), linhas L (1-5 MeV) e linhas M (0-3.25 MeV) pela disponibilidade de um maior número de  $\sigma_{ion}$ . Em geral, o conhecimento teórico das seções de choque de ionização e a obtenção de dados experimentais afins permitem a ampliação da faixa de número atômico e de energia de íons incidentes para ajuste dos espectros experimentais. Atualmente, o GUPIXWIN<sup>25</sup> trabalha considerando dados da teoria ECPSSR-BC-DHS e ECPSSR-BC-HS (dados obtidos com o programa ISICS<sup>27</sup>, desenvolvido para cálculo de seções de choque), diferentes entre si somente pela função de onda do elétron.

As seções de choque de ionização usadas pelo GUPIXWIN<sup>25</sup> podem ser verificadas através de um programa auxiliar fornecido no pacote de instalação, chamado GUCSA<sup>28</sup>. A proposta nesta seção é comparar dados calculados por este programa, para um feixe de prótons em uma faixa de energia de 0.5-3 MeV com os resultados fornecidos pelo Casp (versão 5.1)<sup>29 30</sup>, que oferece um modelo mais simples e rápido para obtenção das seções de choque. Com este programa, é possível calcular a perda de energia bem como as seções de choque de ionização. O método considera uma aproximação dependente do parâmetro de impacto (colisão íon incidente-alvo), a partir da teoria de

perturbação de primeira ordem (PCA – *Perturbative Convolution Approximation*), mas não inclui dados experimentais para obtenção de  $\sigma_{\text{ion}}$ . A figura 3 mostra os resultados das seções de choque de ionização (em unidades de barn) da camada K, obtidas por ambos os programas, para C, K e Rb, que são elementos presentes no vinho.





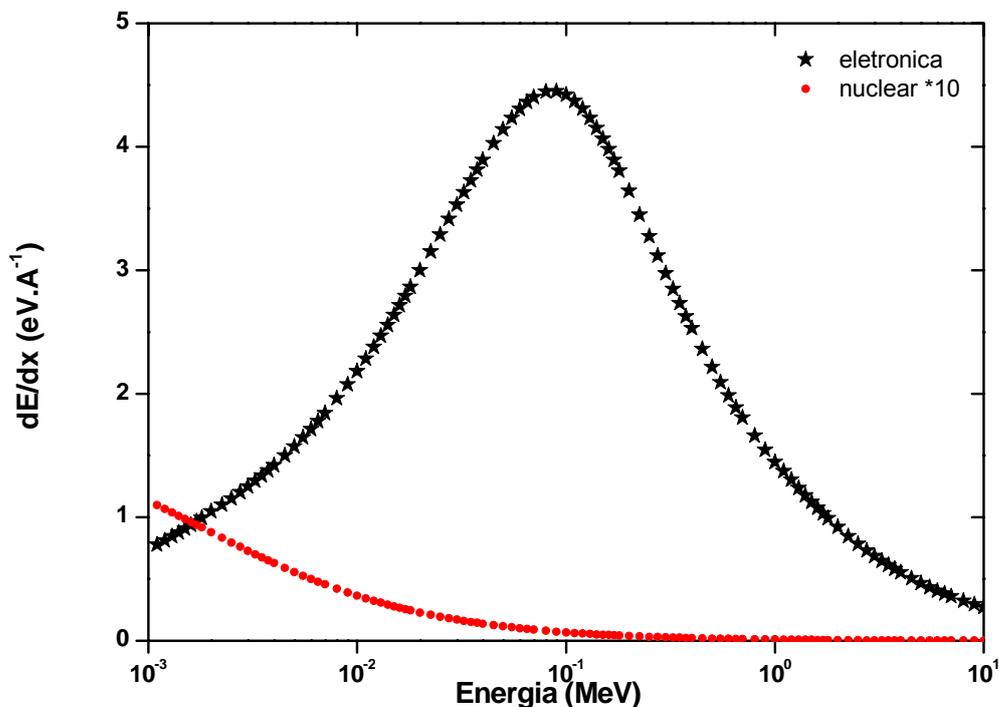
**Figura 3.** Gráficos das seções de choque de ionização obtidas com os programas GuCSA<sup>28</sup> e Casp<sup>29</sup> para C, K e Rb.

Como pode ser visto nos gráficos acima, as seções de choque de ionização são dependentes da energia do íon incidente e do átomo alvo, sendo inversamente proporcional a energia para átomos leves, como C. Além disso, existe uma discrepância nos resultados obtidos com ambos os programas, tornando difícil a comparação entre a base de dados do GUPIXWIN<sup>25</sup> com os dados fornecidos pelo Casp<sup>29</sup>.

### 3.1.2. Perda de energia

O feixe de íons, à medida que penetra na amostra, perde energia devido às interações com os átomos da amostra. Estas interações são caracterizadas, principalmente, pelas colisões inelásticas com os elétrons – perda de energia eletrônica  $(dE/dx)_{elec}$  – e, em menor frequência, pelas colisões com os núcleos dos átomos – perda de energia nuclear  $(dE/dx)_{nucl}$ . Para íons leves, a perda de

energia nuclear é importante para baixas energias, enquanto que para médias e altas energias, a perda de energia eletrônica prevalece. Isto é exemplificado na figura 4, cujos valores de perda de energia dos prótons incidentes em uma amostra de vinho (densidade de massa seca aproximadamente igual a  $0.7\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) foram obtidos com o programa SRIM (versão 2008.04) <sup>31</sup>. Este programa calcula a perda de energia bem como o alcance do íon incidente na amostra, levando em conta processos quânticos de interação íon-átomo alvo. A simulação foi feita considerando os constituintes majoritários do vinho, cujas proporções referentes à soma total destes elementos são apresentadas entre parênteses: C (55.32%), O (35.33%), Mg (0.4%), P (1%), S (0.4%), Cl (0.1%), K (7.19%), Ca (0.2%) e Rb (0.06%) <sup>15</sup>. No caso de PIXE <sup>14</sup> com um feixe de  $\text{H}^+$  de energia de 2 MeV, observa-se que a perda de energia eletrônica é em torno de  $0.9\text{ eV}/\text{\AA}$  em uma amostra de vinho, enquanto que a perda de energia nuclear é praticamente nula.



**Figura 4.** Perda de energia dos íons simulada para uma amostra de vinho (escala horizontal logarítmica).

Todos os valores de perda de energia apresentados na figura 4, bem como o alcance projetado dos íons na amostra e o *stragglings*, podem ser verificados no Anexo 2

### **3.1.3. O sistema de PIXE do LII (IF-UFRGS)**

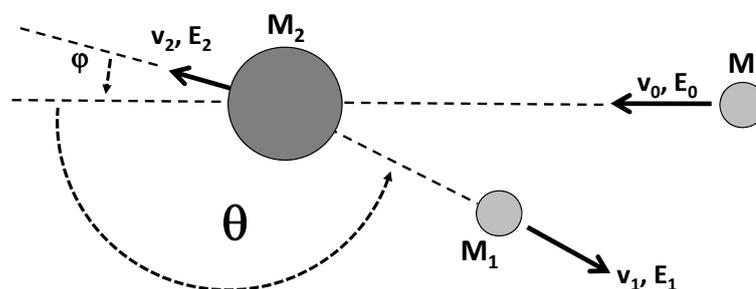
O sistema de PIXE <sup>14</sup> do LII está em operação desde 1997 aproximadamente, e como já citado anteriormente, é uma das linhas de aplicação do Tandetron. As amostras são irradiadas em uma câmara de reações, original da HVVEE, que opera em vácuo de  $10^{-6}$  mbar. No interior desta câmara, em frente ao suporte das amostras, há um filamento de W para descarregar amostras isolantes <sup>32</sup>. As amostras são visualizadas e posicionadas no interior da câmara utilizando monitoramento por vídeo.

A detecção é feita com um detector de Si(Li) (Sirius 80 e2V da Scientific Instruments), cuja resolução é de aproximadamente 150 eV em 5.9 keV e está posicionado a 45° com relação a direção de incidência do feixe de prótons. Este detector é usado para elementos com  $11 \leq Z \leq 40$ . A presença de elementos mais pesados na amostra é verificada por um detector de HPGe (Ortec), que coleta o espectro simultaneamente ao de Si(Li), a 135° com relação a direção de incidência do feixe. Em frente a ambos os detectores existem filtros, de forma a reduzir as contagens de raios-x provenientes de elementos da região de menor energia do espectro de PIXE <sup>14</sup>, para que as mesmas não interfiram nas contagens de raios-x de elementos mais pesados, especialmente no caso do detector de HPGe, para o qual é usado um filtro de mylar de 430  $\mu\text{m}$ , uma camada de ar (15 mm) e um filtro de polietileno de 8.5  $\mu\text{m}$ . Para o detector de Si(Li) é usado um filtro de mylar de 364.9  $\mu\text{m}$ , com um

orifício central de  $1 \text{ mm}^2$ . A aquisição dos dados de raios-x é feita por um sistema de quatro multicanais (Multiport II) e pelo programa Gamma Acquisition & Analysis (Genie 2000), ambos da Canberra Industries.

O sistema de PIXE <sup>14</sup> é padronizado para diferentes tipos de amostras (origem vegetal, animal e geológica), através da comparação do espectro medido com o espectro obtido de um padrão, previamente selecionado e que preferencialmente possui a matriz mais semelhante possível àquela da amostra a ser analisada. Fatores experimentais como os geométricos, ângulo sólido do detector, absorvedores e carga acumulada são levados em consideração através da contabilização do fator de padronização H.

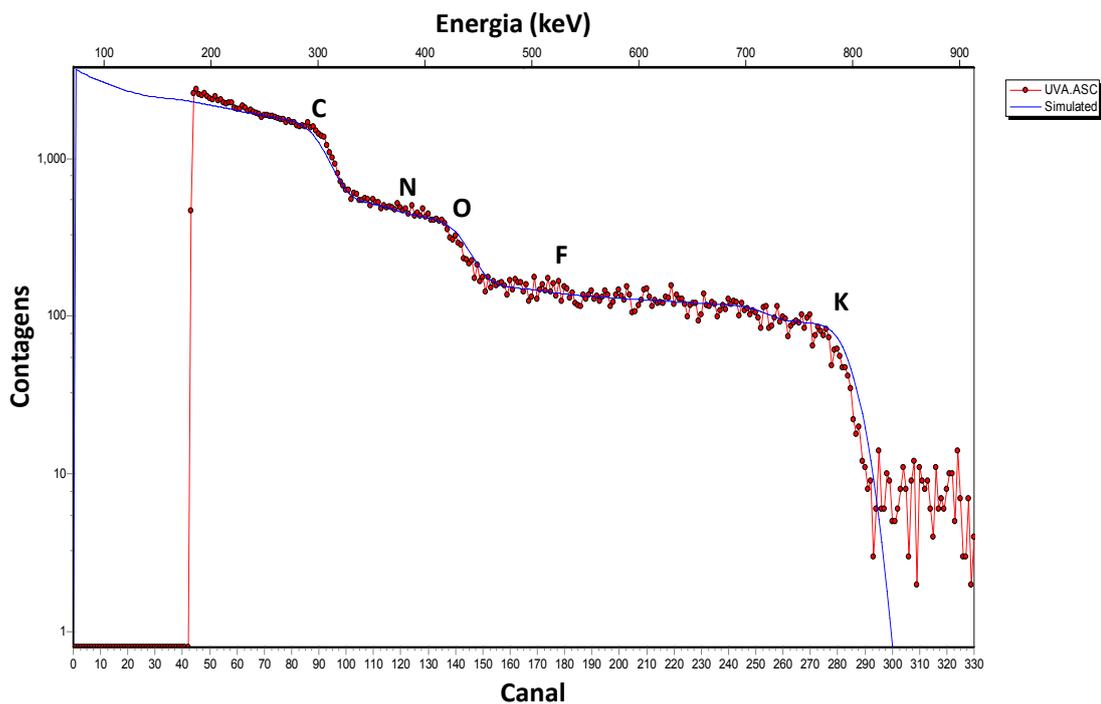
**3.2. Rutherford Backscattering Spectrometry (RBS)** <sup>21</sup> é uma técnica descrita pela interação entre íons incidentes ( $\text{He}^+$  ou  $\text{H}^+$ ) e átomos do material a ser estudado, através do espalhamento de Rutherford. Nesta interação, considerada uma colisão elástica (figura 5), os íons incidentes perdem uma fração de sua energia de incidência ( $E_0$ ), e os que são retroespalhados, são detectados com uma energia  $E_1$ .



**Figura 5.** Ilustração do processo de interação entre o íon incidente ( $M_1$ ) com velocidade  $v_0$  e energia  $E_0$ , em um átomo de massa  $M_2$ . Após a colisão, as energias e velocidade de  $M_1$  e  $M_2$  são, respectivamente,  $v_1$  e  $E_1$ , e  $v_2$  e  $E_2$ .

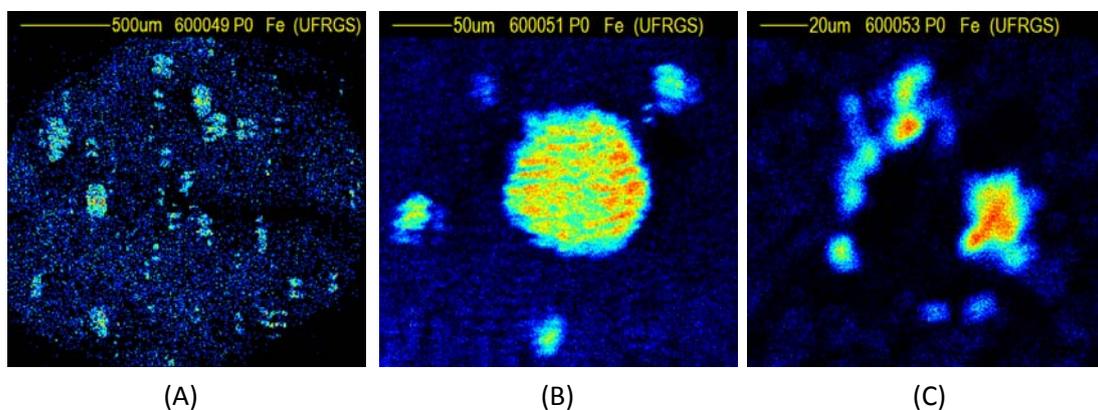
A razão entre  $E_0$  e  $E_1$  define o fator cinemático,  $K$ , importante para identificação dos elementos presentes na amostra. Além de  $K$ , outras grandezas são importantes na quantificação de um espectro de RBS <sup>21</sup> (figura 6), como a seção de choque de espalhamento, o poder de freamento e o *stragglng* <sup>33</sup>.

Neste trabalho, RBS <sup>21</sup> foi usada para determinação da matriz das amostras, uma vez que o sistema de PIXE <sup>14</sup> do LII não contempla a detecção de elementos com  $Z < 11$ . O ajuste dos espectros foi feito com o programa SIMNRA versão 6.04 <sup>34</sup>.



**Figura 6.** Exemplo de um espectro de RBS <sup>21</sup> de contagens em função do canal e energia, ajustado com o SIMNRA <sup>34</sup>, para uma amostra de uva, no qual é possível visualizar nitidamente os sinais do C, O e K.

**3.3. *microPIXE* ( $\mu$ PIXE)** <sup>14</sup> é semelhante a PIXE <sup>14</sup> no que diz respeito ao processo físico de emissão dos raios-x característicos. As principais diferenças estão relacionadas ao tamanho do feixe que, para  $\mu$ PIXE <sup>14</sup>, é focalizado e da ordem de micrometros; à possibilidade de obtenção de imagens bidimensionais da distribuição elementar do material em estudo (figura 7), em áreas selecionadas, e à preparação das amostras que, para tecidos biológicos, podem ser obtidas por seccionamento e deposição em substratos apropriados como *mylar*. A figura 7 é um exemplo da distribuição de Fe em tecidos de fígado lesionados de peixe, referente a diferentes áreas de varredura do feixe de H<sup>+</sup>.  $\mu$ PIXE <sup>14</sup> faz parte do conjunto de técnicas da linha de microfioxe do LII, que inclui também STIM e  $\mu$ RBS. Esta linha consiste em um modelo da Oxford, com um arranjo de focalização tripleto quadrupolar.



**Figura 7\*.** Imagens obtidas por  $\mu$ PIXE <sup>14</sup> no LII, referentes à distribuição de Fe em tecidos de fígado lesionados de peixe, para diferentes áreas de varredura do feixe: 2x2mm<sup>2</sup> (imagem A), 300x300 $\mu$ m<sup>2</sup> (imagem B) e 150x150 $\mu$ m<sup>2</sup> (imagem C). As regiões de cores mais claras significam maior concentração do elemento e as mais escuras, menor concentração.

\*Imagens cedidas por Elis Moura Stori

## CAPÍTULO 4-Metodologia

### **4.1. Descrição do local**

Este trabalho foi realizado com a colaboração da vinícola Villagio Larentis, localizada no Vale dos Vinhedos, Bento Gonçalves, RS, onde as amostras foram coletadas em cada período da safra 2010. Esta vinícola está no mercado de vinhos finos há dez anos e produz, em média, 70000 litros de vinho por safra. Os vinhos são elaborados com uvas de cultivo próprio, em áreas pertencentes ao Vale (aproximadamente 18 ha), de diferentes variedades como Ancellotta, Merlot, Cabernet Sauvignon, Marselan, Pinotage e Chardonnay. Além disto, produz espumantes do tipo *brut* e *moscatel*.

O objeto de estudo foi o varietal tinto Marselan, obtido do cruzamento das variedades Cabernet Sauvignon e Grenache. A decisão por este varietal ocorreu devido ao fato de as uvas pertencerem a um mesmo parreiral, ou seja, serem cultivadas em uma única área (1.09 ha) ao lado da vinícola, facilitando as coletas, o que não ocorria com as demais variedades. O sistema de condução da videira é espaldeira<sup>35</sup> como pode ser visto na figura 8.



**Figura 8.** Sistema de condução espaldeira <sup>35</sup>.

Este sistema de condução é, em geral, de menor custo de implementação se comparado com o sistema latada <sup>35</sup>, proporciona boa aeração e adaptação para a maioria das espécies viníferas e facilita o trabalho mecanizado e manual.

#### ***4.2 . Descrição da coleta de amostras***

A coleta de amostras teve início em maio de 2009, período de latência da videira e pode-se dizer de transição entre as safras 2009-2010, e foi realizada de acordo com as principais etapas de manejo e processamento do vinho.

O processo de cultivo da uva e produção da bebida pode ser dividido em quatro períodos, sendo os três primeiros correlacionados com o próprio ciclo da videira, e o último com o processamento do vinho. Durante o período 4, as

coletas foram feitas dentro da própria vinícola, de acordo com o ciclo de metodologia de vinificação.

De forma mais detalhada, os períodos de coleta foram os seguintes:

- *Período 1.* Este período compreendeu os meses de abril a agosto. Este é o período de latência e de acúmulo de substâncias de reserva para o ciclo seguinte. Época do plantio e a enxertia de plantas novas, e a adubação e poda de inverno dos ramos não produtivos;

- *Período 2.* Período entre setembro e dezembro, em que ocorreu a brotação e o crescimento. Com a brotação das folhas, ocorreu a produção e circulação de seiva (*Lacrima vitis* ou choro da videira). Época da capina. Depois dos rebentos e das folhas, a videira apresentou os botões de flor, fase conhecida como floração. A partir de então e da fecundação, as bagas iniciaram o processo de crescimento;

- *Período 3.* Período compreendido entre dezembro e fevereiro. As bagas continuaram crescendo, alterando sua composição química e coloração. Após isto, passaram para a fase de maturação, na qual atingiram o grau ideal de açúcar (medido em °Brix) e maturação fenólica para a produção de vinho. Fase de aplicação do fungicida sulfato de Cu (em torno de 40 dias antes da colheita). No final de fevereiro, iniciou-se, então, a vindima, que consistiu na colheita da uva. A colheita foi realizada manualmente na vinícola em questão;

- *Período 4.* Elaboração do vinho. O processo de vinificação iniciou com o recebimento das uvas na vinícola. As diferentes etapas do processamento da uva e de elaboração do vinho tinto estão listadas a seguir:

- *Etapa 4.1.* Desengace e esmagamento: após a recepção na vinícola, a uva passou pelo desengace e esmagamento. Desengace é o processo de eliminação dos cachos das uvas. O esmagamento foi feito para liberação do mosto;

- *Etapa 4.2.* Encubação, fermentação alcoólica e maceração: à medida que o esmagamento ocorria, o mosto era direcionado para tanques de aço inoxidável (encubação), onde ocorreu a fermentação alcoólica. Para isto, foi adicionado ao mosto metabissulfito de potássio e leveduras selecionadas. A fermentação se deu juntamente com as cascas, pois simultaneamente ocorreu a maceração, para extração das antocianinas, com dissolução dos pigmentos, e taninos. De forma geral, a maceração é uma das etapas mais importantes da vinificação. O tempo de fermentação do Marselan na presente safra foi de 10 dias;

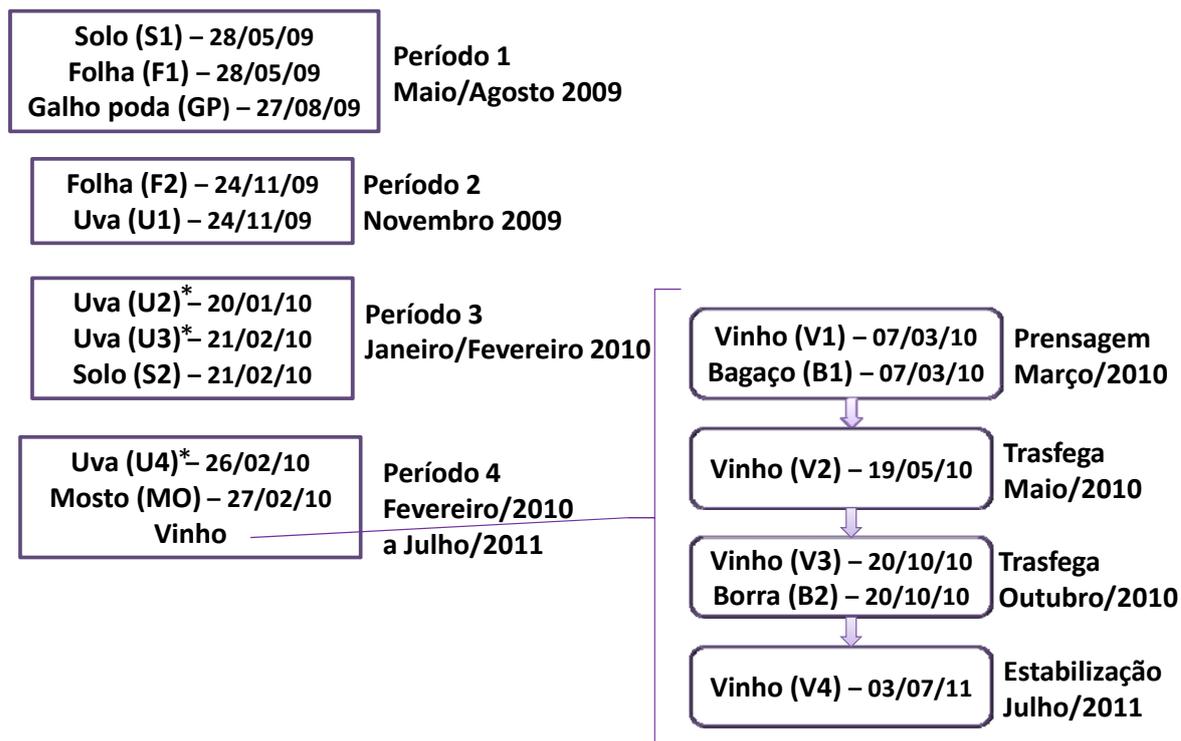
- *Etapa 4.3.* Descuba e prensagem: nesta etapa, foi realizada a descuba e a prensagem, em que a parte líquida foi separada da parte sólida (bagaço). A parte sólida foi então prensada para que o líquido contido nas bagas fosse totalmente extraído;

- *Etapa 4.4.* Tráfega: com o tempo, as partículas em suspensão (borra tráfega) se depositavam no fundo das pipas, ou tanques, que contém o vinho. Era necessário que uma tráfega fosse realizada, ou seja, a transferência do vinho para uma pipa nova e limpa, sempre que necessário.

- *Etapa 4.5.* Estabilização: a última fase acompanhada neste estudo compreendeu a estabilização do vinho, em tanques de aço inoxidável. A evolução em garrafas não ocorreu em tempo hábil para análise neste trabalho,

uma vez que o varietal Marselan demanda vários meses de estabilização (na safra em questão, aproximadamente 18 meses).

As amostras coletadas em cada período estão identificadas na figura 9. Por exemplo, para o período 1 foram coletadas amostras de solo, folhas (mês de maio) e galhos referentes a poda (mês de agosto), nas datas especificadas ao lado de cada amostra. Para o período 4, é esquematizada a seqüência de colheita da uva e vinificação. A nomenclatura entre parênteses, ao lado do nome de cada amostra, será usada sempre que se fizer referência à mesma (no texto, nas tabelas e figuras).



**Figura 9.** Amostras coletadas em cada período/etapa.

\* U2 refere-se as uvas durante a troca de cor (aproximadamente 13 °Bx), e U3 a uvas maduras, quatro dias antes da colheita (14-15 °Bx). U4 são uvas já colhidas, armazenadas na vinícola, antes de serem processadas.

Do período 1 ao 3, as coletas foram realizadas no parreiral. Para se ter uma boa representação do mesmo, as amostras sempre foram coletadas em 18 pontos demarcados e distintos, não aleatórios, em fileiras alternadas, desconsiderando-se as duas primeiras fileiras de cada extremidade da área cultivada, e as primeiras e últimas videiras de cada fileira. No caso do solo, amostras foram coletadas na superfície (nível A) e entre 15 e 20 cm de profundidade (nível B), de forma que efeitos de superfície e contaminações pudessem ser desconsiderados para a obtenção do espectro elementar do solo. Durante a coleta, as amostras foram colocadas em sacos plásticos com fechamento *zip*. Amostras de solo foram coletadas com auxílio de uma pá e amostras de galho, folhas e uvas, com tesouras apropriadas.

Durante o período 4, as coletas foram feitas dentro da própria vinícola . As mesmas ocorreram de acordo com a metodologia de vinificação desta vinícola. Amostras de bagaço, borra e líquidos foram coletadas com o uso de garrafas e potes de plástico.

#### **4.3. Preparação das amostras**

Para análise com PIXE, foi necessário considerar três importantes critérios na preparação das amostras:

- devem ser sólidas e secas, devido ao vácuo existente na câmara de análises;
- homogêneas, de modo que o ponto de incidência do feixe de íons represente toda a amostra;
- possuir superfície lisa, para evitar alterações em parâmetros de detecção, como distância do alvo ao detector.

A tabela 1 resume o método de preparação e o número dos diferentes tipos de amostras estudadas neste trabalho. Em geral, as amostras passaram por processo de secagem em estufa, em tempo variado, sendo colocadas em placas de *Petri* (folhas e uvas) ou em *beakers* (líquidos). De acordo com a metodologia de preparação de amostras líquidas descrita por Santos et al. <sup>15</sup>, o processo de tratamento térmico foi considerado adiabático e o monitoramento dos vapores dentro da estufa, coletados em filtros e medidos por PIXE <sup>14</sup>, não representou perdas por evaporação dos elementos inorgânicos.

Amostras de folhas, galhos e uvas colhidas no parreiral foram feitas e medidas em duplicata para cada um dos dezoito pontos, num total de 36 por etapa de coleta. No caso do solo, foi feita uma amostra para cada nível de

profundidade de cada um dos 18 pontos do parreiral. A partir da colheita, considerando a homogeneidade do todo, foram confeccionadas 20 amostras/etapa.

**Tabela 1.** Descrição do método de preparação das amostras.

	<b>Método de preparação</b>	<b>Tempo de secagem</b>	<b>Número de amostras (n)/etapa</b>	<b>Número de amostras (n) total**</b>
<b>Solo</b>	peneiramento, pastilhamento*	-	18 (nível A) 18 (nível B)	72 <sup>1</sup>
<b>Folhas</b>	secagem (85-100 °C), maceração, pastilhamento.	1.5-2 h	36	72 <sup>2</sup>
<b>Galhos da poda</b>	cortes oblíquos, amostras da casca e parte interna.	-	18 (casca) 18 (parte interna)	36
<b>Uvas</b>	esmagamento, secagem (150 °C), maceração****, pastilhamento.	2-2.5 h	36, 20	108 <sup>3,4</sup>
<b>Mosto, vinho</b>	secagem (150 °C)***, maceração, pastilhamento.	12 h, 9 h	20	100 <sup>4</sup>
<b>Bagaço, borra</b>	secagem (150 °C), maceração, pastilhamento.	2.5 h	20	40 <sup>4</sup>

\*Todas as amostras foram pastilhadas em pellets de 0.25 g, 13 mm de diâmetro e 2 mm de espessura aproximadamente

\*\*Valores representam o número mínimo de amostras/etapa

\*\*\*Volume médio de líquido de 250 mL, necessário para obtenção de uma massa seca de 5.8 g

\*\*\*\*Na maceração das uvas foi usado nitrogênio líquido para facilitar a maceração das sementes

<sup>1</sup> Períodos 1 e 3; <sup>2</sup> Períodos 1 e 2; <sup>3</sup> Períodos 2 e 3; <sup>4</sup> Período 4

#### 4.4. Parâmetros das medidas com PIXE, $\mu$ PIXE e RBS

Todas as medidas (irradiações) de PIXE,  $\mu$ PIXE bem como de RBS, foram realizadas no LII (IF-UFRGS), com um acelerador tipo Tandetron de tensão 3 MV, conforme descrito no capítulo 3 (pag. 26). Alguns parâmetros das medidas realizadas com estas técnicas estão informados na tabela 2. Os padrões utilizados foram os de folhas de maçã (reference material 1515) e sedimento (reference material 8704), ambos do NIST, para quantificação dos espectros de PIXE das amostras de origem vegetal (galhos, folhas, uvas, mosto e vinho) e solo, respectivamente.

**Tabela 2.** Parâmetros das medidas realizadas com PIXE,  $\mu$ PIXE e RBS.

	PIXE	$\mu$ PIXE	RBS
<b>Íon</b>	H+	H+	He+
<b>Energia do feixe (MeV)</b>	2	2.5	1.2
<b>Tempo de medida (s)</b>	400 1000**	-	-
<b>Corrente (nA)*</b>	3 0.5**	-	-
<b>Detector</b>	Si(Li), HPGe	Si(Li)	Barreira de superfície
<b>Programa para ajuste dos espectros</b>	GUPIXWIN	-	SIMNRA

\*Valores de corrente otimizados para obtenção do espectro sem causar danos à amostra pelo aquecimento local devido à incidência do feixe de prótons <sup>36</sup>

\*\*Tempo e corrente usadas nas medidas das amostras de solo unicamente.

#### **4.5. Análise estatística dos dados**

A análise estatística dos resultados foi realizada usando o teste t <sup>37</sup>, em situações de comparação entre médias de dois grupos, e para comparações envolvendo mais de dois grupos, foi considerado o teste de análise da variância – ANOVA FATOR ÚNICO <sup>37</sup> – e teste de Tukey de Comparações Múltiplas entre Médias <sup>37</sup>. Todas as análises foram realizadas com o SPSS versão 15.0 <sup>38</sup>, programa que inclui estes e vários outros testes estatísticos. Em geral, os resultados são apresentados pelas médias de cada elemento em cada grupo e respectivo desvio padrão ou desvio padrão da média. Depois de obtidas todas as médias, análise de correlação linear foi feita entre alguns grupos (solo e uva, por exemplo), considerando o coeficiente de correlação de Pearson (correlação linear) <sup>37</sup>. Este coeficiente (r) mede a associação entre duas variáveis (não causa e efeito), que pode ser nula ( $r=0$ ), fraca ( $0<|r|<0.3$ ), regular ( $0.3\leq|r|<0.6$ ), forte ( $0.6\leq|r|<0.9$ ), muito forte ( $0.9\leq|r|<1$ ) ou perfeita ( $|r|=1$ ). Além de considerar o valor do coeficiente de correlação, também deve ser observada a significância estatística em cada análise de correlação. O teste de correlação foi realizado com o programa Origin versão 8 <sup>39</sup> e conferido com o SPSS versão 15.0 <sup>38</sup>.

Além disto, uma Análise de Fatores (com extração de componentes principais) <sup>40</sup> foi feita para os grupos de mosto e vinho coletados nas diferentes etapas. Este tipo de análise considera como as variáveis entre os grupos de amostras se relacionam, e objetiva condensar a informação através de fatores. Os fatores são calculados pela combinação linear das variáveis originais, explicando a maior parte da variância nas mesmas.

## CAPÍTULO 5-Resultados e discussões

Considerando todas as amostras coletadas, existem cinco categorias, cada uma com diferentes grupos de acordo com o período/etapa de coleta (número entre parênteses): solo (2), folha (2), galho (2), uva' (4) e vinho (incluindo mosto e borra) (7). Inicialmente, os dados foram analisados estatisticamente por categoria, buscando identificar diferenças entre grupos. Além disso, para alguns grupos foi realizada análise de correlação linear. Os resultados são apresentados individualmente por categoria/grupo, finalizando com os resultados da análise de correlação linear e de fatores.

### **5.1. Solo**

A nutrição e a composição elementar das plantas são influenciadas pelas características do solo. Portanto é importante conhecer, dentre outros parâmetros, sua constituição elementar. O solo é um sistema complexo, variável de acordo com a região, que constitui o meio natural de desenvolvimento das plantas e animais. É resultado da combinação de certos fatores, como relevo, constituição rochosa e ação do clima e organismos vivos durante um período temporal <sup>41</sup>. Pode ser dividido em três fases: sólida, líquida e gasosa <sup>42</sup>. Estas determinam como o solo se comporta. A fase sólida é a fonte de matéria inorgânica e responsável por sua constituição mineral. De acordo com Glass <sup>42</sup>, um solo adequado para a agricultura contém 45% de matéria inorgânica, 5% de matéria orgânica e proporções aproximadamente iguais de água e ar (25% cada) por volume. A fase líquida contém os nutrientes para absorção pelas plantas e a gasosa, sendo como canais de ar, permite as trocas de gases como O<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> com a superfície. Em geral, os elementos

dominantes no solo são O, Al e Si, principalmente na forma de óxidos, seguidos de Fe, Ca e K.

O solo do Vale dos Vinhedos, de acordo com Falcade e Mandelli <sup>41</sup>, é identificado por cinco classes, todas caracterizando solos minerais. Estas classes são variáveis entre si quanto ao teor de óxido de ferro e de íons de Al (teores nulos a altos, sendo neste caso necessária aplicação de calcário para neutralização do alumínio).

Para este trabalho, amostras de solo foram coletadas no período de latência (S1) e de colheita (S2), em dois níveis diferentes em cada um dos dezoito pontos do parreiral: nível A (superfície) e nível B (15-20 cm de profundidade).

De acordo com resultados obtidos por RBS <sup>21</sup>, a matriz do solo é composta de O (81%), F (13%), C (3%) e N (3%) (porcentagens com relação a 100% da massa da amostra). A composição elementar do solo, determinada pela técnica PIXE <sup>14</sup> consiste de elementos com  $12 \leq Z \leq 40$ : Mg, Al, Si, P, S, Ca, K, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Rb, Sr e Zr. Além destes, foi encontrado Pb na maioria das amostras, mas com valores, em geral, próximos ao limite de detecção do sistema (LOD) (tabela 3). Por outro lado, a quantificação do S para o nível B de ambos os grupos ficou abaixo do LOD para praticamente todas as amostras. Quanto ao nível A, o mesmo ocorreu para S1, mas para S2 foi possível considerar os valores referentes a 16 das 18 amostras coletadas. Em média, o conteúdo de S na superfície do solo ao final do período de colheita é de  $655 \pm 257$  mg/kg, sugerindo uma contaminação da mesma pela aplicação de do sulfato de Cu, que também contém S.

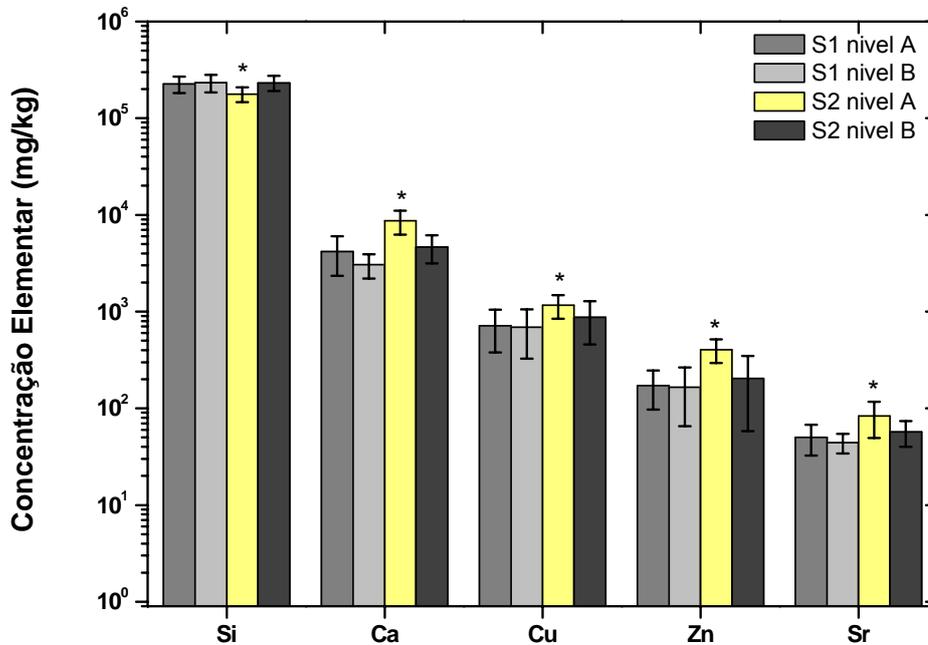
Todos os elementos, exceto os da matriz, foram analisados estatisticamente por ANOVA FATOR ÚNICO e teste de Tukey ( $p < 0.05$ )<sup>37</sup>. De acordo com os resultados, os elementos foram agrupados da seguinte maneira:

- 1) Elementos que não apresentaram diferença entre os níveis (em ambos os períodos) e entre os períodos: Mg, Al, P, K, Ti, Mn, Fe, As, Rb, Zr e Pb (tabela 3), podendo ser considerados como constituintes naturais do solo, sem alterações temporais e de profundidade durante o cultivo da videira. Os resultados são, portanto, a média das concentrações elementares de ambos os níveis de S1 com os níveis de S2, sendo, portanto, representativa de 72 amostras.
- 2) Elementos que apresentaram diferença entre os níveis: Si, Ca, Cu, Zn e Sr. Em geral, a diferença entre os níveis foi observada somente para o período S2, sendo estatisticamente iguais os níveis A e B de S1 (figura 10). As médias são representativas das 18 amostras/nível.

**Tabela 3.** Média e desvio padrão (n=72), valor mínimo e máximo da concentração dos elementos que não apresentaram diferença entre os níveis A e B do solo e entre os períodos S1 e S2. Valores em mg/kg.

	<b>Média ± Desvio padrão (n=72)</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Mg	3314 ± 928	1899	5896
Al	65747 ± 18699	38840	107576
P	599 ± 187	285	970
K	3477 ± 824	2108	5516
Ti	11450 ± 2170	3180	15554
Mn	1614 ± 470	823	2698
Fe	63466 ± 12969	19737	90657
Rb	64 ± 24	15	104
Zr	337 ± 94	126	586
Pb	55 ± 32	28	234

Para todos os elementos da figura 10, foi encontrada diferença estatística entre S2 nível A com relação aos demais. Somente no caso do Si, este nível apresenta uma concentração menor; para os demais elementos, o nível A do período de colheita apresenta maior concentração se comparado aos outros níveis.



**Figura 10.** Média e desvio padrão (n = 18) da concentração dos elementos que apresentaram diferença entre os períodos e entre os níveis.\* Diferença estatística com relação aos demais níveis (p<0.05).

O solo analisado, desta área em particular, apresentou altos teores de Si (menor média encontrada (S2 A) em torno de 178000 mg/kg e maior média (S1 B), 233000 ppm), Al (65700 mg/kg), Fe (63500 mg/kg) e Ti (11500 mg/kg). É um solo que necessita a utilização de calcário devido à alta quantidade de Al, e isto pode refletir nas alterações, principalmente superficiais, de Ca. Para Mauad e colaboradores <sup>43</sup>, SiO<sub>2</sub> é o composto mais abundante no solo, em especial para aqueles como o do Vale dos Vinhedos (minerais e argilosos). No entanto, Si pode aparecer em outras formas não absorvidas por plantas. K, Ca, Mg, P e S são macro nutrientes no solo <sup>44</sup>. Deficiências nestes elementos precisam ser corrigidas para um bom aproveitamento na agricultura. Cu representa uma contaminação da superfície pela aplicação de sulfato de Cu, como já verificado por Almeida e Vasconcelos <sup>12</sup>.

Resumidamente, os elementos que podem ser constituintes naturais do solo, por não terem apresentado alteração temporal e/ou de profundidade, são:

Mg, Al, P, K, Ti, Mn, Fe, As, Rb e Zr. Os demais (Si, Ca, Cu, Zn e Sr), tiveram suas concentrações alteradas e, portanto, mesmo também estando naturalmente presentes no solo, como Ca e Si, não são incluídos neste conjunto de elementos.

## **5.2. Folhas e galhos**

Os elementos essenciais para as plantas são absorvidos do solo pelas raízes, ou seja, esta é a principal fonte de macro e micro elementos para o crescimento das mesmas. Um elemento essencial é considerado se a falta do mesmo não permite que a planta complete seu ciclo de vida; é um elemento insubstituível e/ou é parte de uma molécula essencial à planta <sup>42 44</sup>. Elementos essenciais presentes em compostos de difícil absorção pelas plantas ou em quantidades inferiores as requeridas ocasionam deficiências, prejudicando o metabolismo e, como conseqüência, o bom desenvolvimento delas.

Para as plantas, em geral, os macro elementos são K, N, S, P, Ca e Mg, enquanto que os micro elementos são: Fe, B, Cl, Cu, Mn, Mo, Ni e Zn <sup>45</sup>. É importante notar que todos são igualmente importantes, mas em quantidades diferentes.

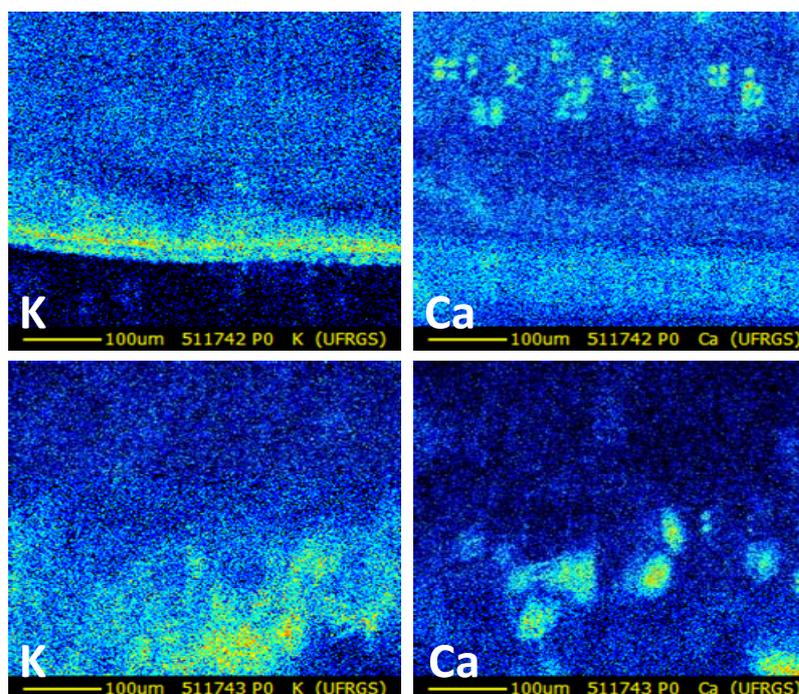
A análise de folhas neste trabalho teve por principal objetivo identificar a influência da aplicação de compostos químicos na videira, através da comparação das amostras coletadas no período de latência (F1) com as da brotação (F2) e, de forma mais geral, verificar a composição elementar desta planta. De acordo com o método de preparação das amostras de folha descrito na tabela 1, o pecíolo era removido devido à dificuldade de maceração (figura 11); portanto, os resultados referem-se ao limbo (e nervuras) e a massa seca

das folhas. No caso dos galhos colhidos durante a poda, o objetivo era similar. No entanto, como apenas uma coleta foi realizada, a parte interna foi considerada como controle. Além disso, como as amostras não passaram por nenhum tipo de processo de preparação (como maceração), houve certa dificuldade nas medições e análises uma vez que não eram amostras homogêneas. Algumas imagens de  $\mu$ PIXE<sup>14</sup> confirmaram que a distribuição de alguns elementos, como K e Ca, não é homogênea (figura 12). A matriz para folhas e galhos foi encontrada ser composta de C (84.25%), O (14%), F (1.6%) e N(0.15%). Para cada uma destas categorias de amostras, foi utilizado o teste  $t^{37}$  para amostras independentes por serem ambas constituídas por apenas dois grupos. Da mesma forma que para o solo e demais amostras, elementos da matriz não foram levados em conta na análise estatística.



**Figura 11.** Ilustração da parte da folha usada para análise e amostras de galho.





**Figura 12.** Distribuição elementar do K e Ca em amostras de casca (imagens superiores) e da parte interna (imagens inferiores). Cores mais claras significam regiões de maior concentração elementar, enquanto que as mais escuras, menor concentração.

Para as folhas, os elementos quantificados foram Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Rb, Sr e Ba (tabela 4). Dentre estes, apenas o Mg não apresentou diferença estatística entre os grupos. Para todos os demais, a concentração é significativamente maior nas amostras do grupo F1, exceto para o Na cuja concentração é nula nas amostras deste grupo, mas apresenta uma média de  $378 \pm 98$  mg/kg nas amostras do grupo F2.

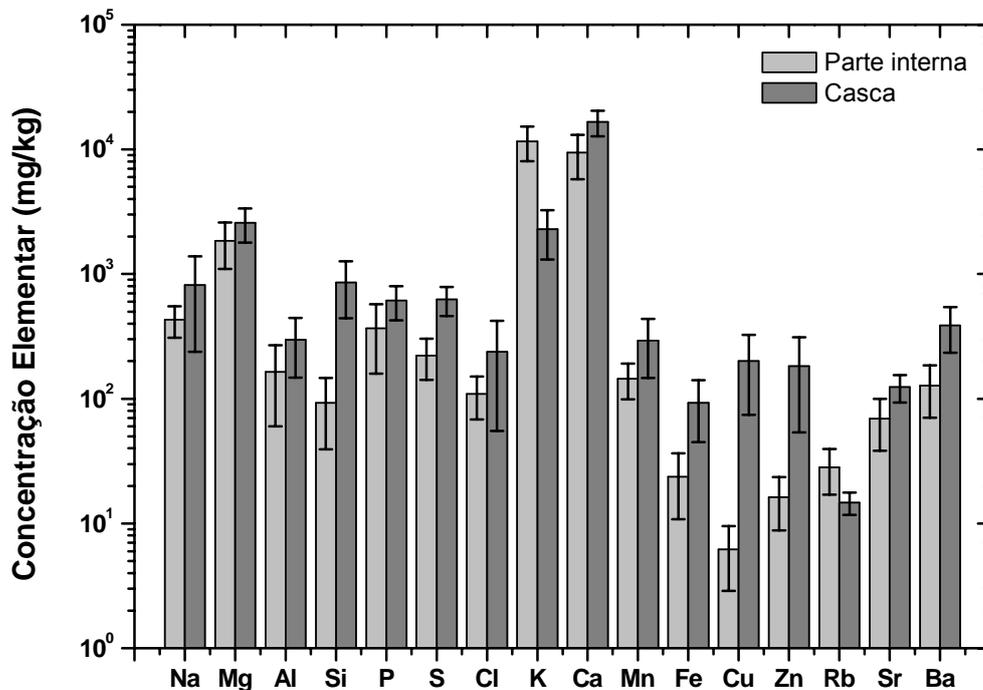
Os mesmos elementos foram considerados na análise dos galhos (figura 13), sendo todas as concentrações estatisticamente diferentes entre si. Além destes, Ni também foi incluído na análise do espectro de PIXE<sup>14</sup>. No entanto, foi quantificado para poucas amostras ( $3 \leq n \leq 9$ ), uma vez que o valor das concentrações para a maior parte das mesmas foi inferior ao LOD. O valor médio de Ni na parte interna dos galhos foi de  $1.2 \pm 0.2$  mg/kg; na casca, de

3.8 ± 1.5 mg/kg. Na análise das folhas, Ni também foi incluído, mas em geral os valores quantificados também ficaram abaixo do LOD.

**Tabela 4.** Concentração elementar das folhas coletadas no período de latência (F1, n=36) e brotação (F2, n=36). Valores da média e desvio padrão em mg/kg (massa seca).

	<b>Período Latência</b>	<b>Período Brotação</b>
	<b>Média ± Desvio padrão (n=36)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=36)</b>
Mg	2753 ± 807	2587 ± 356
Al	254 ± 91 <sup>a</sup>	130 ± 35 <sup>b</sup>
Si	8126 ± 2660 <sup>a</sup>	1548 ± 351 <sup>b</sup>
P	4328 ± 1683 <sup>a</sup>	2644 ± 288 <sup>b</sup>
S	1872 ± 354 <sup>a</sup>	1681 ± 143 <sup>b</sup>
Cl	703 ± 189 <sup>a</sup>	206 ± 94 <sup>b</sup>
K	13714 ± 3943 <sup>a</sup>	10829 ± 1337 <sup>b</sup>
Ca	33107 ± 5353 <sup>a</sup>	9680 ± 1797 <sup>b</sup>
Mn	271 ± 105 <sup>a</sup>	131 ± 46 <sup>b</sup>
Fe	271 ± 140 <sup>a</sup>	67 ± 14.5 <sup>b</sup>
Cu	1574 ± 427 <sup>a</sup>	7.5 ± 1.6 <sup>b</sup>
Zn	347 ± 138 <sup>a</sup>	97 ± 63 <sup>b</sup>
Rb	36 ± 7 <sup>a</sup>	21 ± 7 <sup>b</sup>
Sr	191 ± 60 <sup>a</sup>	42.1 ± 15.7 <sup>b</sup>
Ba	232 ± 67 <sup>a</sup>	62 ± 26 <sup>b</sup>

Letras diferentes em uma mesma linha indicam significância estatística (p<0.05).



**Figura 13.** Composição elemental do galho (casca e parte interna). Incertezas representam o desvio padrão (n=18). Para todos os elementos, as concentrações são estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0.05$ ).

Tomando-se como referência as folhas do período de brotação, claramente o K é o maior constituinte, seguido do Ca, P, Mg e S (macro elementos); na seqüência, Cl, Mn, Zn, Fe e Cu (micro nutrientes), em concordância com o discutido anteriormente e referências citadas. Comportamento semelhante é observado para a parte interna dos galhos. As folhas do grupo F1 bem como a casca dos galhos refletem a poluição ambiental local e aplicação de compostos químicos, em especial pelas contaminações com Ca e Cu. Desta forma, é difícil verificar se algum elemento está relacionado com a composição natural da casca ou com o amadurecimento das folhas na fase de latência ou se a alteração na concentração com relação à parte interna dos galhos e a F2 ocorreu somente pela interferência de técnicas de manejo. Para o Cu, por exemplo, a concentração natural varia de 1 a 20 mg/kg<sup>46</sup>. Neste trabalho, o valor

encontrado para F2 é de 7.5 mg/kg e de 6.2 mg/kg para a parte interna do galho, de forma que a alta concentração em F1 (aproximadamente 1574 mg/kg) e na casca (200 mg/kg) pode estar relacionada a aplicação do sulfato de cobre.

A quantidade de cada elemento na planta varia de acordo com a espécie, solo e condições de crescimento. No artigo de revisão de Hansch e Mendel <sup>46</sup>, concentrações de Cl, Fe e Mn compreendem valores de 200-400, 50-150 e 10-100 mg/kg respectivamente, que são comparáveis aos encontrados neste estudo para F2 (tabela 4), exceto pelo Mn (130 mg/kg), cuja concentração é superior em 30 mg/kg com relação ao valor máximo descrito em tal artigo.

Além dos elementos essenciais, Al, Si, Rb, Sr e Ba também foram encontrados na videira. Dentre estes elementos, a absorção de Si proporciona benefícios à planta, aumentando a resistência aos fungos e insetos e reduzindo a perda de água. Sua concentração variou de 200 a 5000 mg/kg, de acordo com a disponibilidade deste elemento no solo em compostos de fácil absorção pela planta <sup>44</sup>. As concentrações dos outros quatro elementos estão de acordo com os valores de referência descritos por Pais e Jones <sup>47</sup>. No entanto, o conteúdo de Ba nas folhas do período de latência é superior ao valor máximo de 200 mg/kg, a partir do qual o conteúdo pode ser considerado moderadamente tóxico. A presença deste elemento na planta pode estar relacionada a fertilizantes e as características do solo, embora neste trabalho Ba não tenha sido encontrado nas amostras de solo, podendo estar abaixo do LOD da técnica.

### 5.3. Uvas

Uvas foram coletadas em quatro etapas: brotação (U1), troca de cor (U2), maturação quatro dias antes da colheita (U3) e depois de colhidas, momentos antes do esmagamento (U4). A análise do espectro de RBS <sup>21</sup> resultou em uma matriz formada por C (85.8%), O (11%), N (3%) e F (0.2%). Um espectro qualitativo de PIXE <sup>14</sup> é mostrado na figura 14, no qual é possível observar diferenças entre cada grupo de amostras quanto ao número de contagens de raios-x, o que pode refletir em alterações nas concentrações elementares ao longo do processo de crescimento e maturação da baga.

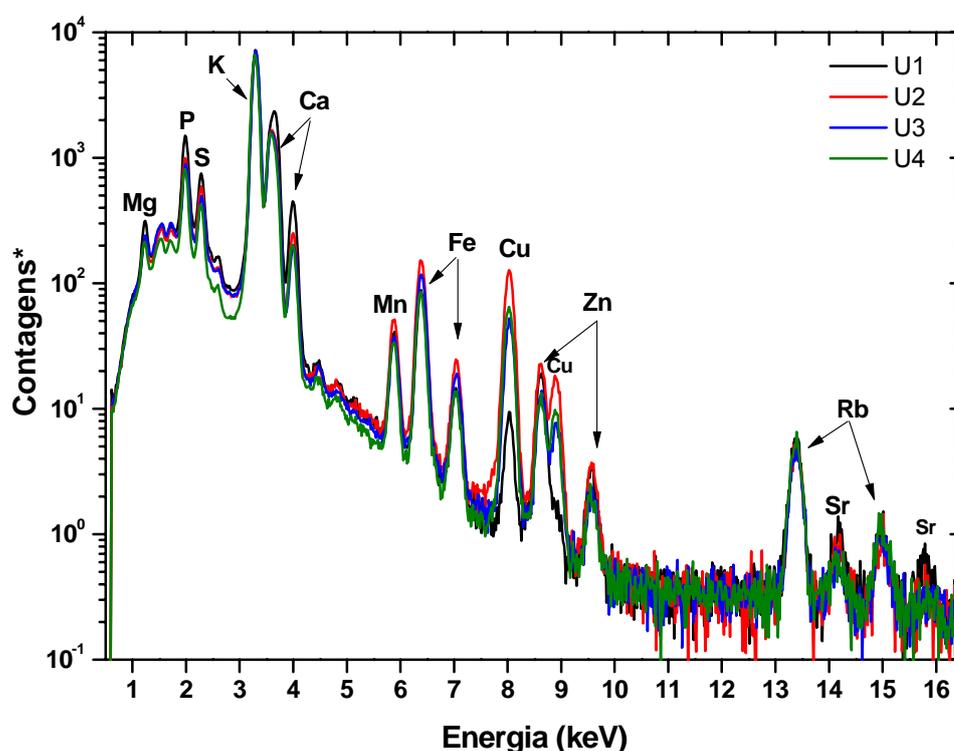


Figura 14. Espectro de PIXE <sup>14</sup>, qualitativo, das amostras de uva. \*Contagens normalizadas pela carga.

A análise estatística para verificação se os grupos são diferentes entre si foi realizada com ANOVA FATOR ÚNICO <sup>37</sup> seguido do teste de Tukey. As figuras 15 a e 15 b mostram o comportamento do Mg, P, Ca, K, Mn, Cu e Zn de

acordo com o a etapa de coleta e a tabela 5 contem o resultado de todos os elementos.

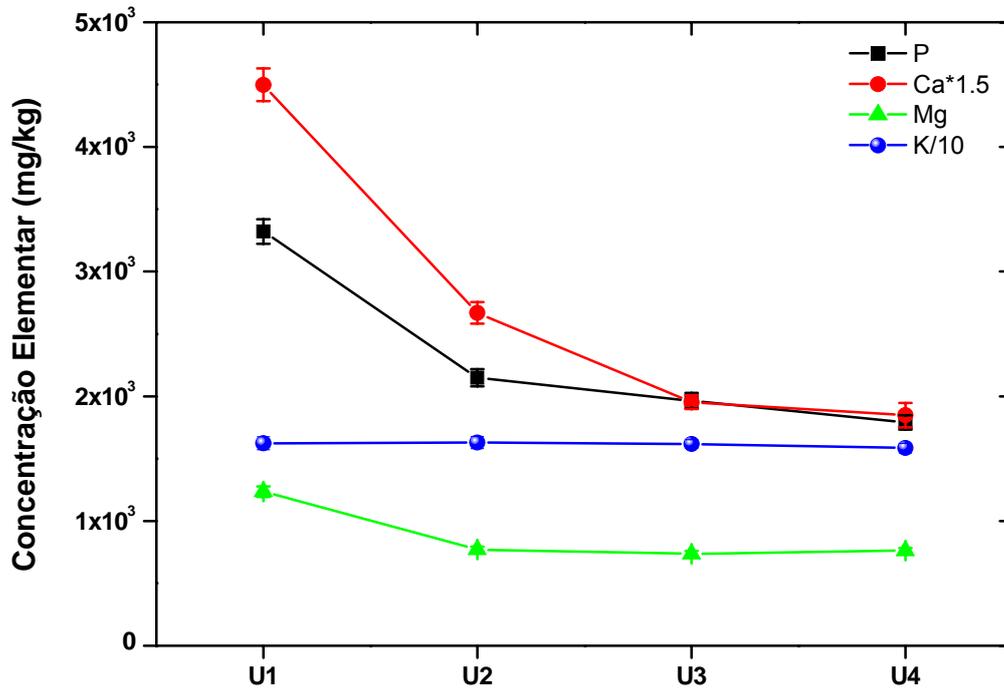


Figura 15 a. Concentração elemental do Mg, P, Ca e K. Incertezas correspondem ao desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização.

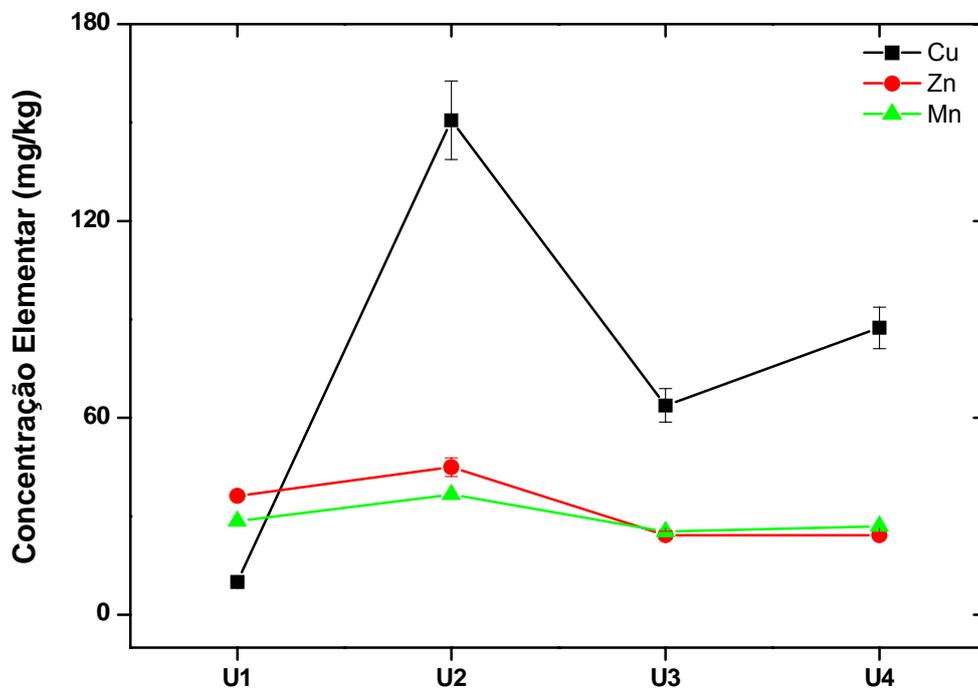


Figura 15 b. Concentração elemental do Mn, Cu e Zn com o respectivo desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização.

**Tabela 5.** Concentração elementar das uvas. Valores da média e desvio padrão em mg/kg (massa seca), referentes à n=36 para U1, U2 e U3, e n=21 para U4.

	<b>U1</b>	<b>U2</b>	<b>U3</b>	<b>U4</b>
	<b>Média ± Desvio padrão (n=36)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=36)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=36)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=21)</b>
Mg	1235 ± 255 <sup>a</sup>	772 ± 133 <sup>b</sup>	735 ± 143 <sup>b</sup>	761 ± 104 <sup>b</sup>
Al	113 ± 60	105 ± 44 <sup>a</sup>	130 ± 79	208 ± 83 <sup>*b</sup>
Si	174 ± 128	131 ± 50	125 ± 54	183 ± 56
P	3322 ± 583 <sup>a</sup>	2148 ± 440 <sup>b</sup>	1966 ± 375 <sup>bc</sup>	1790 ± 264 <sup>c</sup>
S	1126 ± 169 <sup>a</sup>	929 ± 212 <sup>b</sup>	755 ± 146 <sup>c</sup>	698 ± 66 <sup>c</sup>
Cl	158 ± 41 <sup>a</sup>	95 ± 27 <sup>b</sup>	86 ± 19 <sup>b</sup>	99 ± 15 <sup>b</sup>
K	16233 ± 3059	16281 ± 3142	16183 ± 2086	15851 ± 1767
Ca	2999 ± 788 <sup>a</sup>	1780 ± 555 <sup>b</sup>	1302 ± 328 <sup>c</sup>	1232 ± 444 <sup>c</sup>
Ti	6.9 ± 2.9	8.2 ± 3.1	8.7 ± 5.7	5.8 ± 2.2
Cr	2.3 ± 0.6	3.2 ± 1.6	2.6 ± 0.9	2.4 ± 0.8
Mn	28.5 ± 7.2 <sup>a</sup>	36.6 ± 13.3 <sup>b</sup>	25.3 ± 6.6 <sup>a</sup>	27 ± 6.3 <sup>a</sup>
Fe	62.6 ± 47.7 <sup>a</sup>	127 ± 24 <sup>*ab</sup>	75 ± 57.6 <sup>a</sup>	166 ± 34 <sup>*b</sup>
Ni	1.0 ± 0.1	4 ± 2.5 <sup>*</sup>	1.0 ± 0.4	1.3 ± 0.2
Cu	9.9 ± 2.5 <sup>a</sup>	151 ± 77 <sup>b</sup>	63.8 ± 30.6 <sup>c</sup>	87.4 ± 29 <sup>c</sup>
Zn	36.2 ± 7.4 <sup>a</sup>	45 ± 18 <sup>b</sup>	24.3 ± 7.4 <sup>c</sup>	24.2 ± 3.3 <sup>c</sup>
Rb	82.3 ± 24.5 <sup>a</sup>	72 ± 17 <sup>ab</sup>	66.7 ± 21.3 <sup>b</sup>	79.4 ± 14.7 <sup>ab</sup>
Sr	19.4 ± 8	16.2 ± 3.2	15.6 ± 4.9	15.7 ± 4
Ba	21.7 ± 11	20.4 ± 7.9	18 ± 3.8	15.9 ± 5.4

\* Valor do desvio padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam significância estatística (p < 0.05).

Para alguns elementos, como Mg, P, S e Cl, é observado um decréscimo nas concentrações durante crescimento e maturação das bagas. Para outros, como o K e elementos traço (Ti, Cr e Ni) as concentrações permanecem constantes. Dentre todos os elementos quantificados, K é o mais abundante e está associado a diversas funções bioquímicas e fisiológicas, como regulação do potencial osmótico e ativação de enzimas. Em geral, sua concentração aumenta temporalmente nas bagas, mas pode permanecer praticamente constante se a taxa de crescimento se mantiver similar a sua taxa de acúmulo <sup>48</sup>.

Elementos como Mn, Cu e Zn tem um pico de concentração em U2 (troca de cor) (figura 15 b). Existem duas possíveis explicações para isto ocorrer. A primeira está relacionada ao fato de alguns elementos se acumularem na uva principalmente quando começa o amadurecimento (Mn, Ca e Zn), enquanto outros participam de todo o processo (crescimento e amadurecimento), como K, Fe, S, P, Mg e Cu <sup>49</sup>. A segunda explicação associa o aumento das concentrações do Cu e Zn na fase de troca de cor à aplicação de sulfato de Cu.

#### **5.4. Mosto, bagaço, borra e vinho**

Esta é a maior das categorias estudadas em termos do número de etapas de coleta de amostras, que foram: mosto (MO), vinho e bagaço após prensagem (V1 e B1), vinho após a primeira trasfega (V2), vinho e borra referentes à segunda trasfega (V3 e B2) e vinho durante a estabilização, dezesseis meses após o processamento da uva (V4). A matriz considerada na quantificação dos espectros de PIXE <sup>14</sup> foi: C, representando 68%, e O, com

32%. Tal como as uvas, estes grupos foram comparados por ANOVA FATOR ÚNICO <sup>37</sup> e teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). Os resultados de amostras originalmente líquidas são apresentados de duas maneiras de acordo com a unidade de concentração, sendo uma unidade a de mg/kg (tabela 6), referente a massa seca, e a outra mg/L (tabela 7), referente a massa líquida. Como os resultados das outras categorias de amostras estão em mg/kg, a citação dos valores de concentração elementar nesta mesma unidade para o vinho os torna mais compreensíveis do ponto de vista de comparação e visualização de um balanço elementar. Por outro lado, associado ao cotidiano, é mais realístico usar a concentração elementar para líquidos em unidades de mg/L, inclusive para facilitar comparações com outros trabalhos publicados, que em geral usam esta unidade. Por completeza, todos os elementos avaliados são apresentados, mesmo aqueles que ficaram acima do LOD somente em algumas amostras, como é o caso do Cr e do Ni. Os resultados do bagaço e da borra são mostrados em mg/kg.

**Tabela 6.** Concentração elementar das amostras de mosto e vinho em mg/kg.

	<b>MO</b>	<b>V1</b>	<b>V2</b>	<b>V3</b>	<b>V4</b>
	<b>Média ± Desvio padrão (n=21)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=20)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=22)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=28)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=23)</b>
Mg	344 ± 87 <sup>a</sup>	3803 ± 552 <sup>b</sup>	3794 ± 314 <sup>b</sup>	3367 ± 483 <sup>c</sup>	3925 ± 670 <sup>b</sup>
Al	196 ± 75	206 ± 113	160 ± 63	145 ± 64	151.3 ± 35.6
Si	319 ± 182 <sup>a</sup>	386 ± 62 <sup>ac</sup>	557 ± 224 <sup>b</sup>	415 ± 74 <sup>ac</sup>	440 ± 71 <sup>c</sup>
P	892 ± 88 <sup>a</sup>	9158 ± 1237 <sup>b</sup>	9353 ± 546 <sup>b</sup>	8392 ± 893 <sup>c</sup>	9441 ± 1352 <sup>b</sup>
S	268 ± 29 <sup>a</sup>	3590 ± 558 <sup>bd</sup>	3429 ± 174 <sup>b</sup>	3815 ± 519 <sup>d</sup>	4424 ± 532 <sup>c</sup>
Cl	51 ± 15 <sup>a</sup>	753 ± 91 <sup>b</sup>	838 ± 51 <sup>c</sup>	865 ± 110 <sup>c</sup>	985 ± 94 <sup>d</sup>
K	9077 ± 619 <sup>a</sup>	72285 ± 11051 <sup>b</sup>	60915 ± 2720 <sup>c</sup>	58025 ± 5787 <sup>c</sup>	72100 ± 8364 <sup>b</sup>
Ca	480 ± 107 <sup>a</sup>	3670 ± 463 <sup>b</sup>	2711 ± 153 <sup>c</sup>	1591 ± 214 <sup>d</sup>	1980 ± 318 <sup>d</sup>
Ti	7.7 ± 4	15.1 ± 6.8	11.2 ± 8.4 <sup>*</sup>	11.1 ± 5.2	9.5 ± 2.1
Cr	4.7 ± 2.9	5.5 ± 3.8 <sup>*</sup>	5.2 ± 0.8	< LOD	< LOD
Mn	20.2 ± 4.9 <sup>a</sup>	116 ± 16 <sup>b</sup>	114.8 ± 6 <sup>b</sup>	98.2 ± 12.3 <sup>c</sup>	125 ± 19 <sup>b</sup>
Fe	261 ± 188 <sup>a</sup>	149 ± 74 <sup>bc</sup>	175 ± 93 <sup>b</sup>	105.5 ± 82.9 <sup>bc</sup>	91 ± 16 <sup>c</sup>
Ni	1.3 ± 0.5	3.8 ± 2.9	2.1 ± 0.9	3.2 ± 0.9	< LOD
Cu	47.8 ± 13.3 <sup>a</sup>	78 ± 14 <sup>b</sup>	17.9 ± 3.5 <sup>c</sup>	15.9 ± 9.7 <sup>c</sup>	11.1 ± 2.5 <sup>c</sup>
Zn	25.6 ± 5.3 <sup>a</sup>	125 ± 15 <sup>b</sup>	134 ± 7.5 <sup>b</sup>	123.5 ± 13.8 <sup>b</sup>	150 ± 18 <sup>c</sup>
Rb	44 ± 13 <sup>a</sup>	489 ± 66 <sup>b</sup>	482 ± 30 <sup>b</sup>	494 ± 52 <sup>b</sup>	604 ± 63 <sup>c</sup>
Sr	< LOD	34 ± 11.4	38.8 ± 10.1	35 ± 12	39.2 ± 11.4
Ba	< LOD	31.7 ± 11	30.3 ± 5.9	33.8 ± 5.8	35.5 ± 12.4

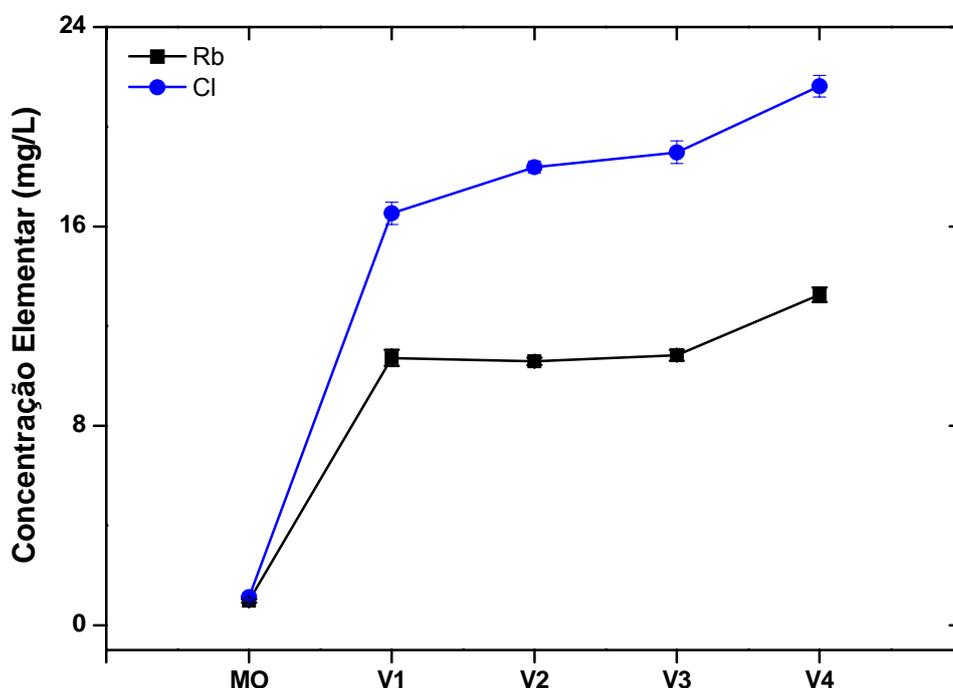
\*Valor do desvio padrão da média. Letras diferentes em uma mesma linha significam diferença estatística (p<0.05).

**Tabela 7.** Concentração elementar das amostras de mosto e vinho em mg/L.

	<b>MO</b>	<b>V1</b>	<b>V2</b>	<b>V3</b>	<b>V4</b>
	<b>Média ± Desvio padrão (n=21)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=20)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=22)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=28)</b>	<b>Média ± Desvio padrão (n=23)</b>
Mg	7.6 ± 1.9 <sup>a</sup>	83 ± 12 <sup>b</sup>	83 ± 7 <sup>b</sup>	74 ± 11 <sup>c</sup>	86 ± 15 <sup>b</sup>
Al	4.3 ± 1.6	4.5 ± 2.5	3.5 ± 1.4	3.2 ± 1.4	3.3 ± 0.8
Si	7 ± 4 <sup>a</sup>	8.5 ± 1.4 <sup>ac</sup>	12.2 ± 4.9 <sup>b</sup>	9.1 ± 1.6 <sup>ac</sup>	9.7 ± 1.6 <sup>c</sup>
P	19.6 ± 1.9 <sup>a</sup>	201 ± 27 <sup>b</sup>	205 ± 12 <sup>b</sup>	184 ± 19.6 <sup>c</sup>	207 ± 30 <sup>b</sup>
S	5.9 ± 0.6 <sup>a</sup>	79 ± 12 <sup>bd</sup>	75.3 ± 3.8 <sup>b</sup>	83.7 ± 11.4 <sup>d</sup>	97 ± 12 <sup>c</sup>
Cl	1.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	16.5 ± 2 <sup>b</sup>	18.4 ± 1.1 <sup>c</sup>	19 ± 2.4 <sup>c</sup>	21 ± 2 <sup>d</sup>
K	199 ± 14 <sup>a</sup>	1587 ± 243 <sup>b</sup>	1337 ± 60 <sup>c</sup>	1274 ± 127 <sup>c</sup>	1582 ± 184 <sup>b</sup>
Ca	10.5 ± 2.3 <sup>a</sup>	81 ± 10 <sup>b</sup>	59.5 ± 3.4 <sup>c</sup>	34.9 ± 4.7 <sup>d</sup>	43.4 ± 7 <sup>d</sup>
Ti	0.17 ± 0.09	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.05 <sup>*</sup>	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.04
Cr	0.1 ± 0.06	0.1 ± 0.08 <sup>*</sup>	0.1 ± 0.02	< LOD	< LOD
Mn	0.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.3 <sup>c</sup>	2.7 ± 0.4 <sup>b</sup>
Fe	5.7 ± 4.1 <sup>a</sup>	3.3 ± 1.6 <sup>bc</sup>	3.8 ± 2 <sup>b</sup>	2.3 ± 1.8 <sup>bc</sup>	2.0 ± 0.4 <sup>c</sup>
Ni	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.06	0.04 ± 0.2	0.07 ± 0.02	< LOD
Cu	1 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.3 ± 0.2 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.05 <sup>c</sup>
Zn	0.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.9 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.4 <sup>c</sup>
Rb	1 ± 0.3 <sup>a</sup>	10.7 ± 1.4 <sup>b</sup>	10.6 ± 0.6 <sup>b</sup>	10.8 ± 1.1 <sup>b</sup>	13.3 ± 1.4 <sup>c</sup>
Sr	< LOD	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.2
Ba	< LOD	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.3

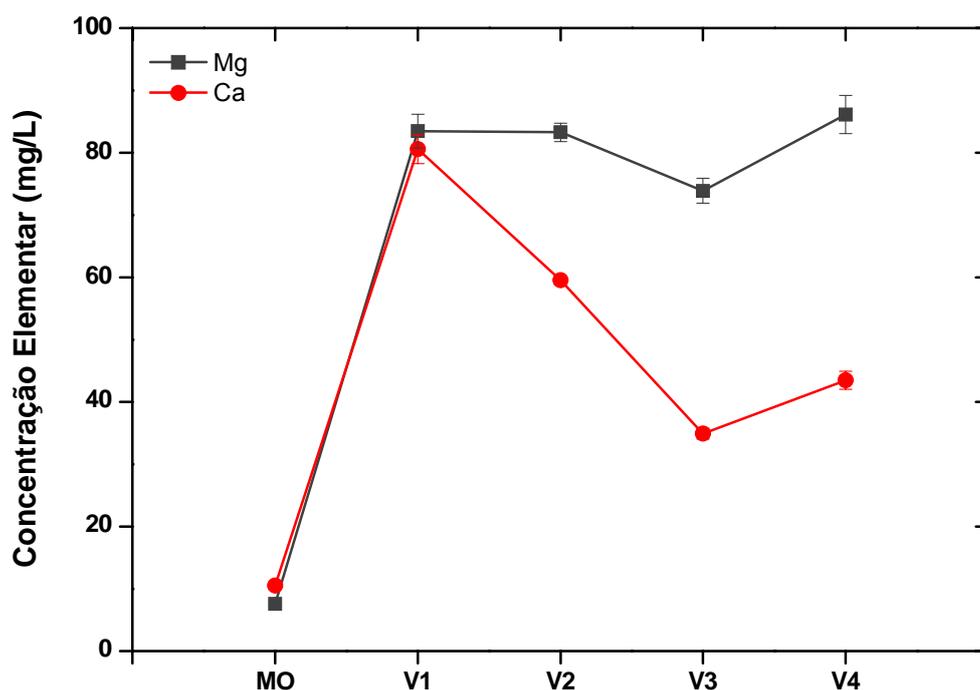
\*Valor do desvio padrão da média. Letras diferentes em uma mesma linha significam diferença estatística (p<0.05).

De acordo com os dados das tabelas 6 e 7, os maiores constituintes do vinho Marselan são, em ordem decrescente de concentração, K, P, S, Mg e Ca, tal como encontrado por Santos et al. <sup>15</sup> no estudo da composição elementar do varietal Cabernet Sauvignon, e já bem estabelecido na literatura <sup>50</sup>. Em concentrações intermediárias estão o Cl e o Rb, cujo comportamento é similar ao longo do processo de vinificação, com concentração em torno de 1mg/L no mosto e crescente nas etapas posteriores (valores máximos aproximados de 21 e 13 mg/L respectivamente) (figura 16). Si, Fe, Al, Zn e Mn estão na seqüência da lista de acordo com a concentração, seguidos dos elementos cujos conteúdos são da ordem de submiligramas: Ti, Ni, Cr, Cu, Sr e Ba. No total, dezoito elementos foram quantificados para esta categoria de amostras.



**Figura 16.** Variação do conteúdo de Cl e Rb ao longo do processo de vinificação. Incertezas correspondem ao desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização.

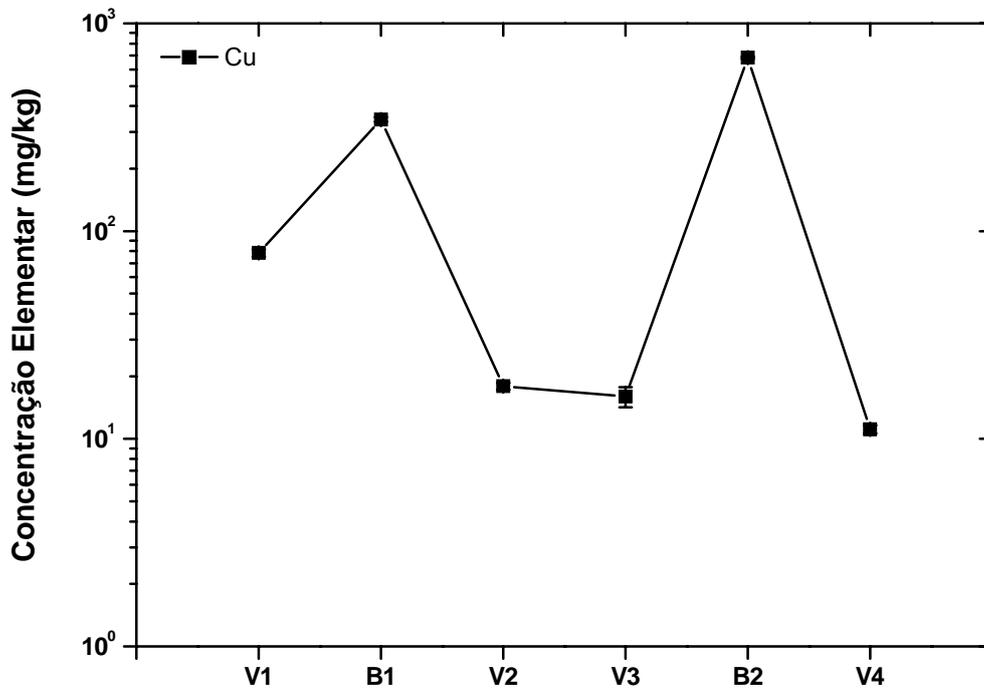
A figura 17 exemplifica as variações nas concentrações do Mg e do Ca. Efeito semelhante pode ser observado nos resultados do P e do K: as concentrações aumentam em torno de 11 e 8 vezes, respectivamente, entre o mosto e a prensagem, decrescem e tornam a aumentar, embora não na mesma razão inicial.



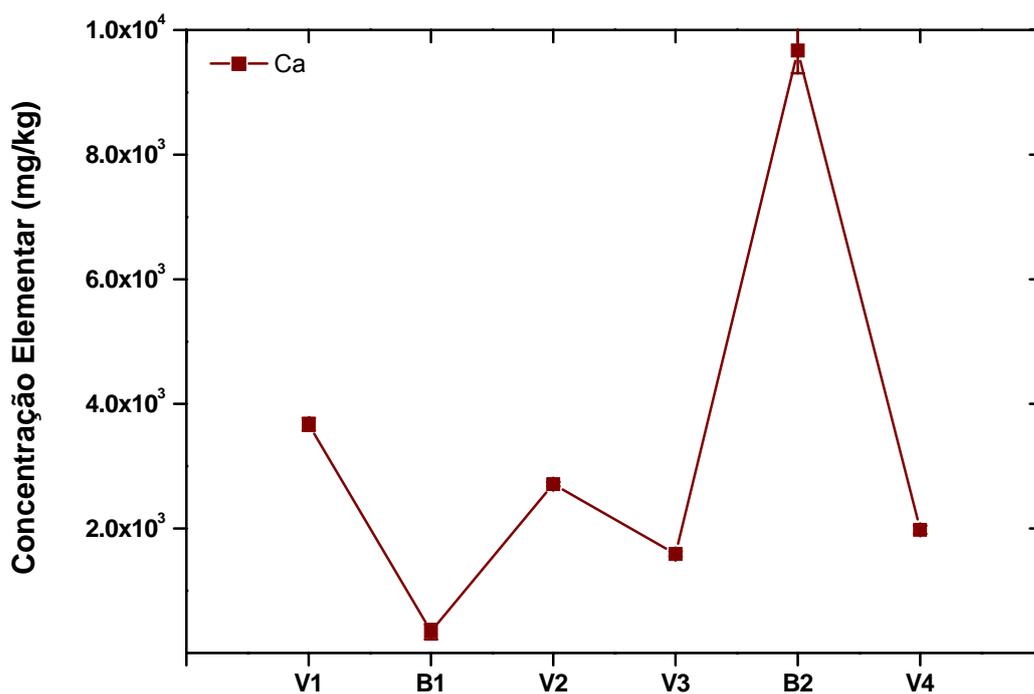
**Figura 17.** Variação do conteúdo de Mg e Ca durante as etapas. Incertezas correspondem ao desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização.

Alguns elementos foram parcialmente eliminados com o bagaço, na prensagem (B1), e com a borra, pela realização das trasfegas (precipitação-B2). A precipitação representou ser a principal causa de diminuição na concentração de elementos como Cu e Ca (figuras 18 e 19). Outros, como o Mg (figura 20), mantiveram similares a diminuição da concentração por ambos os processos, sugerindo que pode existir um mecanismo de eliminação/precipitação dependente do elemento e do tempo. As

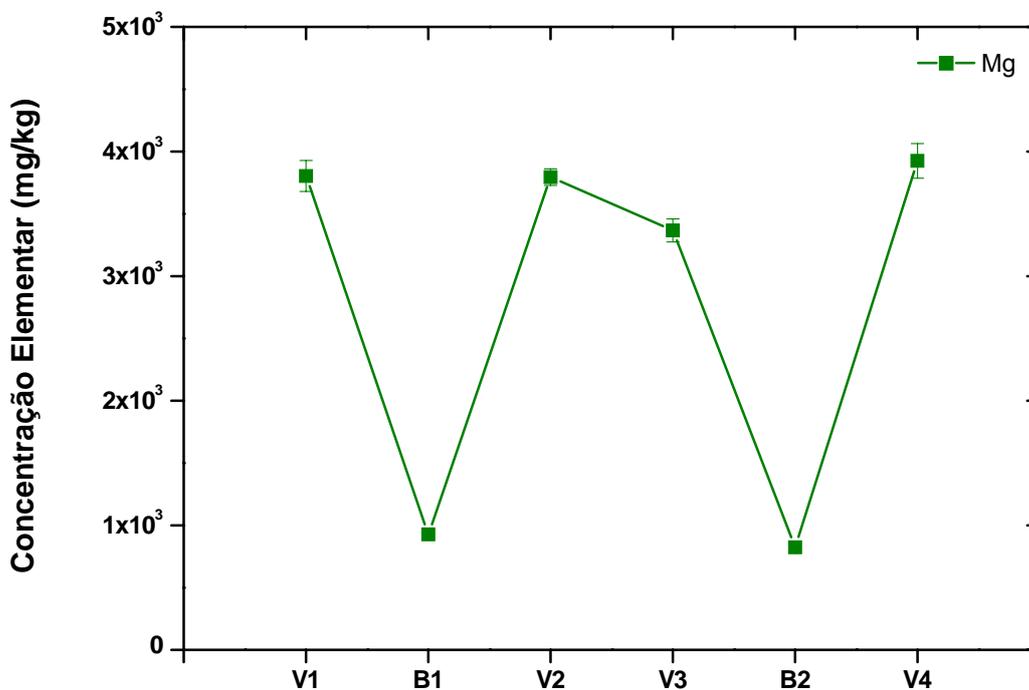
concentrações elementares de B1 e B2 juntamente com mosto e vinhos são apresentadas nos gráficos de barras da figura 21 para alguns elementos (Mg, P, S, K, Al, Fe, Zn e Mn). A tabela 8 contém todos os resultados de B1 e B2.



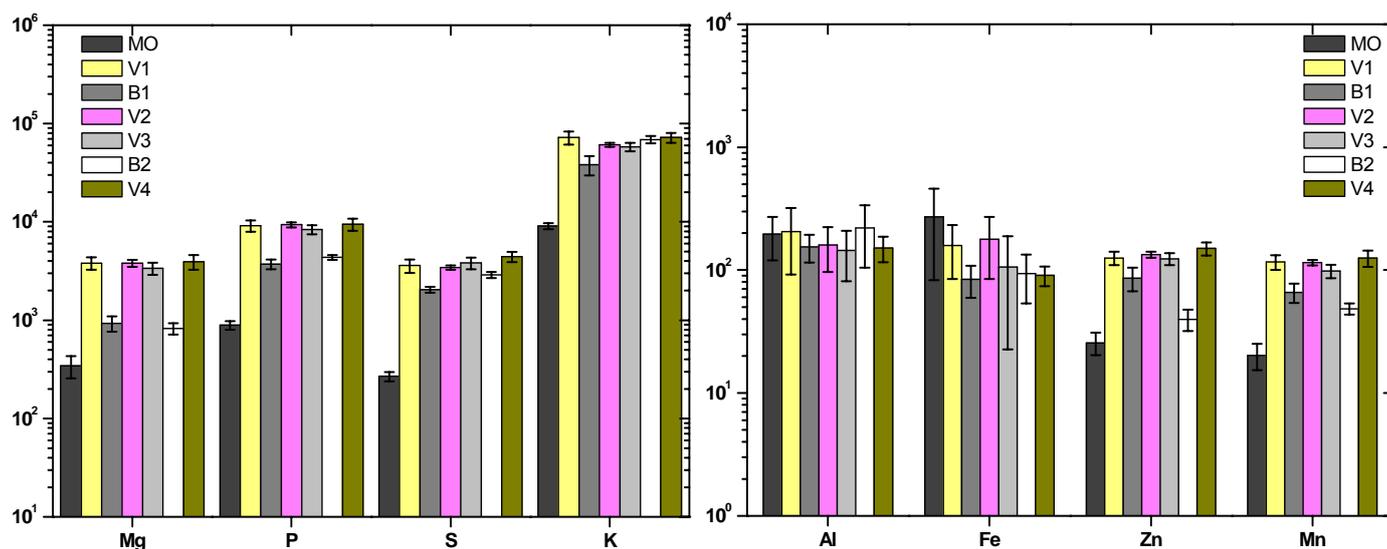
**Figura 18.** Precipitação do Cu e diminuição de seu conteúdo no vinho. Incertezas correspondem ao desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização.



**Figura 19.** Precipitação do Ca e diminuição de seu conteúdo no vinho. Incertezas correspondem ao desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização.



**Figura 20.** Precipitação do Mg. Incertezas correspondem ao desvio padrão da média. As linhas são usadas somente para facilitar a visualização



**Figura 21.** Gráficos da concentração elementar do mosto (n=21), bagaço (n=20), borra (n=20) e vinhos (n=20,22,28, 23, respectivamente). Valores em mg/kg. Incertezas representam o desvio padrão.

Como pode ser visto na figura 21 e pelos dados da tabela 8, dentre todos os elementos somente Al e Ti mantiveram suas concentrações constantes. Além disso, durante o período de fermentação do mosto ocorreu o acréscimo no conteúdo dos elementos Mg, P, S, K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr e Ba. Contrariamente a estes, o Fe parece ter diminuído no vinho. Diferenças estatísticas entre B1 e B2 podem refletir como os elementos foram parcialmente eliminados através da prensagem e da precipitação, juntamente com as partículas em suspensão.

Ti, Cr e Ni são elementos em quantidades pequenas (traço), muito próximas ao LOD e, exceto pelo Ti, deixaram de ser detectáveis por PIXE a partir das trasfegas, sugerindo um decréscimo nas concentrações e não exatamente a ausência destes elementos.

**Tabela 8.** Concentração elementar do bagaço (B1, n=20) e borra trasfega (B2, n=20).

	<b>B1</b>	<b>B2</b>
	<b>Média ± Desvio padrão</b>	<b>Média ± Desvio padrão</b>
Mg	928 ± 166	824 ± 110
Al	154 ± 39	221 ± 116
Si	361 ± 83	298 ± 50
P	3716 ± 411	4364 ± 240
S	2044 ± 141 <sup>a</sup>	2889 ± 194 <sup>b</sup>
Cl	79 ± 26 <sup>a</sup>	176 ± 31 <sup>b</sup>
K	38171 ± 8452 <sup>a</sup>	68749 ± 5915 <sup>b</sup>
Ca	2365 ± 548 <sup>a</sup>	9671 ± 1627 <sup>b</sup>
Ti	10.6 ± 5.2 <sup>a</sup>	12.8 ± 1.5 <sup>b</sup>
Cr	< LOD	< LOD
Mn	66 ± 12	48 ± 5
Fe	84 ± 24	94 ± 40
Ni	< LOD	< LOD
Cu	345 ± 40 <sup>a</sup>	684 ± 42 <sup>b</sup>
Zn	86 ± 19 <sup>a</sup>	39.7 ± 7.7 <sup>b</sup>
Rb	111 ± 22 <sup>a</sup>	203 ± 32 <sup>b</sup>
Sr	21 ± 4 <sup>a</sup>	34 ± 1 <sup>b</sup>
Ba	46 ± 15 <sup>*</sup>	24 ± 1

\* Valor do desvio padrão da média. Letras diferentes em uma mesma linha significam diferença estatística (p<0.05).

### **5.5. Análise de correlação linear**

Análises de correlação foram feitas entre os seguintes grupos de amostras:

1. solo e videira (F2)
2. solo e uva (U3)

Quanto ao solo, foram considerados somente os dados de S2 (solo período colheita) por duas razões:

- a) Mesmo sendo estatisticamente iguais a S1 para a maioria dos elementos (seção 5.1, pag. 50), S2 representa uma realidade temporal semelhante a U3 e F2;
- b) Ao se considerar a média de S1 com S2, o número amostral (n) torna-se muito maior que o dos demais grupos e sempre é mais adequado utilizar n semelhante.

A análise foi realizada para o conjunto de elementos do solo que não apresentaram diferença temporal e/ou de profundidade e que não ficaram abaixo do limite de detecção na maior parte das amostras dos demais grupos, ou seja, Mg, Al, P, K, Mn, Fe e Rb (tabela 9).

Entre solo e uva, foi obtida uma correlação regular e negativa (inversa) para o P e correlação forte para o Rb. Na análise entre solo e folha, somente o Rb se mostra correlacionado (correlação perfeita).

**Tabela 9.** Correlação linear entre solo e uva e solo e folha, onde **r** é o coeficiente de Pearson <sup>37</sup> e **Sig.** é a significância estatística associada a correlação.

<b>Solo e Uva</b>							
	<b>Mg</b>	<b>Al</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Rb</b>
<b>r</b>	0.16	0.07	-0.51*	0.26	-0.3	0.28	0.69*
<b>Sig.</b>	0.35	0.69	0.003	0.12	0.07	0.08	0.03

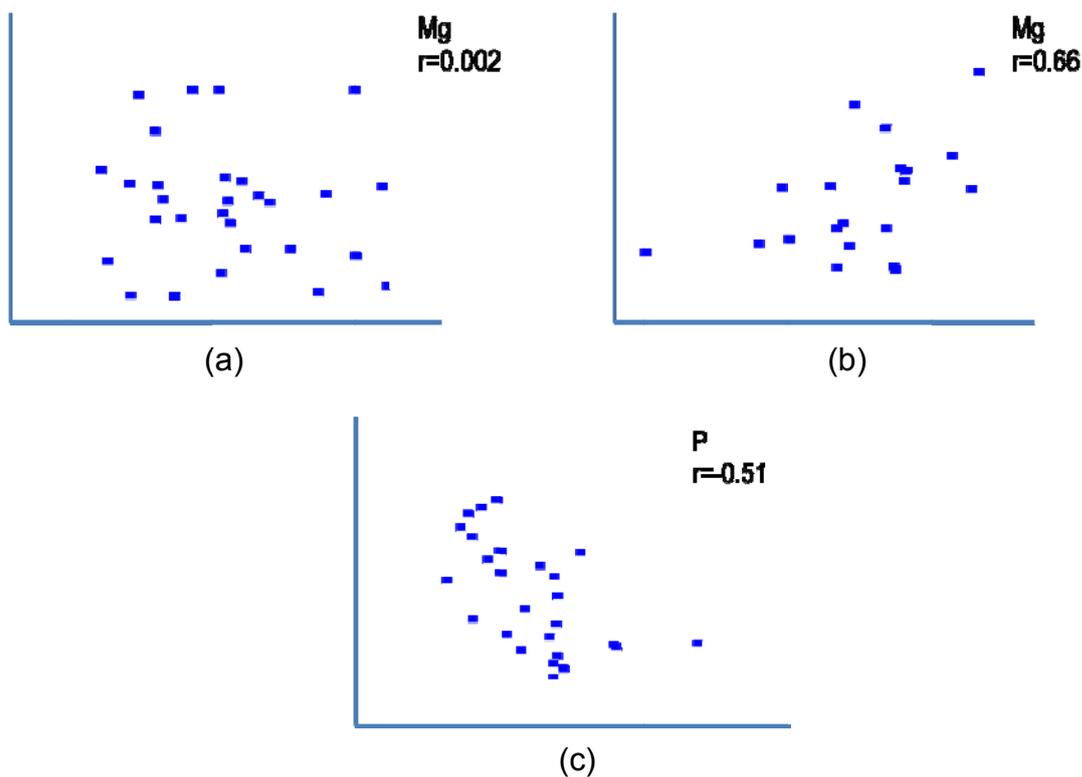
  

<b>Solo e Videira</b>							
	<b>Mg</b>	<b>Al</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Rb</b>
<b>r</b>	0.002	-0.04	0.25	0.2	0.26	-0.07	1*
<b>Sig.</b>	0.99	0.8	0.17	0.2	0.15	0.66	-

\*Variáveis para as quais foi observada correlação linear entre os grupos.

A correlação encontrada entre as variáveis não significa que a concentração de certo elemento de um grupo é dependente da concentração deste mesmo elemento no outro grupo. Significa apenas que estão associadas e que podem variar conjuntamente.

A seguir são apresentados três diagramas de correlação, somente como exemplos de como os pontos se distribuem de acordo com o grau de associação (figura 22).



**Figura 22.** Exemplos de diagrama de correlação. (a) sem correlação (nuvem circular), (b) correlação intermediária (nuvem inclinada), (c) correlação intermediária do tipo inversa ou negativa.

### 5.6. Análise de Fatores

Uma Análise de Fatores com Componentes Principais <sup>40</sup> foi realizada considerando os grupos MO, V1, V2, V3 e V4. Inicialmente foi obtida a matriz de correlação pelo coeficiente de Pearson para os dezoito elementos quantificados nestes grupos de amostras. A partir desta matriz, com base nos coeficientes de correlação, apenas dez elementos foram considerados significativos para a Análise de Fatores: Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Cu, Zn e Rb (tabela 10).



**Tabela 10.** Resultado da Análise de Fatores entre os grupos de mosto e vinhos

	Componente	
	Fator 1	Fator 2
<b>Mg</b>	<b>0.977</b>	0.040
<b>P</b>	<b>0.991</b>	0.025
<b>S</b>	<b>0.972</b>	-0.125
<b>Cl</b>	<b>0.967</b>	-0.197
<b>K</b>	<b>0.975</b>	0.122
<b>Ca</b>	<b>0.724</b>	<b>0.640</b>
<b>Mn</b>	<b>0.981</b>	0.063
<b>Cu</b>	-0.203	<b>0.956</b>
<b>Zn</b>	<b>0.981</b>	-0.089
<b>Rb</b>	<b>0.965</b>	-0.117

De acordo com a tabela 10, foram obtidos dois fatores pelo método de Análise de Componentes Principais, que explicam 81.9% e 14.2%, respectivamente, da variância total. Dos dez elementos incluídos nesta análise, apenas dois (Ca e Cu) apresentaram carga fatorial alta no fator 2. Este fator agrupa os elementos de acordo com sua diminuição no vinho, ocasionada pela precipitação. Os demais oito elementos (Mg, P, S, Cl, K, Mn, Zn e Rb), bem como o Ca, apresentaram carga fatorial alta para o fator 1, que agrupa os elementos de acordo com o comportamento de suas concentrações no decorrer do processo de estabilização da bebida, conforme resultados apresentados nas tabelas 6 e 7 (pag. 66-67).

## CAPÍTULO 6-Conclusões

Neste trabalho foi realizado o estudo da composição elementar de amostras de solo, videira, uva e vinho, coletadas nas principais etapas do cultivo da uva e do processo de vinificação do varietal Marselan, safra 2010, utilizando basicamente uma única técnica de feixes de íons, PIXE.

O perfil elementar do solo desta particular área estudada é caracterizado pelos elementos Mg, Al, P, K, Ti, Mn, Fe, As, Rb e Zr. Considerando que a delimitação da região foi feita levando em conta as características do solo, dentre outros fatores, este resultado pode ser, com boa aproximação, estendido para as demais áreas de plantação de videiras próximas a área em questão. Alterações temporais e/ou de profundidade foram observadas para alguns elementos, como S, Cu e Ca, relacionados à aplicação do sulfato de Cu.

Embora PIXE não forneça a informação sobre a forma química em que os elementos se encontram, o que é importante quanto à absorção pela planta, sabe-se que os mesmos constituem a principal fonte mineral para a videira. De acordo com a literatura, a composição do solo está diretamente relacionada ao crescimento saudável da planta e dos frutos, uma vez que a deficiência de certos elementos pode inibir reações metabólicas e enzimáticas, e o excesso geralmente produz efeitos tóxicos. As concentrações médias de alguns dos micronutrientes das plantas, como Fe, Cu e Cl, e elementos não essenciais, como Al, Si, Rb e Sr, determinadas neste estudo para folhas do período de brotação estão dentro dos limites de referência na literatura.

De forma geral, as práticas de manejo influenciaram na concentração dos elementos da videira e da uva, no entanto, deve-se levar em conta que o

crescimento e a maturação das folhas e dos bagos também podem envolver processos relacionados ao decréscimo ou acréscimo de certos elementos. Isto foi mais evidente no caso das uvas coletadas em diferentes etapas, nas quais a concentração de elementos como Mg, P e Ca diminuiu.

Quanto ao processo de vinificação, a fermentação foi a etapa em que ocorreram consideráveis alterações no conteúdo dos elementos. Alguns, como Mg, P, S, Cl, K e Rb, tiveram um aumento significativo em suas concentrações quando se compara o vinho prensa com o mosto. A precipitação foi outra importante causa de alteração na concentração principalmente do Ca e do Cu. A eliminação destes elementos do vinho a partir da prensagem e das trasfegas parece ocorrer por um mecanismo dependente do elemento e do tempo. O varietal Marselan, em geral, demanda vários meses de estabilização em tanques ou de evolução nas garrafas antes de ser comercializado. Portanto, a concentração elementar pode continuar variando até uma provável estabilização, juntamente com os compostos orgânicos, que estão mais diretamente relacionados com a qualidade do vinho.

De forma geral, o presente trabalho complementa as informações existentes sobre composição elementar do solo e, em particular, sobre o perfil do solo do Vale dos Vinhedos, e sobre as principais fontes de alteração da concentração dos elementos durante a vinificação e evolução do vinho. Neste aspecto, os resultados obtidos também acrescentam novos dados sobre composição elementar da uva bem como do vinho, por se tratar de um estudo envolvendo o varietal Marselan, que não é um varietal tradicionalmente cultivado na região do Vale dos Vinhedos e arredores.

Além disso, esta tese apresenta PIXE como uma técnica em potencial para determinação da composição elementar etapa por etapa do cultivo da uva e processo de vinificação, podendo ser aplicada a outros processos de produção de alimentos e bebidas.

## ANEXO 1 – Artigos publicados durante o curso de Doutorado

1. DE OLIVEIRA, J. V. D. ; BOUFLEUR, L. A. ; DOS SANTOS, C. E. I. ; DIAS, J. F.; SQUEFF, C. H.; SILVA, G. R. G.; IANISTCKI, M.; BENVEGNO, V. C. ; DA SILVA, J. Occupational genotoxicity among copper smelters. *Toxicology and Industrial Health*, v. 27, 2011 (*in press*).

2. DOS SANTOS, C. E. I.; SHUBEITA, S. M.; AMARAL, L.; GRANDE, P.; DIAS, J. F. Depth profiling techniques: how PIXE compares to NRP and MEIS? *X-Ray Spectrometry*, Chichester, v. 40, n. 3, p. 157-161, May-June 2011.

3. DOS SANTOS, C. E. I.; DA SILVA, L. R. M.; BOUFLEUR, L. A.; DEBASTIANI, R.; STEFENON, C. A.; AMARAL, L.; YONEAMA, M. L.; DIAS, J. F. Elemental characterisation of Cabernet Sauvignon wines using Particle-Induced X-ray Emission (PIXE). *Food Chemistry*, v. 121, p. 244-250, 2010.

4. SPADA, P. D. S.; BORTOLINI, G. V.; PRÁ, D.; DOS SANTOS, C. E. I.; DIAS, J. F.; HENRIQUES, J. O. A. P.; SALVADOR, M. Macro and microminerals: are frozen a good source? *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 82, n. 4, p. 861-867, Aug. 2010.

5. ANDRADE, V. M.; ZOCHE, J. J.; LEFFA, D. D.; DAMIANI, A. P.; CARVALHO, F.; MENDONÇA, R. A.; DOS SANTOS, C. E. I.; BOUFLEUR, L. A.; DIAS, J. F. Heavy metals and DNA damage in blood cells of insectivore bats in coal mining areas of catarinense coal basin, Brazil. *Environmental Research*, v. 110, n. 7, p. 684-691, July 2010.

6. LEFFA, D. D.; DAMIANI, A. P.; DA SILVA, J.; ZOCHE, J. J.; DOS SANTOS, C. E. I.; BOUFLEUR, L. A.; DIAS, J. F.; DE ANDRADE, V. M. Evaluation of the genotoxic potential 1 of the mineral coal tailings through the *Helix aspersa* (MÜLLER, 1774). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 59, n. 4, p.614-621, 2010.

7. GIULIAN, R.; SANTOS, C. E. I.; SHUBEITA, S. M.; SILVA, L. M.; YONEAMA, M. L.; DIAS, J. F. The study of the influence of industrial processing on the elemental composition of mate tealeaves (*Ilex paraguariensis*) using the PIXE technique. *Food Science and Technology*, v. 42, p. 74-80, May 2009.

8. DIAS, J. F.; FERNANDEZ, W. S.; BOUFLEUR, L. A.;  
DOS SANTOS, C. E. I.; AMARAL, L.; YONEAMA, M. L.; DIAS, J. F.  
Biomonitoring study of seasonal anthropogenic influence at the Itamambuca  
beach (SP, Brazil). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*,  
Amsterdam, v. 267, n. 11, p. 1960-1964, 2009.

ANEXO 2 – Tabela dos resultados do SRIM para uma amostra de vinho (perda de energia, alcance projetado e *straggling*)

Energia do íon (MeV)	$(dE/dx)_{elec}$ (eV. Å <sup>-1</sup> )	$(dE/dx)_{nuc}$ (eV. Å <sup>-1</sup> )	Alcance projetado (Å)	Straggling longitudinal (Å)	Straggling lateral (Å)
0.0011	7.77E-01	1.10E-01	649	524	415
0.0012	8.11E-01	1.07E-01	705	553	441
0.0013	8.45E-01	1.04E-01	760	581	465
0.0014	8.77E-01	1.01E-01	815	608	489
0.0015	9.07E-01	9.86E-02	870	634	512
0.0016	9.37E-01	9.62E-02	925	658	534
0.0017	9.66E-01	9.39E-02	979	682	556
0.0018	9.94E-01	9.17E-02	1032	705	577
0.002	1.05E+00	8.78E-02	1139	748	617
0.00225	1.10E+00	8.34E-02	1271	799	666
0.0025	1.15E+00	7.95E-02	1401	846	711
0.00275	1.20E+00	7.60E-02	1531	890	755
0.003	1.25E+00	7.29E-02	1659	932	797
0.00325	1.29E+00	7.00E-02	1785	971	837
0.0035	1.34E+00	6.74E-02	1911	1008	875
0.00375	1.38E+00	6.50E-02	2034	1043	912
0.004	1.42E+00	6.28E-02	2157	1077	948
0.0045	1.50E+00	5.90E-02	2397	1138	1016
0.005	1.57E+00	5.56E-02	2632	1195	1079
0.0055	1.65E+00	5.27E-02	2862	1247	1138
0.006	1.71E+00	5.01E-02	3087	1295	1194
0.0065	1.78E+00	4.77E-02	3307	1339	1246
0.007	1.84E+00	4.57E-02	3523	1380	1296
0.008	1.96E+00	4.21E-02	3943	1454	1389
0.009	2.08E+00	3.91E-02	4347	1520	1473
0.01	2.18E+00	3.65E-02	4737	1578	1549
0.011	2.28E+00	3.44E-02	5116	1630	1620
0.012	2.38E+00	3.24E-02	5483	1678	1686
0.013	2.47E+00	3.08E-02	5840	1721	1747
0.014	2.56E+00	2.93E-02	6188	1760	1804
0.015	2.64E+00	2.79E-02	6528	1797	1858
0.016	2.72E+00	2.67E-02	6860	1831	1909
0.017	2.79E+00	2.56E-02	7185	1862	1957
0.018	2.86E+00	2.46E-02	7504	1891	2002
0.02	3.00E+00	2.29E-02	8123	1945	2087

0.0225	3.15E+00	2.11E-02	8868	2005	2183
0.025	3.29E+00	1.95E-02	9587	2058	2269
0.0275	3.42E+00	1.82E-02	10300	2104	2349
0.03	3.53E+00	1.71E-02	11000	2146	2422
0.0325	3.63E+00	1.61E-02	11600	2184	2489
0.035	3.73E+00	1.53E-02	12300	2219	2553
0.0375	3.81E+00	1.45E-02	12900	2252	2612
0.04	3.89E+00	1.38E-02	13500	2282	2668
0.045	4.03E+00	1.26E-02	14700	2339	2772
0.05	4.14E+00	1.17E-02	15900	2390	2867
0.055	4.23E+00	1.09E-02	17000	2436	2955
0.06	4.31E+00	1.01E-02	18200	2478	3037
0.065	4.36E+00	9.53E-03	19300	2518	3115
0.07	4.40E+00	9.00E-03	20400	2555	3189
0.08	4.45E+00	8.11E-03	22600	2632	3327
0.09	4.45E+00	7.39E-03	24800	2703	3456
0.1	4.42E+00	6.80E-03	27000	2769	3579
0.11	4.37E+00	6.30E-03	29300	2834	3698
0.12	4.31E+00	5.87E-03	31500	2896	3814
0.13	4.23E+00	5.51E-03	33900	2957	3928
0.14	4.15E+00	5.19E-03	36200	3018	4042
0.15	4.07E+00	4.91E-03	38600	3079	4155
0.16	3.98E+00	4.66E-03	41100	3139	4268
0.17	3.89E+00	4.43E-03	43600	3201	4382
0.18	3.81E+00	4.23E-03	46100	3262	4496
0.2	3.64E+00	3.88E-03	51500	3428	4729
0.225	3.45E+00	3.52E-03	58500	3668	5029
0.25	3.28E+00	3.23E-03	65800	3914	5341
0.275	3.12E+00	2.98E-03	73600	4167	5666
0.3	2.98E+00	2.77E-03	81700	4428	6004
0.325	2.85E+00	2.60E-03	90300	4697	6356
0.35	2.73E+00	2.44E-03	99200	4973	6723
0.375	2.63E+00	2.30E-03	108400	5256	7104
0.4	2.53E+00	2.18E-03	118100	5546	7500
0.45	2.36E+00	1.98E-03	138400	6469	8333
0.5	2.22E+00	1.81E-03	160100	7387	9222
0.55	2.09E+00	1.67E-03	183200	8307	10200
0.6	1.99E+00	1.55E-03	207600	9233	11200
0.65	1.89E+00	1.45E-03	233300	10200	12200
0.7	1.81E+00	1.36E-03	260200	11100	13300
0.8	1.66E+00	1.21E-03	317700	14200	15600
0.9	1.54E+00	1.09E-03	379900	17200	18100
1	1.45E+00	9.99E-04	446600	20100	20700
1.1	1.37E+00	9.21E-04	517200	22900	23500
1.2	1.30E+00	8.54E-04	591600	25800	26400
1.3	1.24E+00	7.97E-04	670100	28600	29500

1.4	1.18E+00	7.47E-04	752600	31400	32600
1.5	1.12E+00	7.04E-04	839200	34300	36000
1.6	1.08E+00	6.65E-04	929800	37300	39400
1.7	1.03E+00	6.31E-04	1024300	40200	43000
1.8	9.92E-01	6.00E-04	1122800	43300	46700
2	9.21E-01	5.48E-04	1331300	53600	54400
2.25	8.47E-01	4.94E-04	1613400	68300	64800
2.5	7.84E-01	4.50E-04	1919200	82500	76000
2.75	7.32E-01	4.14E-04	2248200	96300	88000
3	6.86E-01	3.84E-04	2600000	110200	100700
3.25	6.46E-01	3.58E-04	2974300	124100	114100
3.5	6.12E-01	3.35E-04	3370800	138200	128200
3.75	5.81E-01	3.15E-04	3789100	152400	143100
4	5.53E-01	2.98E-04	4229000	166800	158600
4.5	5.06E-01	2.68E-04	5172000	217700	191700
5	4.66E-01	2.44E-04	6198800	265900	227600
5.5	4.33E-01	2.25E-04	7307800	313300	266000
6	4.05E-01	2.08E-04	8497700	360400	307000
6.5	3.81E-01	1.94E-04	9767200	407900	350600
7	3.59E-01	1.81E-04	11100	455700	396600
8	3.24E-01	1.61E-04	14000	625500	496100
9	2.95E-01	1.45E-04	17300	785100	605100
10	2.71E-01	1.32E-04	20800	941700	723400

---

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> MÁXIMO, A.; ALVARENGA, B. *Curso de Física*. São Paulo: Scipione, v.1, 1997.
- <sup>2</sup> De MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira 2010. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos>>. Acesso em: 13 out. 2011.
- <sup>3</sup> RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G.; MIELE, A. Teores de cátions dos vinhos da Serra Gaúcha. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v. 28, n. 3, p. 635-641, Jul.-Set. 2008.
- <sup>4</sup> APROVALE. Disponível em: <<http://www.valedosvinhedos.com.br>>. Acesso em: 15 ago. 2011.
- <sup>5</sup> GUERRA, C. C. Visita aos mistérios do vinho. *Associação Brasileira de Enologia*. Disponível em: <<http://www.enologia.org.br>>. Acesso em: 27 ago. 2007.
- <sup>6</sup> AZENHA, M. A. G. O.; VASCONCELOS, M. T. S. D. Assessment of the Pb and Cu in vitro availability in wines by means of speciation procedures. *Food and Chemical Toxicology*, v. 38, p. 899-912, April 2000.
- <sup>7</sup> GONZÁLVEZ, A.; LLORENS, A.; CERVERA, M. L.; ARMENTA, S.; GUARDIA, M. de la. Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia. *Food Chemistry*, v. 112, p. 26-34, 2009.
- <sup>8</sup> ROSSANO, E.C.; SZILÁGYI, Z.; MALORNI, A.; POCSFALVI, G. Influence of winemaking practices on the concentration of rare earth elements in white wines studied by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 55, p. 311-317, 2007.

- 
- <sup>9</sup> CATARINO, S.; MADEIRA, M.; MONTEIRO, F.; ROCHA, F.; CURVELO-GARCIA, A. S.; BRUNO DE SOUSA, R. Effect of bentonite characteristics on the elemental composition of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 56, n. 1, p.158–165, 2008.
- <sup>10</sup> FABANI, M. P.; TORO, M. E.; VAZQUEZ, F.; DÍAZ, M. P.; WUNDERLIN, D. A. Differential absorption of metals from soil to diverse vine varieties from the Valley of Tulum (Argentina): consequences to evaluate wine provenance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 57, n. 16, p.7409–7416, 2009.
- <sup>11</sup> FABANI, M. P.; ARRUA, R. C.; VAZQUEZ, F.; DÍAZ, M. P.; BARONI, M. V.; WUNDERLIN, D. A. Evaluation of elemental profile coupled to chemometrics to assess the geographical origin of Argentinean wines. *Food Chemistry*, v. 119, p. 372-379, 2010.
- <sup>12</sup> ALMEIDA, C. M. R.; VASCONCELOS, M. T. D. Multielement composition of wines and their potentialities as fingerprints of wine origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 16, p. 4788-4798, June 2003.
- <sup>13</sup> INTERNATIONAL OENOLOGICAL CODEX. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Paris, 2011. Disponível em: <[www.oiv.int](http://www.oiv.int)>. Acesso em: 20 julho 2010.
- <sup>14</sup> JOHANSSON, S. A. E.; CAMPBELL, J. L.; MALMQVIST, K. G. (Eds.). *Particle-induced x-ray emission spectrometry (PIXE)*. New York: John Wiley, 1995.
- <sup>15</sup> SANTOS, C. E. I. dos; SILVA, L. R. M. da; BOUFLEUR, L. A.; DEBASTIANI, R.; STEFENON, C. A.; AMARAL, L.; YONEAMA, M. L.; DIAS, J. F. Elemental characterisation of Cabernet Sauvignon wines using Particle-Induced X-ray Emission (PIXE). *Food Chemistry*, v. 121, p. 244-250, 2010.

- 
- <sup>16</sup> SPADA, P. D. S.; BORTOLINI, G. V.; PRÁ, D.; DOS SANTOS, C. E. I.; DIAS, J. F.; HENRIQUES, J. O. A. P.; SALVADOR, M. Macro and microminerals: are frozen fruits a good source? *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 82, n. 4, p. 861-867, Aug. 2010.
- <sup>17</sup> GIULIAN, R.; SANTOS, C. E. I.; SHUBEITA, S. M.; SILVA, L. M.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. Elemental characterization of commercial mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) before and after hot water infusion using Ion Beam Techniques. *Journal Food and Chemistry*, v. 55, n. 3, p. 741-746, Apr. 2007.
- <sup>18</sup> NIEKRASZEWICZ, L. A. B. Embalagens metálicas e alimentos: o caso do atum enlatado. *Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Ciências*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- <sup>19</sup> ALVAREZ, M.; MORENO, I. M.; JOS, A. M.; CAMEAN, A. M.; GONZALEZ, A. G. Study of mineral profile of Montilla-Moriles “fino” wines using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry methods. *Journal of Food and Composition Analysis*, v. 20, p. 391-395, 2007.
- <sup>20</sup> ANJOS, M. J.; LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O. de; MOREIRA, S.; BARROSO, R. C.; CASTRO, C. R. F. Trace elements determination in red and white wines using Total-Reflection X-Ray Fluorescence. *Spectrochimica Acta B*, Amsterdam, v. 58, p. 2227-2232, Nov. 2003.
- <sup>21</sup> CHU, W. K. Backscattering spectrometry. New York: Academic Press, 1978. 384 p.
- <sup>22</sup> DENKER, A.; MAIER, K. H. High energy PIXE using 68 MeV protons. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 150, n. 11, p. 118-123, 1999.
- <sup>23</sup> CAMPBELL, J. L.; HOPMAN, T. L.; MAXWELL, J. A.; NEJEDLY, Z. The Guelph PIXE software package III: Alternative proton database. *Nuclear*

- 
- Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 170, p. 193-204, 2000.
- <sup>24</sup> CAMPBELL, J. L.; BOYD, N. I.; GRASSI, N.; BONNICK, P.; MAXWELL, J. A. Guelph PIXE software package IV. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 268, p. 3356-3363, 2010.
- <sup>25</sup> GUPIXWIN. Disponível em :< <http://pixe.physics.uoguelph.ca/home/>>. Acesso em: 01 dez. 2011.
- <sup>26</sup> CHEN, M. H.; CRASEMANN, B. Relativistic cross sections for atomic K- and L-shell ionization by protons, calculated from a Dirac–Hartree–Slater model. *Atomic Data and Nuclear Data Tables*, v. 33, p. 217–233, 1985.
- <sup>27</sup> LIU, Z.; CIPOLLA, S. J. ISICS: a program for calculating K, L and M cross sections from ECPSSR theory using a personal computer. *Computer Physics Communication*, v. 97, p. 315–330, Sept. 1996.
- <sup>28</sup> GUCSA. The GUPIXWIN manual and user guide. Versão 2.1. Disponível no pacote de instalação do GUPIXWIN.
- <sup>29</sup> SCHIWETZ, G.; GRANDE, P. L. A unitary convolution approximation for the impact-parameter dependent electronic energy loss. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 153, p. 1-9, 1999.
- <sup>30</sup> GRANDE, P. L.; SCHIWETZ, G. Convolution approximation for the energy loss, ionization probability and straggling of fast ions. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 267, p. 859-865, 2009.
- <sup>31</sup> Ziegler, J. F. SRIM. Disponível em: <[www.srim.org](http://www.srim.org)>. Acesso em: 19 out. 2011.
- <sup>32</sup> SHUBEITA, S. M.; SANTOS, C. E. I. dos; FILHO, J. L. R.; GIULIAN, R.; MEIRA, L.; SILVA, P. R.; AMARAL, L.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. Residual activity induced by íon bombardment on insulating samples.

---

*Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 240, p. 297-302, 2005.

- <sup>33</sup> SANTOS, C. E. I. dos. Caracterização elementar do vinho gaúcho. Dissertação (Mestrado em Física) - Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008, 100 p.
- <sup>34</sup> SIMNRA. Disponível em < <http://home.rzg.mpg.de/~mam/> >. Acesso em: 01 dez. 2011.
- <sup>35</sup> MIELE, A.; MANDELLI, F. Uvas para processamento em regiões de clima temperado. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 17 out. 2011.
- <sup>36</sup> REIS, M. A.; ALVES, L. C.; JESUS, A. P. Matrix effects correction for quantitative TTPIXE analysis. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 109/110, p. 134-138, 1996.
- <sup>37</sup> CALLEGARI-JACQUES, S. M. Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed, 2008, 255 p.
- <sup>38</sup> SPSS. Disponível em <[www.spss.com](http://www.spss.com)>. Acesso em: 04 dez. 2011.
- <sup>39</sup> ORIGINLAB. Disponível em <[www.originlab.com](http://www.originlab.com)>. Acesso em : 04 dez. 2011.
- <sup>40</sup> RONCHI, L. H; COELHO, O. G. W. (Organizadores) Tecnologia, diagnóstico e planejamento ambiental. São Leopoldo: Editora Unissinos, 2003, 351 p.
- <sup>41</sup> FALCADE, I.; MANDELLI, F. (Organizadores) Vale dos Vinhedos: caracterização geográfica da região. Caxias do Sul: EDUCS; Bento Gonçalves: EMBRAPA, 1999, 144 p.

- 
- <sup>42</sup> GLASS, A. D. M. Plant nutrition: an introduction to current concepts. Boston: Jones and Bartlett, 1989, 234 p.
- <sup>43</sup> MAUAD, M.; GRASSI FILHO, H.; CRUSCIOL, C. A. C.; CORREA, J. C. Teores de silício no solo e na planta de arroz de terras altas com diferentes doses de adubação silicatada e nitrogenada. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 27, p. 867-873, 2003.
- <sup>44</sup> EPSTEIN, E. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. New York: Johnn Wiley, 1972, 412 p.
- <sup>45</sup> NUTRIÇÃO DE PLANTAS: ASPECTOS GERAIS. Disponível em: <<http://www.nutricaoodeplantas.agr.br>>. Acesso em: 17/10/2011.
- <sup>46</sup> HANSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current opinion in plant biology*, v. 12, p. 259-266, 2009.
- <sup>47</sup> PAIS, I.; BENTON JONES, J. The handbook of trace elements. Boca Raton: St. Lucie Press, 1997, 223 p.
- <sup>48</sup> MPELASOKA, B. S.; SCHACHTMAN, D. P.; TREEBY, M. T.; THOMAS, M. R. A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, v. 9, p. 158-168, 2003.
- <sup>49</sup> BERTOLDI, D.; LARCHER, R.; BERTAMINI, M.; OTTO, S.; CONCHERI, G.; NICOLINI, G. Accumulation and distribution pattern of macro- and microelements and trace elements in *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 59, p. 7224-7236, June 2011.
- <sup>50</sup> ALVAREZ, M.; MORENO, I. M.; JOS, A. M.; CAMEAN, A. M; GONZALEZ, A. G. Study of mineral profile of Montilla-Moriles “fino” wines using inductively

---

coupled plasma atomic emission spectrometry methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, p. 391-395, 2007.