

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUIMICA

"Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Flávio Guimarães Barros e aprovado pela Comissão Julgadora."

19 de abril de 1990

Matthieu Tubino

"DETERMINAÇÃO CONDUTOMETRICA E COLORIMETRICA

DE ACIDEZ VOLATIL DE VINAGRES E VINHOS

POR INJEÇÃO EM FLUXO"

FLAVIO GUIMARAES BARROS

TESE DE MESTRADO

ORIENTADOR: PROF. DR. MATTHIEU TUBINO

CAMPINAS - 1990

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus pais, pelo apoio e compreensão, e à Márcia,
pelo carinho e incentivo.

Sem eles, ainda haveria um menino à frente do homem.

PREFACIO

Um trabalho, como este desempenhado pelo Flávio, traz muita satisfação ao orientador. Certamente, não se espera a perfeição, afinal é uma tarefa desempenhada por um ser humano.

O leitor atento poderá verificar que cuidados foram tomados com uma grande variedade de aspectos. Somente alguém com muito carinho pelo que estava fazendo, poderia assim proceder.

Muitos foram os problemas encontrados ao longo do desenvolvimento do trabalho. O material, aqui apresentado, reflete apenas os sistemas otimizados.

O ácido acético "azedou" muitas vezes os resultados e foi necessário muita persistência, estudo e imaginação para "domá-lo" e obter um sistema bem "temperado".

Pela exiguidade de tempo não foi possível estudar mais detalhadamente certos fatos como, por exemplo, o "enigma do loop". Este, por si só, poderá ser um tema de tese.

Num balanço geral, podemos dizer que o esforço valeu a pena, pelos ótimos resultados obtidos na análise de vinagres e vinhos. Para comemorar, nada melhor que um viva com um bom vinho. Saúde!

MATTHIEU TUBINO

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Célio Pasquini, pelas sugestões dadas no decorrer do trabalho.
- Ao Sr. Serapião Dias dos Santos, das Indústrias Vinagre Castelo Ltda., pelas valiosas informações e referências bibliográficas.
- Ao Dr. Takuo Hashizume, do Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, pelas informações, amostras, referências bibliográficas e pela gentileza na cessão das instalações do Instituto para a análise das amostras por métodos comparativos.
- Ao Prof. Dr. Antônio Luis Pires Valente e ao seu orientado Fábio Augusto, pelo auxílio no uso do editor de texto e pelo empréstimo do microcomputador e impressora.
- Ao Sr. Mário S. Toma, pela construção da cela de difusão e do injetor usados neste trabalho.
- Ao colega Lourival Cardoso de Faria, pelo apoio e sugestões nos problemas encontrados.
- Aos amigos Beth, Marcello, Aninha, Dri e Mário, pela leal amizade e companheirismo nesses anos de convivência acadêmica.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida.
- A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

O conhecimento científico adquirido pelo aluno a cada dia de convivência com seu mestre é, normalmente, o elo que os une para a criação da obra.

Todavia, a obra científica, neste caso, se torna pequena, se comparada com os ensinamentos de vida, o respeito e admiração que marcaram esta convivência.

O enorme conhecimento científico transferido e adquirido, que se materializa na obra, é apenas uma pequena mostra de gratidão pela lição de vida assimilada nestes anos.

Prof. Tubino, muito obrigado!

INDICE

Página

Resumo

Abstract

Capítulo I - INTRODUÇÃO.....	01
I.1. - Análise por Injeção em Fluxo.....	01
I.1.2. - Resumo Histórico.....	02
I.1.3. - Componentes Básicos de um Sistema FIA.....	04
I.1.4. - Titulações em FIA.....	05
I.1.5. - Métodos de Difusão Gasosa em FIA.....	07
I.2. - Condutometria.....	09
I.3. - Colorimetria e Espectrofotometria.....	12
I.4. - Vinagres.....	13
I.5. - Vinhos.....	16
I.6. - Métodos de Dosagem de "Acidez Volátil".....	19
I.6.1. - Métodos por Destilação Direta.....	19
I.6.2. - Métodos por Arraste de Vapor.....	21
Capítulo II - PARTE EXPERIMENTAL.....	27
II.1. - Instrumentação.....	27
II.2. - Reagentes e Padrões.....	31
II.3. - Amostras.....	33
II.4. - Sistemas de Fluxo.....	34
II.4.1. - Condutométrico (Vinagres).....	34
II.4.2. - Condutométrico (Vinhos).....	35
II.4.3. - Colorimétrico (Vinagres e Vinhos).....	36

II.5. - Métodos Comparativos.....	37
Capítulo III - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
III.1. - Do Sistema FIA.....	38
III.2. - Dos Loops.....	44
III.3. - Da Linearidade dos Métodos.....	47
III.4. - Do Tratamento das Amostras.....	48
III.5. - Das Curvas-Padrão.....	52
III.5.1. - Condutométrico (Vinagres).....	52
III.5.2. - Colorimétrico (Vinagres).....	57
III.5.3. - Condutométrico (Vinhos).....	64
III.5.4. - Colorimétrico (Vinhos).....	68
III.6. - Métodos Comparativos.....	71
III.6.1. - Condutométrico (Vinagres).....	72
III.6.2. - Colorimétrico (Vinagres).....	73
III.6.3. - Condutométrico (Vinhos).....	75
III.6.4. - Colorimétrico (Vinhos).....	76
Capítulo IV - DISCUSSÃO FINAL.....	79
BIBLIOGRAFIA.....	82

RESUMO

Os métodos atuais de determinação do teor de acidez volátil em vinagres e vinhos são relativamente demorados (aprox. 40 min) e envolvem técnicas sujeitas a uma variedade de erros (da ordem de 2,5%).

O método por nós desenvolvido, além de proporcionar resultados em intervalo de tempo menor (1,0 min), apresenta menor erro relativo (da ordem de 0,8%).

A análise condutométrica consiste na injeção da amostra numa linha de fluxo de água deionizada que passa por um separador de membrana de PTFE. O ácido acético difunde pela membrana para outra linha de fluxo de água deionizada que passa por uma cela de condutividade.

A análise colorimétrica consiste, também, na injeção da amostra numa linha de fluxo de água deionizada passando pelo mesmo separador de membrana. Todavia o ácido acético se difunde pela membrana para uma linha de fluxo de solução de púrpura de bromocresol em $\text{pH} = 7,0$. A solução passa por uma cela de fluxo adaptada a um espectrofotômetro ajustado em comprimento de onda de 540nm.

Em ambos os casos, os resultados foram registrados em registrador, para construção das curvas-padrão.

As amostras foram tratadas com algumas gotas de água oxigenada para completa oxidação de sulfito à sulfato. O sulfito é eliminado devido à sua permeabilidade em PTFE, na forma de SO_2 .

Para comparação dos resultados, foram feitas análises pelos métodos tradicionais, além de titulações com soluções de NaOH.

ABSTRACT

The recent methods for the determination of the contents of volatile acidity in vinegars and wines are relatively slow (approx. 40 min) and involve technics subjected to a variety of errors (approx. 2.5%).

The method developed in this work provides results in a shorter time (1.0 min), with a smaller relative error (approx. 0.8%).

The conductometric analysis consists in the injection of the sample in a deionized water stream, that passes through a PTFE membrane separator. The acetic acid difuses through the membrane to another deionized water stream, that passes through a conductivity cell.

The colorimetric analysis also consists in the injection of the sample in a deionized water stream, passing through the same PTFE membrane separator. However, the acetic acid difuses to a bromocresol purple solution stream at pH= 7.0. The solution passes through a flow cell in a spectrophotometer at a wavelength of 540nm.

In both cases, the results were registered in a registrator, in order to obtain the standard curves.

The samples were treated with a few drops of oxigenated water for the complete oxidation of the sulfite to sulfate. The sulfite should be eliminated due to its permeability in PTFE, as SO₂.

For the comparison of the results, analysis were carried out by traditional methods, besides titrations with NaOH solutions.

I - INTRODUÇÃO

I.1. Análise por Injeção em Fluxo

I.1.1. O Conceito FIA

Dada a crescente necessidade de análises químicas mais rápidas e precisas nos últimos anos, os métodos de automação e mecanização têm recebido especial atenção por parte dos químicos analíticos.

Tais métodos de automação visam a obtenção de resultados no menor tempo possível, através da substituição de operações realizadas manualmente, por etapas automatizadas.

A análise por injeção em fluxo (FIA)(1*) constitui uma importante inovação metodológica em química analítica, que se caracteriza, comumente, por processos químicos simples, aparelhagem barata, manejo fácil e grande facilidade de obtenção de resultados(1).

O método FIA é um processo que consiste na inserção de soluções ou amostras líquidas em um fluxo líquido contínuo não-segmentado, com subsequente detecção do analito. Velocidades analíticas de 100 análises por hora, com precisão melhor que 1% são facilmente obtidas(2).

(1*) Do inglês: "Flow Injection Analysis"

I.1.2. Resumo Histórico

Quando uma nova técnica química é introduzida, geralmente é estruturada com base na composição de vários conceitos desenvolvidos por diversos pesquisadores. No caso do método FIA não poderia ser diferente⁽²⁾.

O conceito de uma amostra sendo injetada, em um fluxo contínuo, com registro constante dos resultados, era um dos conceitos básicos da Cromatografia Gasosa, desenvolvida por James e Martin em 1952⁽³⁾.

Em 1957, Skeggs⁽⁴⁾ desenvolveu um sistema automatizado de análise de amostras usando fluxo segmentado contínuo, o que se tornou a chave para o desenvolvimento da análise por injeção em fluxo.

Em 1958, Spackman, Stein e Moore descreveram o primeiro analisador de aminoácidos semi-automático⁽⁵⁾, que foi o protótipo dos sistemas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Em 1970, Nagy, Feher e Pungor⁽⁶⁾ descreveram o uso de eletrodos de grafite para medidas volumétricas de amostras injetadas em fluxos contínuos.

Em 1972, sistemas com recirculação dos reagentes foram introduzidos por Bergmeyer e Hagen⁽⁷⁾, e também por White e Fitzgerald⁽⁸⁾.

Mas foi em 1975, com o trabalho de Ruzicka e Hansen⁽⁹⁾, que a técnica foi batizada com o nome de "Flow Injection

Analysis - FIA". Neste trabalho são descritos os conceitos de analisadores de fluxo contínuo não-segmentado.

Em trabalho seguinte, Ruzicka e Stewart⁽¹⁰⁾ descreveram seus estudos no delineamento dos parâmetros mais importantes em FIA, tais como o volume de amostra injetado, o diâmetro e o comprimento dos tubos, para estabelecer um modelo do sistema e determinar as limitações do método.

No mesmo ano, Dutt e Mottola⁽¹¹⁾ descreveram sistemas para determinações cinéticas baseados em reações de óxido-redução.

Em 1977, o trabalho de Fleet e Ho⁽¹²⁾, de titulações de pequenas amostras, em sistemas de fluxo contínuo, foi adaptado por Ruzicka e Hansen⁽¹³⁾ para sistemas de análise por injeção em fluxo.

Krug, Bergamin, Zagatto e Jorgensen⁽¹⁴⁾ realizaram determinações turbidimétricas de sulfato em águas usando FIA.

Em 1978, Bergamin e colaboradores propuseram sistemas com configuração em confluência⁽¹⁵⁾ e zonas coalescentes^(16,17).

O método FIA não pode mais ser considerado, simplesmente, segundo o conceito inicialmente introduzido por Ruzicka e Hansen, em 1975, nem como proposto por Bergamin e colaboradores em 1979 e, em 1981, por Stewart. Os avanços tecnológicos levaram à necessidade de expansão do conceito original⁽¹⁸⁾. A idéia de um fluxo carregador escoando continuamente, deve ser revista, para incluir os

sistemas FIA com escoamentos intermitentes(19,20), ou aprisionamento de zona da amostra(21).

Conceitos importantes como dispersão e zona dispersa, bem como comparações entre o método FIA e os outros já existentes podem ser encontrados nos trabalhos de Mindegaard(17), Reijn, Van der Linden e Poppe(22), Bergamin e colaboradores(23,24) e Snyder(25).

1.1.3. Componentes Básicos de um Sistema FIA

Um sistema FIA é composto, essencialmente, pelas seguintes partes(1):

a) Unidade de Propulsão: estabelece uma vazão, o mais constante possível. Pode ser uma bomba peritáltica, um sistema de pressão gasosa ou mesmo a força da gravidade.

b) Sistema de Injeção: permite introduzir em um fluido, sem interrompê-lo, um volume fixo de amostra com grande reprodutibilidade de operação.

c) Bobina de reação: onde se dá a reação ou o simples transporte da amostra. Pode ser um tubo reto ou em forma de serpentina. Modificações podem ser introduzidas de acordo com a necessidade da análise.

d) Cela de fluxo: incorporada a um instrumento de medida (colorímetro, potenciômetro, fotômetro, etc.), que traduz o sinal contínuo a um registrador ou microprocessador.

Idealmente, o sistema de injeção em fluxo deve ser construído de modo que⁽²⁶⁾:

a) O fluxo carregador flua através de um tubo estreito de diâmetro uniforme, inclusive nos injetores e detectores.

b) A injeção da amostra seja uma operação instantânea, de volume preciso e de curta duração, para que o fluxo carregador não seja interrompido.

c) Confluências apresentem adições sempre reprodutivas

d) O fluxo, nos canais, seja livre de pulsos e que este possa ser iniciado ou interrompido instantaneamente.

e) O detector responda rápida e seletivamente à concentração do analito com máxima sensibilidade.

Obviamente, conseguir um sistema com todas estas características é muito difícil, porém, o compromisso entre elas deve levar em conta o objetivo, disponibilidade de recursos e custo.

1.1.4. Titulações em FIA

Em química analítica, a escolha entre um método de medida direto (potenciometria, colorimetria, etc.) e um método titrimétrico, depende de uma série de fatores, tais como a precisão requerida, a velocidade, a disponibilidade de instrumentação, etc. Geralmente, titulações são mais demoradas e menos sensíveis, porém mais precisas que métodos diretos⁽¹³⁾.

A coleta de dados e confecção de gráficos de curvas, além do tempo gasto nas titulações, são as maiores desvantagens dos métodos titrimétricos. Isto deve ser, talvez, a razão de se usar as titulações como opção apenas quando os métodos diretos não fornecem bons resultados, como por exemplo, na determinação de ácidos e bases fortes e fracos, ou na determinação de água pelo método Karl Fischer⁽¹³⁾.

O conceito geral das titulações em FIA pode ser descrito considerando-se uma amostra de ácido a ser titulada, que foi injetada em um fluxo carregador de base, que funciona como titulante. Tal zona de amostra se dispersará a caminho do detector, em vários estágios, enquanto se dá a neutralização nas interfaces entre o ácido e a base⁽²⁷⁾.

Se o material injetado é mais concentrado que o carregador, é evidente que tanto no início como no fim do pico registrado, deve haver um ponto onde o ácido foi exatamente neutralizado pela base. Estes dois pontos de equivalência possuem o mesmo valor de gradiente de dispersão (Dg) , e suas distâncias físicas (medidas em unidades de tempo para vazões constantes), aumentarão proporcionalmente com o aumento da concentração de ácido injetada⁽²⁷⁾ (vide Fig. 1).

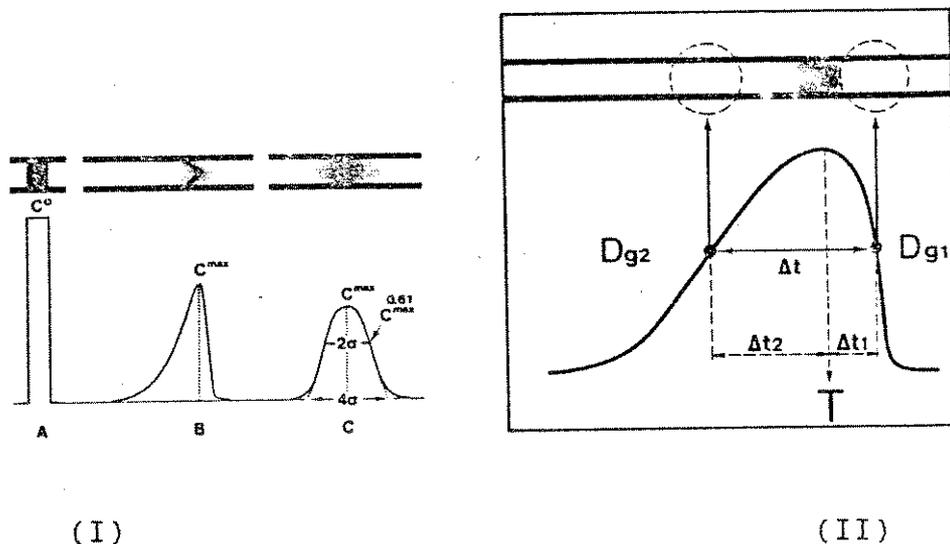


Fig. 1: I) Dispersão de uma amostra injetada
II) Zona de amostra dispersa⁽²⁷⁾

Exemplos de titulação em FIA podem ser encontrados nos trabalhos de Van Son, Schotorst e Den Boef⁽²⁸⁾; Ramsing, Ruzicka e Hansen⁽²⁹⁾ e Andrade, Ferreira e Baccan⁽³⁰⁾.

I.1.5. Métodos de Difusão Gasosa em FIA

As membranas podem ser usadas em FIA para transferir certos compostos de um fluxo doador (amostra), para um fluxo receptor (detector). Este princípio tem sido usado há vários anos em sistemas de fluxo contínuo com difusão gasosa e em diálises. Baadenhuijsen e Seuren-Jacobs⁽³¹⁾ parecem ser os primeiros a explorar este conceito em FIA, num processo para determinação de CO_2 , em plasma, usando membrana⁽³²⁾.

O gás absorvido muda o pH do fluxo receptor, e isto pode ser medido espectrofotometricamente, via um indicador ácido-base, sendo a variação da absorbância proporcional ao logaritmo da concentração do analito(19).

Devido ao fato de apenas algumas espécies serem suficientemente voláteis a temperatura ambiente, a difusão por membrana se destaca como uma técnica altamente seletiva. Dependendo do pH de um fluxo doador ácido, CO₂, SO₂, HCN, HF, HCl e CH₃COOH emanarão em quantidades detectáveis(26).

Com a adequada escolha do pH, uma separação parcial pode ser obtida, devido às diferenças nos valores dos pKa do "ácido carbônico", que gera o CO₂, e dos outros ácidos mais fortes que produzem "gases ácidos"(26).

Na prática, todavia, todas estas espécies estarão, raramente, presentes na amostra ao mesmo tempo. Apenas algumas amostras de bebidas podem conter grandes quantidades de CO₂, o que pode interferir na determinação de quantidades relativamente pequenas de SO₂. Neste caso, ao invés de usar um indicador ácido-base, pode-se considerar a utilização de um reagente colorido mais seletivo(33), que não é afetado pelo CO₂.

Gases alcalinos, tais como a amônia, têm sido medidos pela técnica de difusão em FIA com grande reprodutibilidade e sensibilidade(18,28,46).

I.2. Conduetometria(34)

Um dos primeiros problemas teóricos na eletroquímica foi saber de que modo as soluções de eletrólitos conduziam a corrente elétrica.

Sabia-se que os condutores metálicos obedeciam a Lei de Ohm:

$$I=E/R,$$

onde I é a corrente (amperes), E é a diferença de potencial elétrico entre os terminais do condutor (volts) e, a constante de proporcionalidade R é a resistência (ohm), que depende das dimensões do condutor. Assim, para um condutor de seção transversal uniforme,

$$R=\rho l/A$$

onde l é o comprimento e A é a área da seção transversal do condutor, ρ a resistência específica ($\Omega \cdot m$) é chamada resistividade. O recíproco da resistência é a condutância (Ω^{-1}) e o recíproco de resistividade é a condutância específica ou condutividade k ($\Omega^{-1} \cdot m^{-1}$).

De 1869 a 1890, Friederich Kohlrausch e colaboradores publicaram uma longa série de investigações cuidadosas sobre a condutividade. As medidas foram realizadas dentro de um intervalo grande de temperaturas, pressões e concentrações.

A fim de reduzir as condutividades a uma base comum de concentração, uma função chamada condutância molar foi definida por:

$$\Lambda = k/C$$

Nesta definição, a unidade usual de concentração C é mol/cm^3 .

Alguns valores de Λ se encontram no gráfico da Fig. 2.

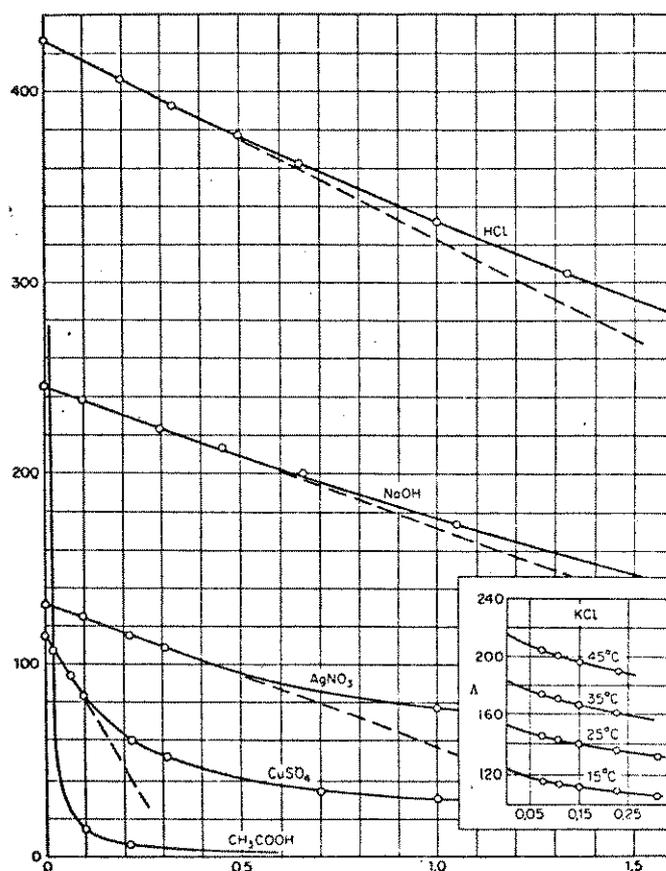


Fig. 2: Condutâncias molares de eletrólitos em solução aquosa em função das raízes quadradas das concentrações⁽³⁴⁾.

Com base nas suas condutividades, podemos distinguir duas classes de eletrólitos. Eletrólitos fortes, tais como a maioria dos sais, e ácidos como o clorídrico, o sulfúrico e o nítrico, apresentam elevadas condutâncias molares, que aumentam apenas moderadamente com o aumento da diluição. Eletrólitos fracos, como o ácido acético e outros ácidos orgânicos e amoníaco, em solução aquosa, apresentam condutâncias molares muito mais baixas em concentrações elevadas. Com o aumento da diluição, porém, estas aumentam grandemente.

Constatou-se que os dados para eletrólitos fortes são bem representados pela equação empírica:

$$\Lambda = \Lambda_0 + K_c C^{1/2},$$

onde Λ_0 é a condutância molar a diluição infinita, e K_c é uma constante experimental.

Já os eletrólitos fracos são representados pela equação de Kohlrausch da migração independente dos íons:

$$\Lambda_0 = \Lambda_0^+ + \Lambda_0^-,$$

onde Λ_0^+ e Λ_0^- são as condutâncias iônicas molares a diluição infinita.

Esta lei permite o cálculo de Λ_0 para eletrólitos fracos, como o ácido acético, a partir dos valores de seus sais, que são eletrólitos fortes. Por exemplo:

$$\Lambda_0(\text{HAc}) = \Lambda_0(\text{HCl}) + \Lambda_0(\text{NaAc}) - \Lambda_0(\text{NaCl})$$

Muito pouco se tem realizado em termos de análises condutométricas de ácido acético e, de fato, nenhuma referência específica sobre tal determinação, usando-se o método FIA, foi encontrada.

I.3. Colorimetria e Espectrofotometria(35,36)

A variação da intensidade da cor de um sistema, com a mudança de concentração de um de seus componentes, forma a base do que o químico chama, comumente, análise colorimétrica. A cor é devida à presença de um composto colorido formado pela adição de um reagente apropriado, ou pode ser inerente do constituinte de interesse propriamente dito. A intensidade da cor pode, então, ser comparada com a que se obtém tratando, da mesma forma, uma quantidade padrão de substância em estudo.

Na análise espectrofotométrica pode ser usada uma fonte de radiação que permite estender o trabalho à região do ultra-violeta do espectro. Para esta escolhem-se comprimentos de onda definidos, que possuem uma largura de faixa menor que 1 nm.

A principal vantagem dos métodos colorimétrico e espectrofotométrico é que eles fornecem meios simples para a determinação de quantidades diminutas de substâncias.

A lei que rege os métodos colorimétricos é a Lei de Beer-Lambert:

$$A = Ebc$$

onde A é a absorvância medida, E é o coeficiente molar de extinção, ou simplesmente absorvância molar, b é a espessura da cela e c a concentração da solução.

O uso da colorimetria e espectrofotometria em FIA é bem vasto. Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para ácido acético usando-se o princípio de viragem de indicadores ácido-base.

1.4. Vinagres

Segundo a legislação alemã, vinagre é o produto no qual 100,0 g contém 5,0 a 15,0 g de ácido acético anidro e que foi produzido por⁽³⁷⁾:

- a) fermentação acética de líquidos contendo álcool, também incluindo diluição com água. (vinagre fermentado)
- b) diluição de HAc com água. (vinagre de ácido acético)
- c) mistura de vinagre fermentado com HAc ou vinagre de HAc.

OBS: No Brasil, o produto é considerado vinagre, para comércio, à partir de 4,0 g de ácido acético em 100,0 g⁽⁵²⁾.

O vinagre bruto contém menos de 0,5% v/v de álcool, e dependendo da matéria prima, até 20,0 g de HAc por 100 ml. E mais ou menos turvo, pois contém bactérias de ácido acético (Acetobacter) e depósitos originados da matéria prima. Para

consumo, o vinagre bruto necessita de um tratamento posterior.

No dia a dia, o vinagre é usado, principalmente, para temperar saladas e vegetais, carnes e peixes. Além disso, a indústria alimentícia faz uso de sua conhecida capacidade de conservar alimentos por longos períodos.

Nunheimer e Fabian⁽³⁸⁾ estudaram a relação entre as constantes de dissociação de vários ácidos e a inibição de microorganismos em alimentos. Eles determinaram que o ácido acético, quando comparado com os ácidos cítrico, láctico, málico e tartárico, é o mais forte inibidor de microorganismos a pHs mais altos.

Szakall⁽³⁹⁾ descobriu que o vinagre tem um efeito inibitório específico no crescimento de microorganismos, quando comparado ao ácido acético "puro" diluído, cujo efeito é função apenas de sua concentração. A razão para este fenômeno é ainda desconhecida.

De acordo com estudos da British Food Manufacturing Industries Research Association, uma quantidade mínima de 3,6% de HAc é necessária para a boa preservação de um produto não-pasteurizado. Esse valor se refere à quantidade de substância seca que se determina após aquecimento do produto a 70 °C e P=33-66 mbar⁽⁴⁰⁾.

Os produtos mais comumente preservados com vinagre são: pickles, mostarda, catchup, molho de pimenta, molho inglês e molho para saladas.

Além do ácido acético e do álcool, o vinagre contém constituintes secundários que contribuem para seu sabor, aroma e preservação. Estes constituintes são provenientes da matéria prima, de agentes nutrientes e da água usada para diluição. Eles são também formados pela ação do Acetobacter, ou são produtos da fermentação ou interação dos compostos produzidos.

Entre eles destacam-se: ácidos voláteis, não-voláteis, SO₂, glicose, formaldeído, metanol, glicerol, acetona, piridina, proteínas, metais pesados (Hg, Cu, Ag e Cd), sulfatos, fosfatos, caramelo e sacarina.

Em 1982, foram sugeridos pela FAO/WHO (Food and Agriculture Organization /World Health Organization), os seguintes níveis máximos:

- Acidez volátil: vinagre de vinho- 6% (calculados
 outros vinagres- 5% como HAc)
- Alcool residual: vinagre de vinho- 1,0% v/v
 outros vinagres- 0,5% v/v
- SO₂: 70,0 mg/kg
- Acido ascórbico (anti-oxidante): 400 mg/kg

O SO₂ é o anti-oxidante e agente preservativo tradicional permitido por lei. Na Alemanha é permitida uma adição máxima de 50 mg/kg e na Itália 100 mg/kg. Vinagres de matérias-primas naturais oxidam rapidamente o SO₂ adicionado na forma gasosa ou como K₂S₂O₅. Uma adição imediatamente antes do engarrafamento é, portanto, essencial. A velocidade de oxidação depende da matéria-prima, especialmente dos grupos aldeídicos e cetônicos livres e do pH. Nos frascos, o

SO₂ livre ativo está, geralmente, presente em quantidades menores que 10 mg/kg.

O vinagre é analisado por duas diferentes razões:

- para controle de qualidade do processo (por métodos gerais de rotina).
- para um conhecimento mais aprofundado de seus componentes químicos (por métodos especiais de análise)

As análises mais importantes, no caso de vinagres e também de vinhos, são de acidez total, volátil e fixa.

A acidez total é a porcentagem total de ácidos presentes no vinagre, compreendendo os ácidos voláteis e não-voláteis.

A acidez volátil é a porcentagem total de ácidos voláteis presentes no vinagre.

A acidez fixa é a porcentagem total de ácidos não-voláteis presentes no vinagre. É definida como a diferença entre a acidez total e a volátil. Normalmente se situa entre 0,2 e 0,3%.

No presente trabalho, especial atenção foi dada à acidez volátil, dadas as características do método FIA, e também pela maior importância desta análise para as indústrias vinícola e de vinagre.

1.5. Vinhos

Segundo a portaria nº 410, de 27 de setembro de 1974(41), do Ministério da Agricultura, vinho é a bebida

obtida da fermentação alcoólica do mosto da uva fresca, sã e madura.

Existem cinco classes principais de vinhos:

- vinho de mesa seco ou doce
- vinho espumante natural ou champanha
- vinho espumante gaseificado
- vinho licoroso
- vinho composto

Devido ao desenvolvimento da indústria vinícola no Brasil, bem como o crescente volume de exportações brasileiras neste setor, se faz necessário um aprimoramento nas técnicas de produção, armazenamento e controle de qualidade do vinho.

Cada aspecto da produção de vinhos é controlada por testes químicos: estabelecimento da data apropriada da colheita; análises do mosto antes e depois da fermentação; controle analítico constante durante o processamento e envelhecimento para determinação do momento exato de engarrafamento(42).

É essencial, para uma colheita adequada das uvas, seguir as mudanças de pH e acidez. Isto permite ao agricultor colher no ponto ótimo. Após a fermentação e durante o envelhecimento não é menos importante seguir as mudanças de acidez fixa e volátil.

Além disso, os limites máximos permitidos pela legislação, para constituintes como o etanol, SO₂ e acidez volátil requerem resultados analíticos precisos.

Os produtores de vinho necessitam, também, saber a acidez total do mosto para decidir se é necessária uma correção de acidez. A acidez total é usada durante o processamento e no término das operações para padronização dos vinhos.

Os ácidos presentes no mosto e em vinhos são orgânicos relativamente fracos. Por isso, quando mostos e vinhos são titulados com base forte, o ponto de equivalência será maior que 7,0, usualmente entre 7,8 e 8,3. O método aceito pela American Society of Enologists e pela AOAC, consiste na titulação até pH= 8,2.

A determinação é sujeita à interferência de CO₂ dissolvido, SO₂, ácido sórbico ou compostos não-ácidos como ésteres e açúcares. O CO₂ pode ser minimizado pela adição do mosto ou do vinho à água quente, ou por deaeração a vácuo.

A acidez total pode ser expressa em vários ácidos multiplicando o valor pelos seguintes fatores:

Expresso em	Cítrico	Lático	Sulfúrico	Acético
Cítrico	1,000	1,406	0,766	0,938
Lático	0,711	1,000	0,544	0,667
Sulfúrico	1,306	1,837	1,000	1,225
Acético	1,067	1,500	0,817	1,000

Tab. 1: Fatores de conversão para expressão dos resultados de acidez total⁽⁴⁴⁾.

A acidez volátil corresponde aos ácidos orgânicos voláteis encontrados no vinho (fórmico, acético, butírico, etc.). Ela não deve englobar os ácidos lático e succínico

destiláveis nem o SO₂ e o CO₂. A determinação precisa de acidez volátil em vinhos é uma das mais importantes determinações feitas pelos produtores. Isto é devido ao fato de existirem muitas regulamentações a respeito do teor máximo permitido para o comércio nacional e para exportação.

Altos teores de ácido acético parecem ser menos problemáticos em vinhos mais velhos do que em novos. Estes limites foram estabelecidos porque vinhos com altos teores de acidez volátil indicam que organismos não desejáveis, particularmente o *Acetobacter*, estão presentes, e que provavelmente, o vinho pode virar vinagre.

I.6. Métodos de Dosagem de "Acidez Volátil" (43-45)

Existem vários métodos conhecidos para dosagem de acidez volátil. Tais métodos se baseiam em dois princípios diferentes de separação:

- 1) Por destilação direta e parcial do vinho se recolhe uma fração do ácido acético.
- 2) Por arraste com vapor d'água se recolhe a totalidade dos ácidos voláteis no destilado.

I.6.1. Métodos por Destilação Direta

- a) Método de Duclaux-Gayon (43)

Tal método consiste na destilação direta, em balão de fundo redondo, de uma alíquota de 20,0 ml de vinho, ao qual se adicionam 35,0 ml de água destilada. Recolhe-se 50,0 ml de destilado e titula-se com NaOH 0,1M.

Duclaux, ao propor tal método, chegou a seguinte conclusão: se se destila uma solução diluída de ácido acético a 1%, basta recolher 10/11 do volume desta solução e a quantidade de ácido arrastada é igual a 80% da quantidade total do ácido contido no princípio, na solução (Fig. 3 e 4).

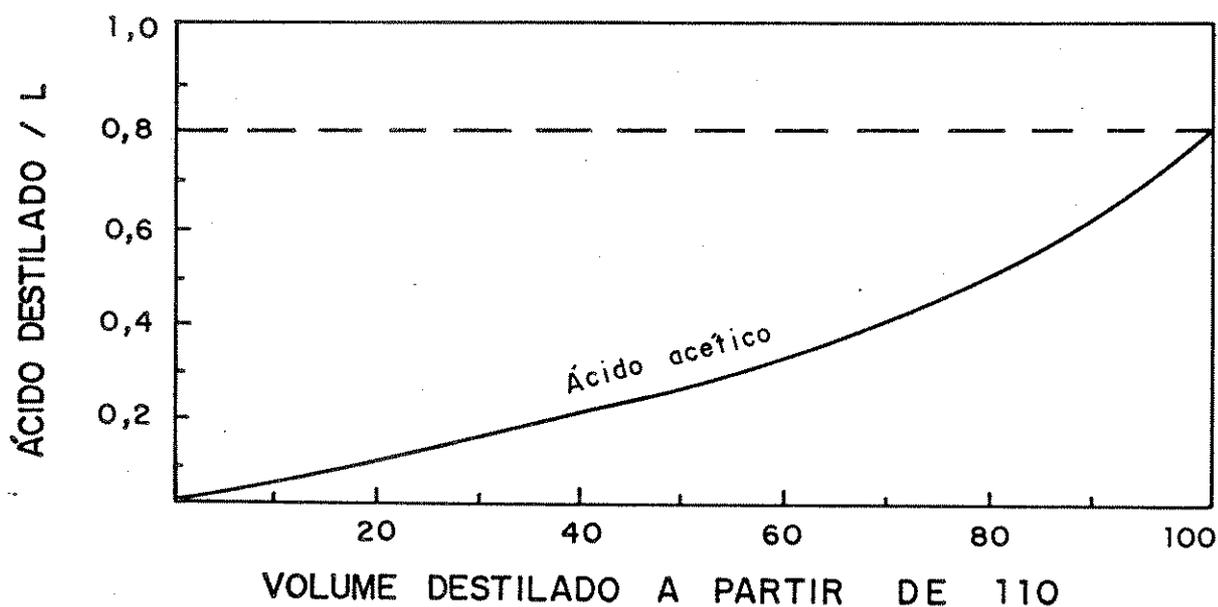


Fig. 3: Porcentagem de ácido acético destilado em função do volume total destilado⁽⁴³⁾

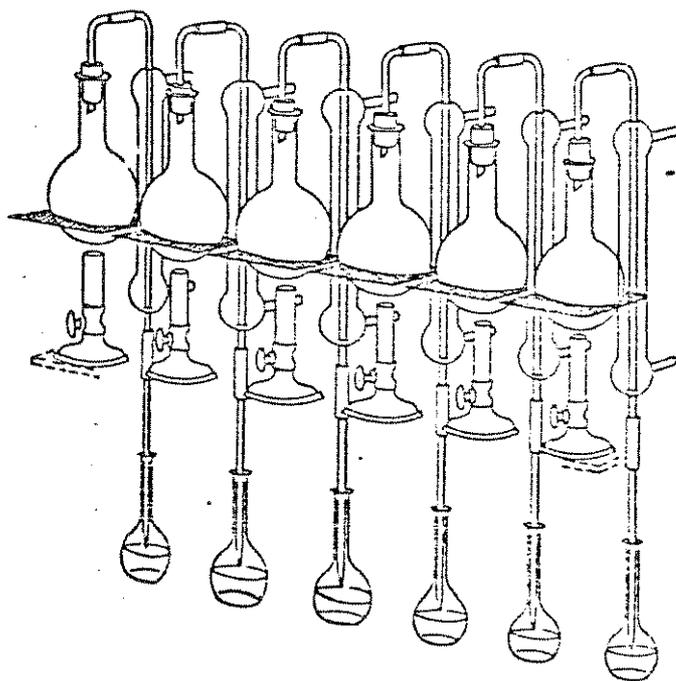


Fig. 4: Aparelhagem de Duclaux-Gayon(44)

I.6.2. Métodos por Arraste de Vapor

a) Método de Blarez

Consiste em arrastar totalmente os ácidos voláteis de 10,0 ml de vinho com uma corrente de vapor d'água. O balão que contém o vinho está unido a um condensador refrigerante e se comunica com um segundo balão, produtor de vapor, por meio de um tubo submerso no vinho.

Aquecem-se à ebulição os dois balões e se regula o aquecimento de modo que o volume do líquido permaneça constante no balão que contém o vinho. Dá-se por terminada a

operação quando se recolheu 100,0 ml. Titula-se, então, com NaOH 0,1M.

b) Método Cazenave-Ferré

Este método é uma aplicação do arraste pelo vapor d'água, em aparelho único, juntando os dois balões do método de Blarez numa única peça (Fig. 5).

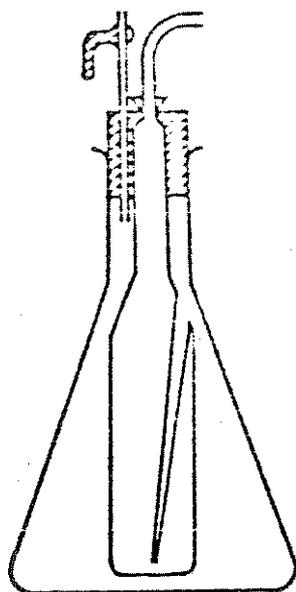


Fig. 5: Aparelhagem de Cazenave-Ferré(44)

Os dois métodos, Blarez e Cazenave-Ferré, podem ser considerados eficientes, mesmo que se recolha 5% de ácido láctico e outros.

Todavia, tais métodos necessitam de uma correção para se descontar o SO₂ destilado.

Após a titulação com NaOH 0,1M, adiciona-se uma gota de solução de HCl (aprox/e. 1M), para tornar o meio ácido, e adiciona-se 1,0 ml de amido a 1%.

Titula-se com solução de I₂ 0,005M, unicamente o SO₂ livre, até coloração azul. A seguir, adiciona-se 2,0 ml de solução saturada de bórax e alguns cristais de KI, para sensibilizar a viragem, e titula-se o SO₂ combinado com solução de I₂ 0,005M, até coloração azul.

Seja n₁ o nº de ml da titulação com NaOH 0,1M

Seja n₂ o nº de ml da 1ª titulação com I₂ 0,005M

Seja n₃ o nº de ml da 2ª titulação com I₂ 0,005M

O valor da acidez volátil corrigida, para uma alíquota de 10,0 ml de amostra, será:

$$\langle n_1 - (n_2/10 - n_3/20) \rangle \cdot 10 \quad (\text{mEq/l})$$

c) Método de Jaulmes

Este método difere dos dois anteriores apenas pela existência de uma coluna retificadora de aço inoxidável, para retenção dos ácidos láctico e succínico. (Fig. 6)

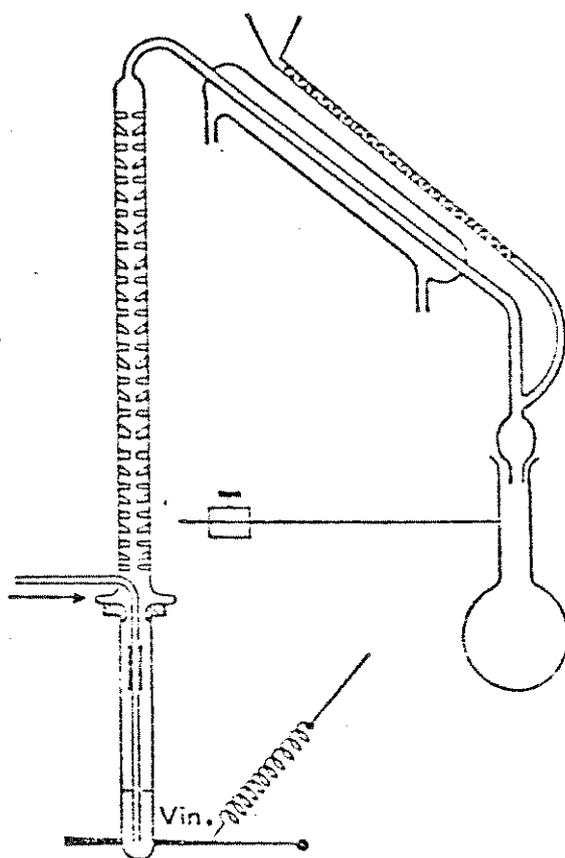


Fig. 6: Aparelhagem simplificada de Jaulmes (44)

O método de Jaulmes, além da aparelhagem simplificada descrita na figura acima, possui, também, um modelo mais complexo de destilação com caldeira a vapor (Fig. 7), que permite a destilação de 250,0 ml de destilado em aproximadamente 4 minutos.

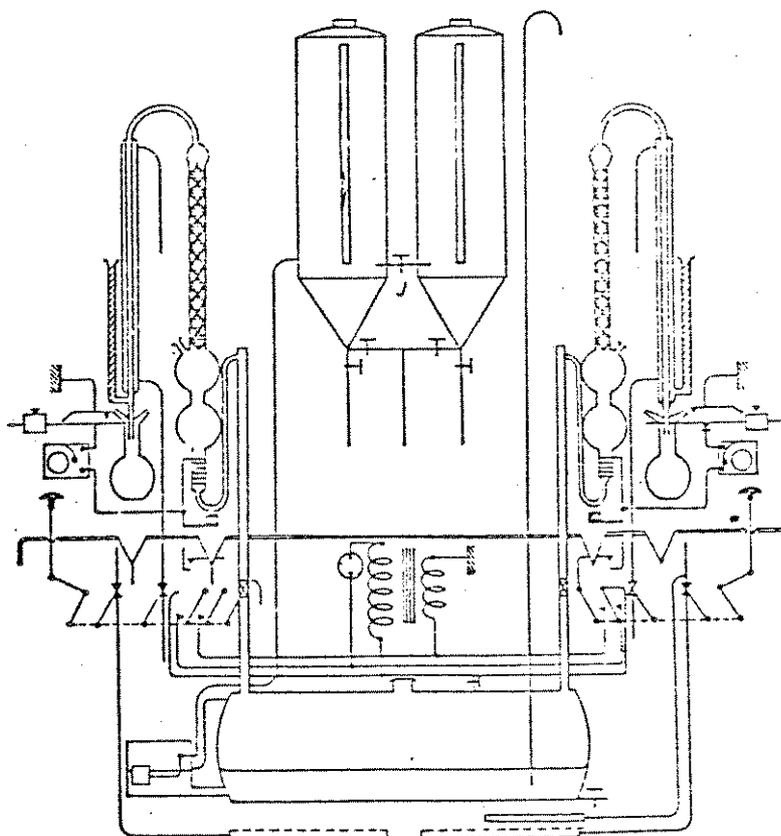


Fig. 7: Aparelhagem de Jaulmes com caldeira a vapor(44)

d) Métodos Oficiais da AOAC

Para o caso do vinagre, determina-se, inicialmente, a acidez total pela titulação de uma alíquota da amostra com NaOH 0,1M.

Na determinação da acidez fixa, a amostra é aquecida e volatilizada, sucessivas vezes, até peso constante, e então titulada com NaOH 0,1M.

O valor da acidez volátil é, então, a diferença entre os valores da acidez total e fixa.

Para o caso do vinho são consideradas duas aparelhagens distintas, que também utilizam o princípio de arraste de vapor.

As figuras 8 e 9 esquematizam as aparelhagens usadas nos dois métodos:

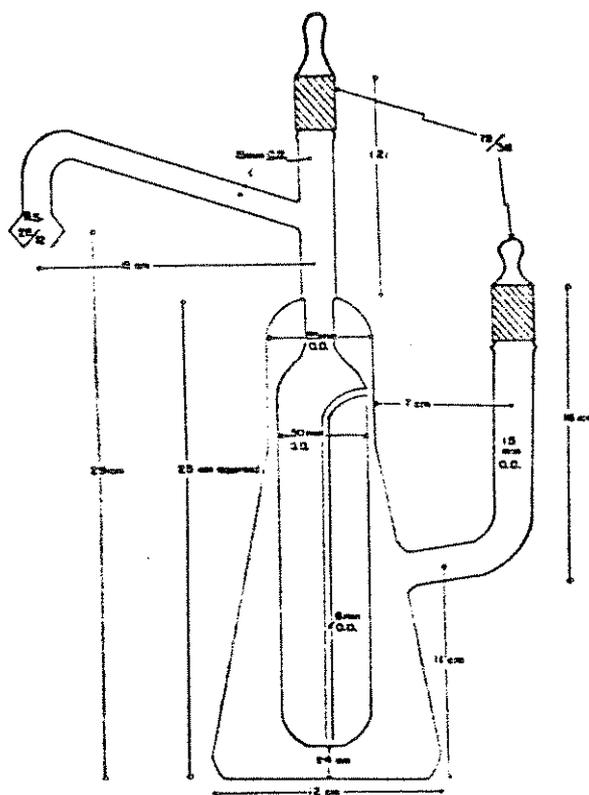


Fig. 8: Aparelhagem para destilação a vapor (AOAC)(45)

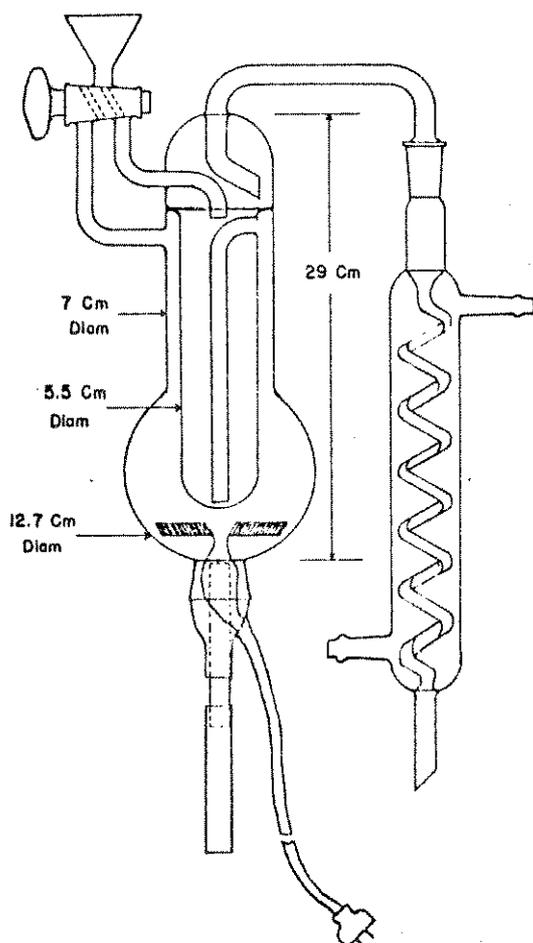


Fig. 9: Aparelhagem "Cash Still" de destilação (AOAC) (45)

II - PARTE EXPERIMENTAL

II - Instrumentação

Tanto na determinação colorimétrica, como na condutométrica, usou-se como unidade propulsora uma bomba peristáltica ISMATEC, modelo GJ 04 mp13, e tubos de "Tygon", de diâmetro de 0,76 mm.

O injetor usado para injeção da amostra, foi por nós construído em teflon grafitado (vide Fig. 10). Duas peças fixas, de 1,0 cm de espessura, parafusadas sobre uma placa

de alumínio de 1,0 x 6,0 x 10,5 cm, formam o apoio do injetor. Dois furos, na parte inferior, permitem a introdução de dois pinos metálicos, que orientam a posição das peças de apoio. Estes pinos servem, também, como delimitadores do curso do comutador.

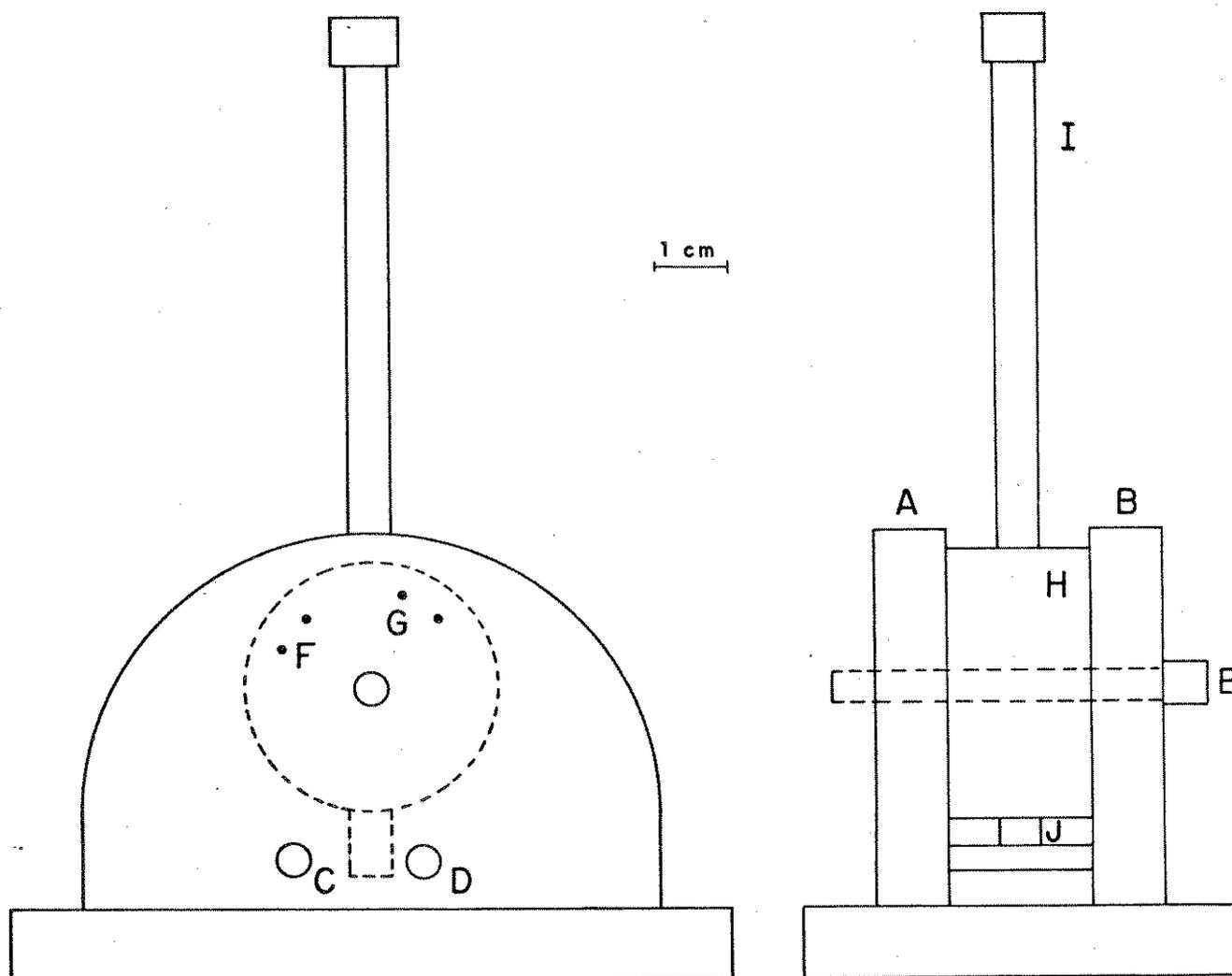


Fig. 10: Injetor de teflon grafitado. A e B, apoio do injetor. C e D, pinos delimitadores. E, eixo de rotação. F e G, furos para conexão dos tubos. H, comutador. I, haste metálica superior. J, haste metálica inferior.

Mais acima há um furo onde é introduzido um parafuso que, além de funcionar como eixo de rotação, serve, também, para ajustar e fixar o comutador às peças de apoio. Bem ao alto estão os furos para as conexões e a passagem do fluxo.

O comutador é a parte móvel do injetor. Consiste de um cilindro de 2,0 cm de espessura por 4,0 cm de diâmetro, com um furo central onde passa o eixo de rotação. Furos menores, adequadamente posicionados, servem para conexão do tubo amostrador (loop).

Para a movimentação do comutador, há uma haste metálica de 6,0 cm de comprimento, parafusada no mesmo, e uma haste inferior, que delimita o percurso do comutador dentro do intervalo permitido pelos dois pinos citados acima.

No método condutométrico, foi utilizado, como detector, um condutivímetro Micronal, modelo B-331, equipado com a cela de fluxo utilizada na referência (18), gentilmente cedida pelos autores.

A cela consiste, basicamente, de uma peça externa de aço inoxidável, que é um dos eletrodos. O outro eletrodo é um tubo, também de aço inoxidável, com 1,5 mm de diâmetro externo, o qual é colocado no orifício de 2,2 mm de diâmetro da primeira peça. O volume estimado no interior da cela é de 60 μ l. A cela é coberta com resina epoxi, para isolá-la do banho de água, onde é imersa. (Fig. 11)

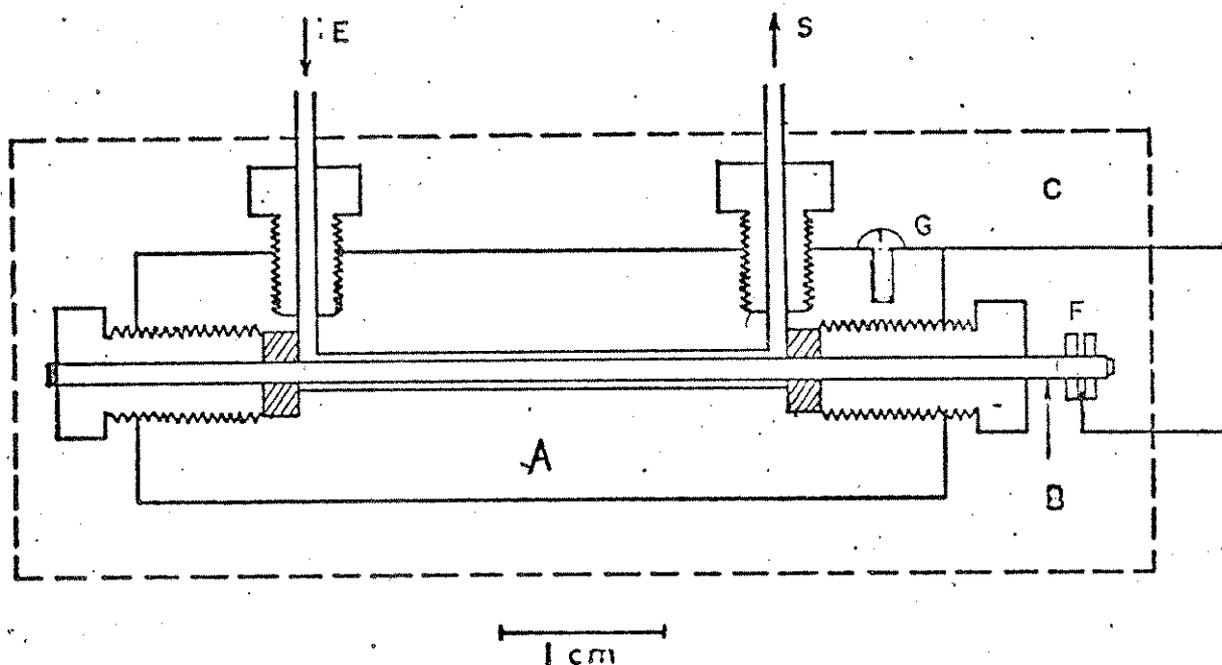


Fig. 11: Cela de fluxo para medida de condutividade. A, corpo e um dos eletrodos de aço inoxidável. B, tubo de aço inoxidável (outro eletrodo). C, isolamento com resina epóxi. E, entrada do fluido. S, saída do fluido. F e G, contatos dos eletrodos.

No método colorimétrico, foi utilizado, como detector, um espectrofotômetro Zeiss, modelo PM2D, equipado com cela de fluxo de vidro, de caminho óptico de 1,0 cm, e volume de aproximadamente 50 μ l.

Em ambos os métodos, a amostra passa por uma cela de difusão, feita de duas peças de acrílico. Cada uma tem uma ranhura de 0,1 mm de profundidade, 3,0 mm de largura e 5,0 cm de comprimento. (Fig. 12)

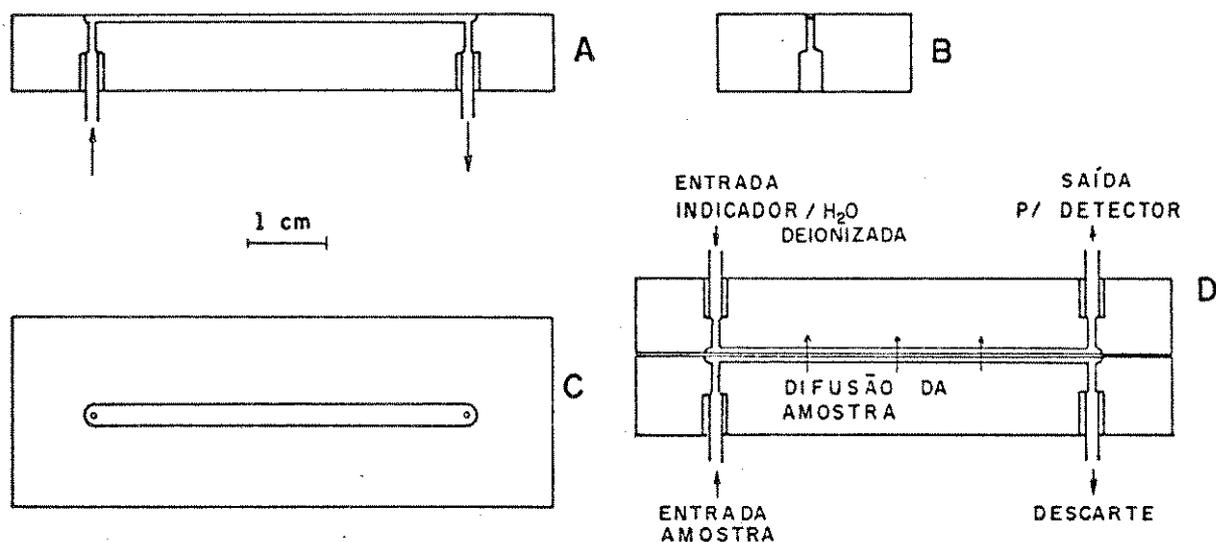


Fig. 12: Cella de difusão. A e B, corte longitudinal e lateral de uma das partes. C, vista superior. D, sistema completo.

Para registro dos sinais, foram utilizados, em momentos diferentes, 3 registradores: um ECB, modelo RE101, um Metrohn, modelo 478 e um Cole Parmer série 8375.

O fundo de escala, descrito nos diagramas, reflete, apenas, um parâmetro de sensibilidade do registrador, já que as medidas das alturas dos picos não foram relacionadas ao fundo de escala. Em alguns casos, usou-se, inclusive, um potenciômetro, como divisor de tensão, entre o registrador e o detector, para ajustar a escala de acordo com as necessidades.

II.2. Reagentes e Padrões

- Soluções de Acido Acético: todos os padrões foram

feitos a partir da diluição de ácido acético glacial com água deionizada deaerada.

No caso do vinagre, os padrões de 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6% em ácido acético, foram feitos a partir da diluição direta de ácido acético glacial, com uma bureta de 5,00 ml, em balão volumétrico de 100,0 ml. Posteriormente, titulou-se com solução padronizada de NaOH 0,02374M.

No caso do vinho, inicialmente preparou-se uma solução padrão de 1,0% em ácido acético. A partir desta, foram feitas diluições diretas, com bureta de 10,00 ml, para o preparo dos padrões 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,10% em ácido acético, em balão volumétrico de 100,0 ml.

- Solução de Púrpura de Bromocresol (BCP) $1,0 \times 10^{-4}M$:
pesou-se 0,27 g de indicador e dissolveu-se em 20,0ml de etanol. Completou-se o volume a 500,0 ml, em balão volumétrico, com água deionizada deaerada. A partir desta solução estoque ($1,0 \times 10^{-3}M$), diluiu-se dez vezes e preparou-se a solução de trabalho. O pH foi, então, ajustado em 7,0 com solução de NaOH diluído.

Para evitar a absorção do CO_2 do ar, esta solução foi arrolhada e vedada, sendo que, para sucção e respiro da mesma, foi adaptado, em sua rolha, um tubo de polietileno e um tubo contendo NaOH/ $CaCl_2$, como mostra a figura 13.

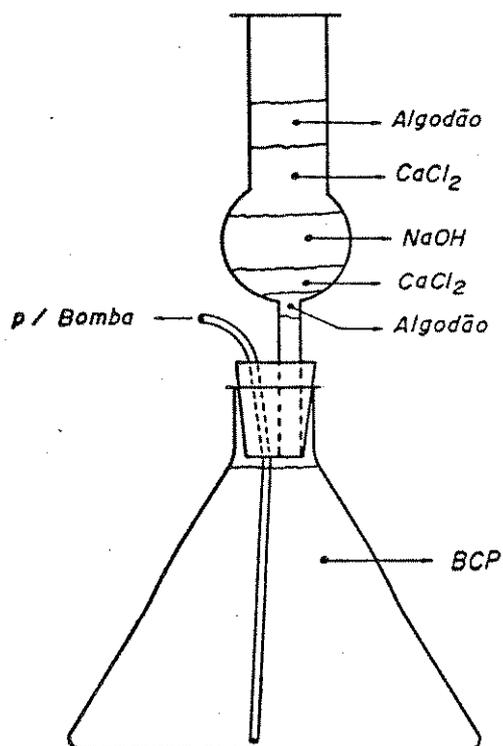


Fig. 13: Recipiente para armazenamento da solução de indicador

II.3. Amostras

- As amostras de vinagre, de teor aproximado de 4,5% em ácido acético, foram diluídas 10 vezes com água deionizada deaerada, para a obtenção de soluções que caíssem dentro da faixa de trabalho.

Num balão volumétrico de 50,0 ml, foram pipetados 5,00 ml de vinagre. Adicionou-se algumas gotas de água oxigenada 40 volumes e completou-se o volume com água deionizada deaerada.

- As amostras de vinho, já se encontravam na faixa de trabalho, por isso se fez a injeção direta. Todavia, se

mostrou necessária uma deaeração a vácuo (trompa d'água), para eliminar o CO₂ e, também, a posterior adição de algumas gotas de água oxigenada 0,5 volumes. Tal tratamento foi feito em alíquotas de 20,0 ml de amostra.

Não se deve usar água oxigenada mais concentrada, neste caso pois, aparentemente, o etanol é oxidado a ácido acético, provocando resultados altos.

II.4. Sistemas de Fluxo

II.4.1. Conducométrico (vinagres) (Fig. 14)

A amostra (S) é injetada, através de um comutador (V), numa linha de fluxo de água deionizada (A₁), passando por um separador de membrana de teflon (M), (do tipo veda-rosca usado comercialmente), após confluência com uma linha de fluxo de ácido sulfúrico 0,05M (F). Esta confluência apresentou, experimentalmente, resultados mais reprodutivos.

O ácido acético difunde pela membrana para outra linha de fluxo de água deionizada (A₂), que leva à cela de condutividade (C).

A água deionizada da linha (A₂) passa, inicialmente, por uma coluna de resina catiônica e aniônica (T), para garantir uma água livre de ions.

Tanto a cela de condutividade, como a coluna de resina e a cela de difusão estão imersas em um banho de água.

corrente (B), cuja temperatura foi monitorada durante os experimentos.

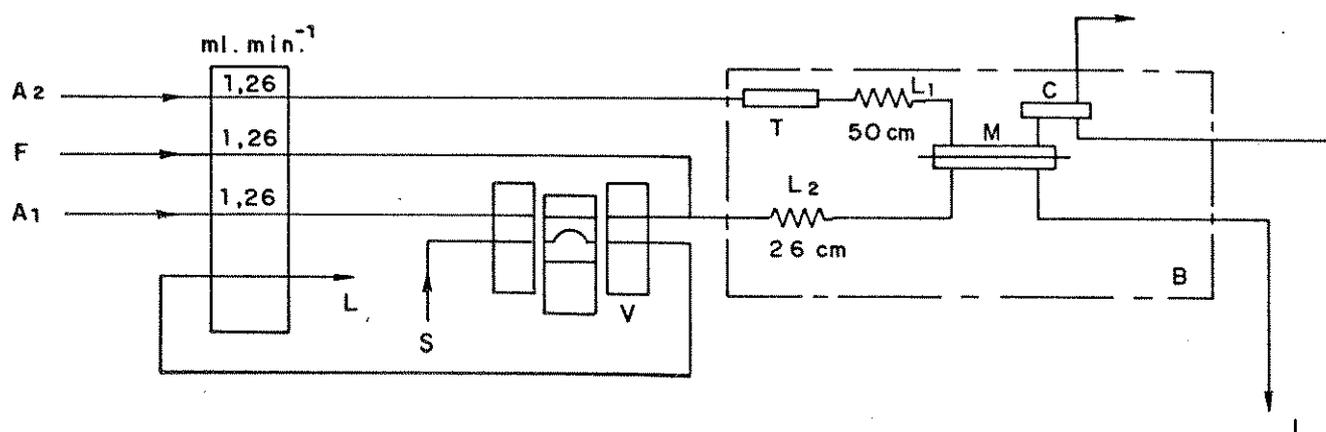


Fig. 14: Sistema de fluxo. (descrição página anterior)

II.4.2. Condotométrico (Vinhos)

Basicamente, o mesmo sistema de fluxo foi utilizado para a análise dos vinhos, com excessão da linha de ácido sulfúrico 0,05M, pois os padrões eram muito diluídos, e uma confluência (com conseqüente diluição), fazia com que o sinal ficasse muito pequeno, diminuindo, portanto, a sensibilidade e a precisão do método (Fig. 15).

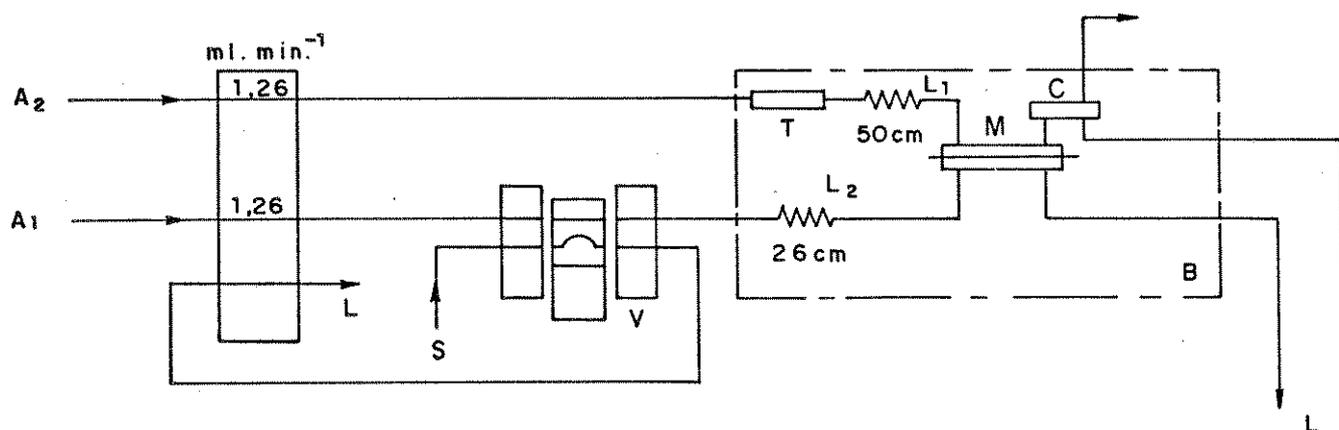


Fig. 15: Sistema de fluxo. (descrição página 34)

II.4.3. Colorimétrico (vinagres e vinhos)

A amostra (S) é injetada, através de um comutador (V), também, em uma linha de fluxo de água deionizada deaerada, que passa pelo mesmo separador de membrana (M). O ácido acético se difunde pela membrana, para uma linha de fluxo de púrpura de bromocresol (I) em pH=7,0, dirigindo-se à uma cela de fluxo num espectrofotômetro ajustado em 540 nm (Fig. 16).

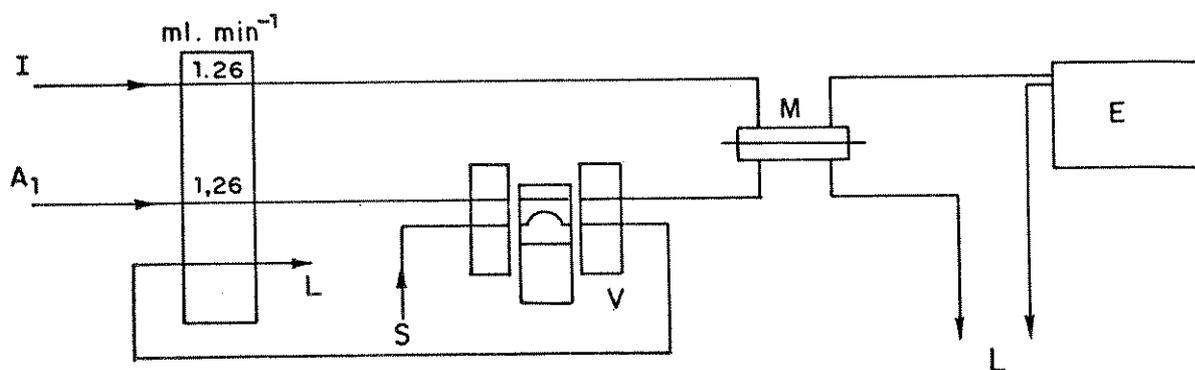


Fig. 16: Sistema de fluxo. (descrição página anterior)

Obs: Nos dois métodos, se fez necessária a passagem de ar pelo loop a cada troca de solução de padrão (ou de amostra). Esta necessidade se impôs pela interferência observada, dos padrões (ou amostras) mais concentrados sobre os mais diluídos (vide tópico III.2.).

II.5. Métodos Comparativos

As amostras de vinho e vinagre foram analisadas, paralelamente, pelo método Jaulmes, descrito anteriormente, numa aparelhagem com caldeira a vapor, pertencente ao Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL.

No caso do vinho foram tomados 20,0 ml de amostra, enquanto que, para o vinagre, foram tomados 20,0 ml de solução diluída 100 vezes.

Os vinagres foram, também, titulados diretamente com solução de NaOH 0,2374M padronizada, para determinação da acidez total.

III - Resultados e Discussão

III.1. Do sistema FIA

Inicialmente, caberia discutir-se parâmetros próprios do sistema FIA, tais como volume injetado, velocidade de amostragem, comprimento da bobina, etc.

Todavia, apesar de terem sido feitos estudos da variação do volume injetado e da velocidade de amostragem, problemas de retenção de ácido acético no loop se mostraram mais importantes e tornaram o estudo mais complexo.

Não se pôde, simplesmente, estudar uma variação de volume injetado, uma vez que, o tamanho, o diâmetro e o material do loop afetavam o sinal analítico (vide tópico III.2.).

Além disso, a cela de difusão e a temperatura (no caso condutométrico) influíam no resultado final.

No caso da cela de difusão, também havia problemas de retenção, o que foi minimizado pelo uso de uma de dimensões menores, o que diminuía a superfície de contato da solução

com a membrana, diminuindo, conseqüentemente, a porcentagem retida.

A variação da condutividade com a temperatura também contribui para a imprecisão dos resultados⁽¹⁸⁾. Para contornar este problema, foi utilizado um banho de água corrente, onde foram imersas as celas de condutividade e de difusão, a coluna de resina e as bobinas L₁ e L₂, para que as soluções entrassem em equilíbrio térmico antes de passarem pela cela de difusão.

Ao longo do dia, não se observaram mudanças significativas na temperatura da água, isto é, tais mudanças sempre foram menores que 1°C.

O problema acarretado pela retenção de ácido no loop resultava no aumento do sinal das soluções padrão mais diluídas, quando injetadas após uma mais concentrada. Isto também afetava, obviamente, as amostras.

O teste para verificar a presença de ácido no loop foi feito passando-se, inicialmente, solução ácida, em seguida água para limpeza e depois solução de indicador, sem passagem de ar entre elas. Observou-se que, mesmo após a limpeza com água, havia viragem do indicador dentro do tubo.

Um estudo mais aprofundado da variação da velocidade de amostragem foi, então, feito, obtendo-se curvas em quatro velocidades diferentes. Observou-se o fenômeno de retenção em cada uma delas (Tab. 2 e Fig. 17).

Ajuste da bomba em	Vazão (ml.min ⁻¹)	Tempo de análise (seg.)
6	0,96	100
7	1,11	80
8	1,26	60
9	1,41	55

Tabela 2

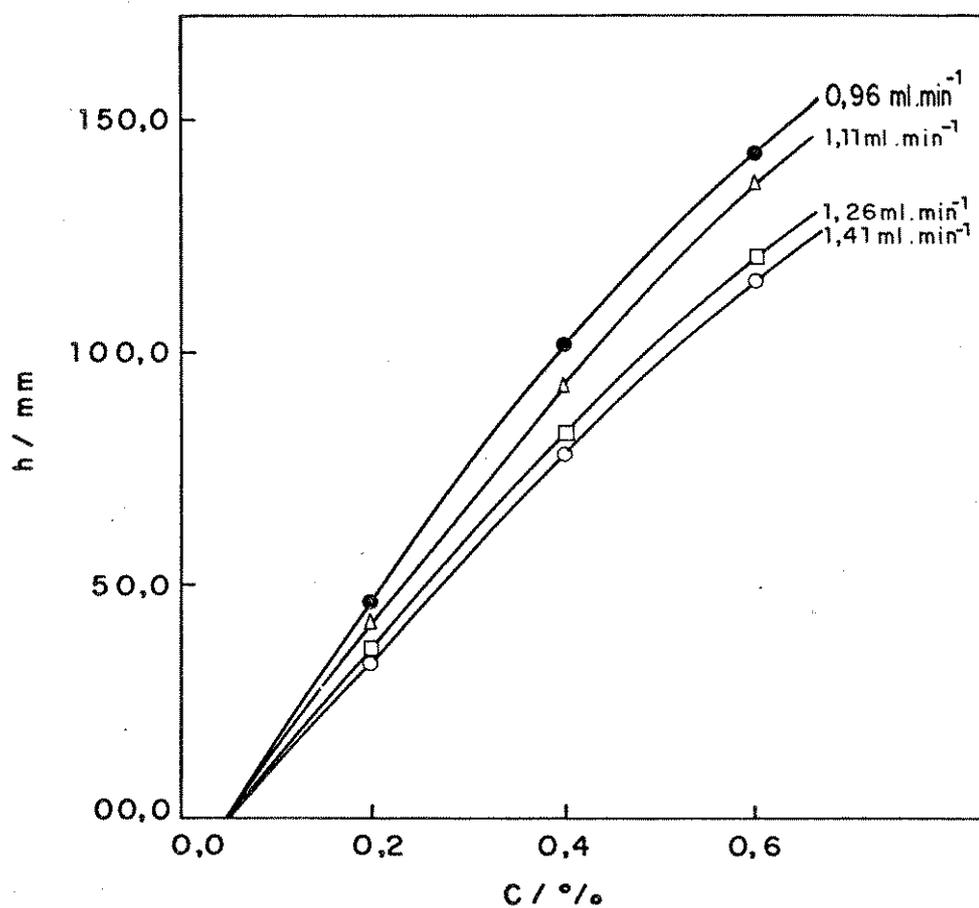


Fig. 17:a) Estudo da variação da velocidade de amostragem

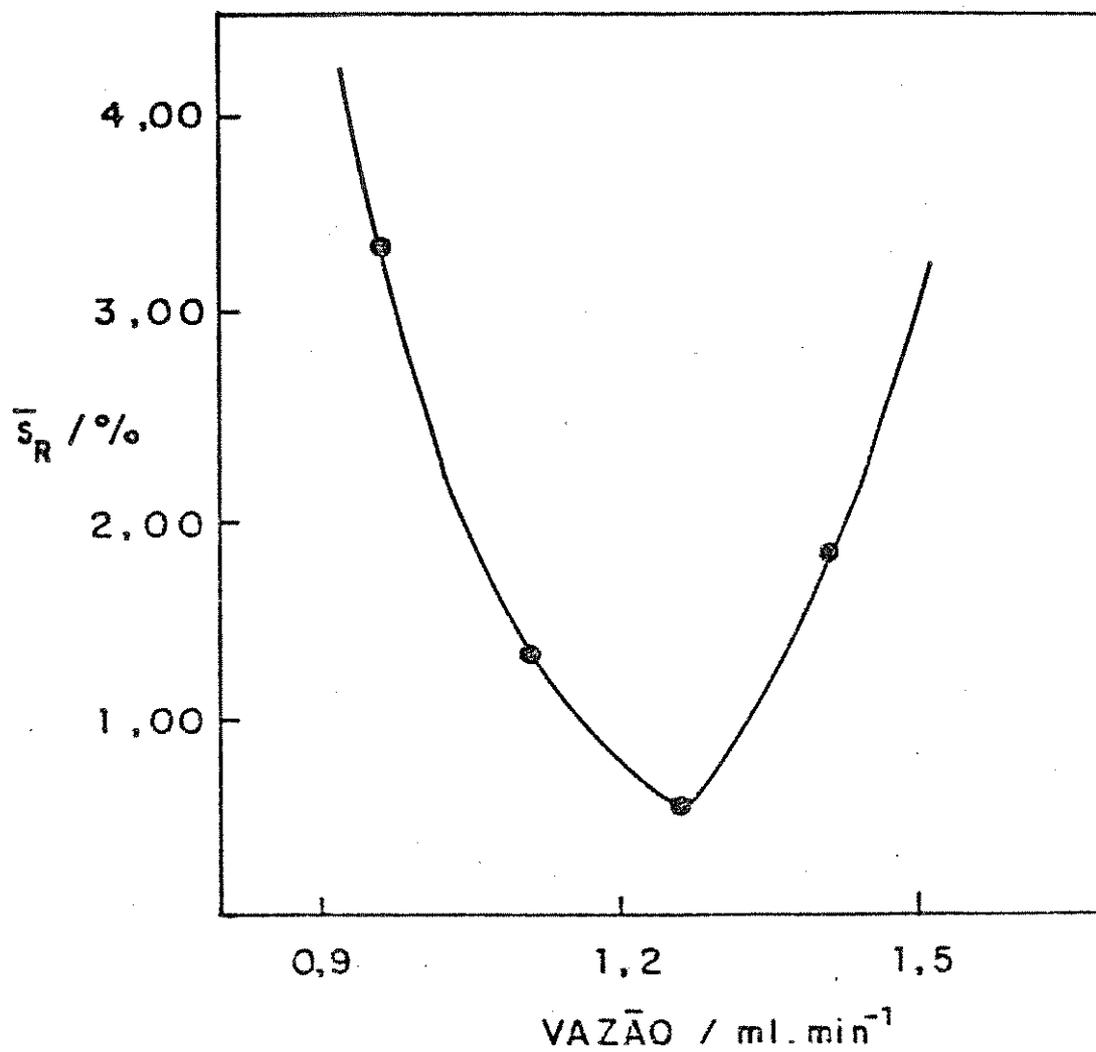


Fig. 17:b) Estudo da média das estimativas do desvio-padrão relativo em cada velocidade

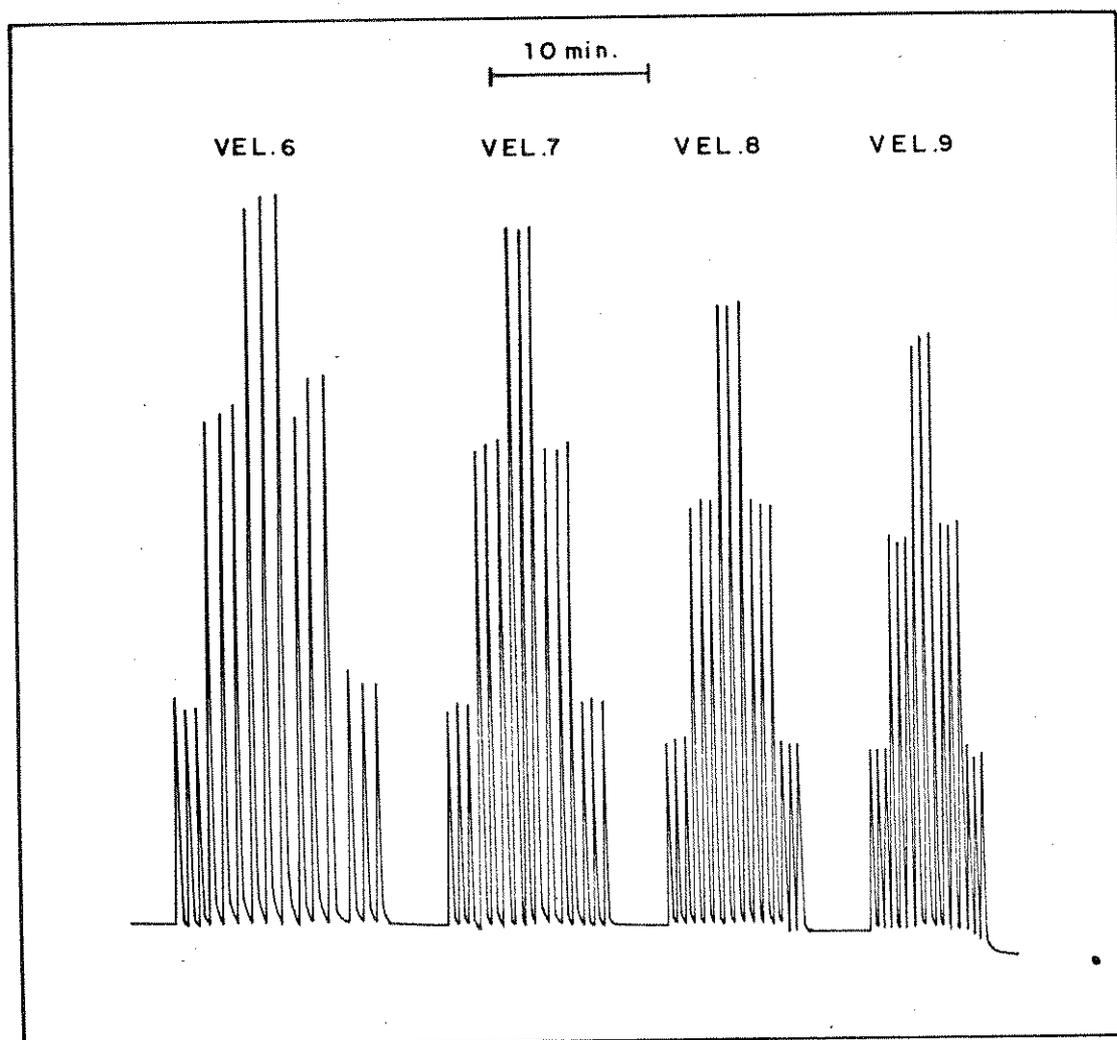


Fig. 17:c) Diagramas referentes às curvas em cada velocidade

Vemos que para uma vazão de $1,26 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (vel. 8), obtém-se o menor desvio padrão. Esta foi a vazão adotada para as curvas-padrão e para as análises.

A concentração de BCP ($1,0 \times 10^{-4} \text{M}$) foi estabelecida devido ao fato de apresentar curvas com melhor correlação linear, conforme pode ser visto na Fig. 18.

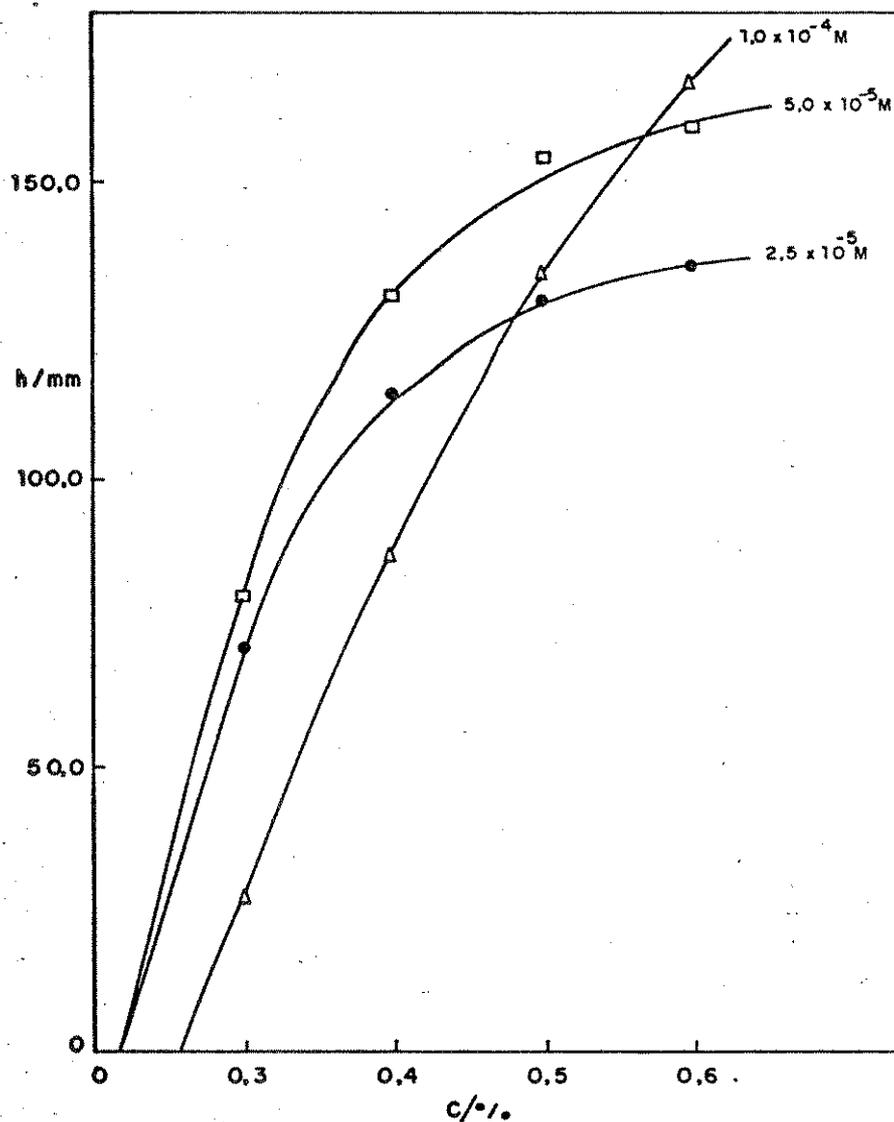


Fig. 18: a) Estudo da concentração de BCP

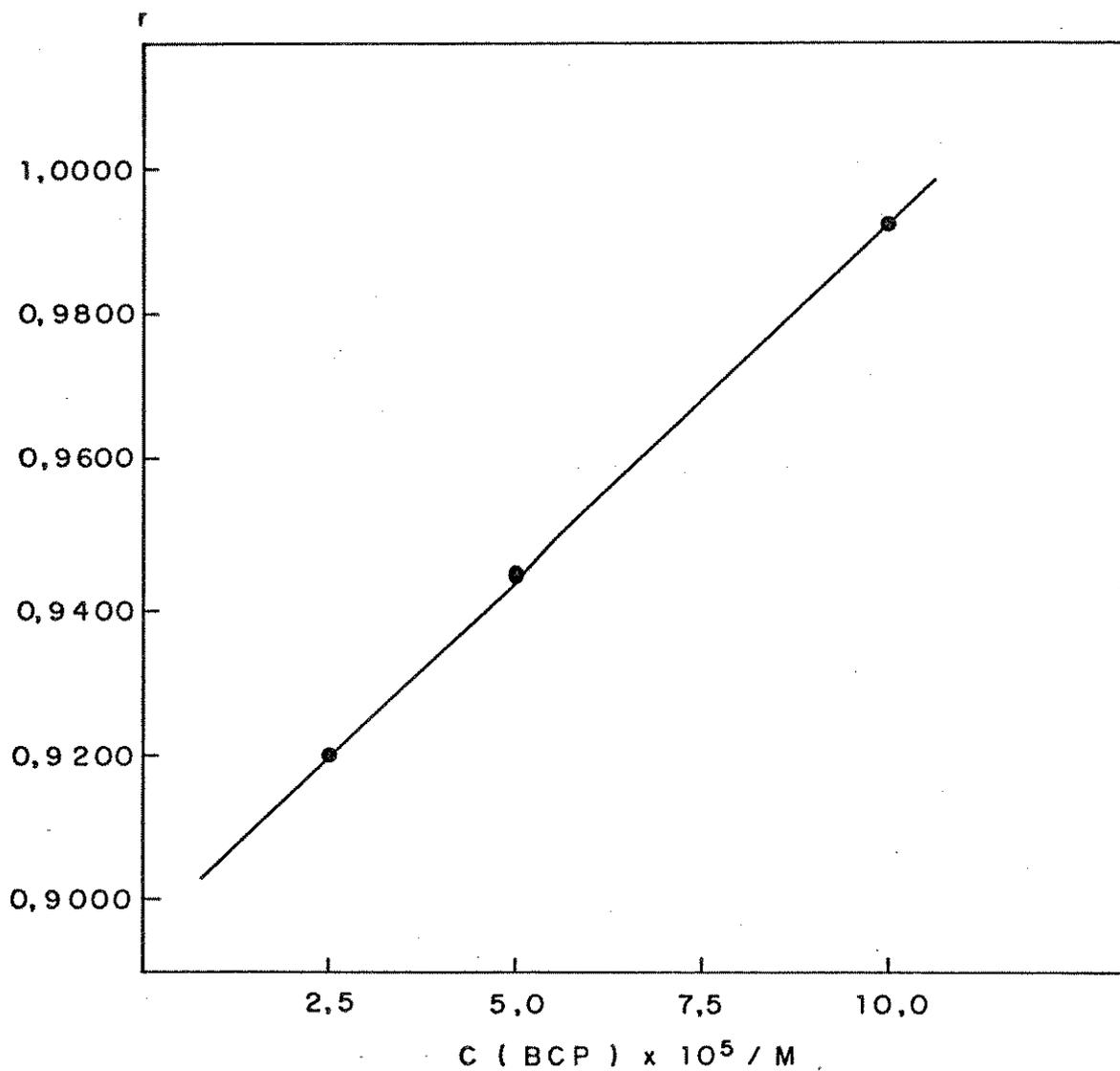


Fig. 18:b) Estudo da correlação em cada concentração

III.2. Dos Loops

Devido ao problema de retenção, mencionado anteriormente, foram estudados alguns loops de diferentes materiais e diâmetros. Os resultados são dados na Tabela 3:

loop método	Poliet. DI=0,8mm 120 μ l	Poliet. DI=1,6mm 240 μ l	Tygon DI=1,14mm 46 μ l	Teflon DI=0,9mm 62 μ l	Teflon DI=1,3mm 100 μ l
Condut.	SIM	N TESTADO	NAO	SIM	NAO
Colorim.	NAO	SIM	SIM	NAO	NAO

Tabela 3

SIM: Resultados satisfatórios NAO: Problemas de retenção

O problema de retenção no loop, que ocasionava valores mais altos para os padrões na curva descendente, pode ser proveniente da formação de uma camada estagnada de ácido acético, que se forma nas paredes do loop, e que se difunde para a solução seguinte, mais diluída.

Sendo assim, loops de diâmetros maiores deveriam mostrar uma diminuição neste efeito, já que os volumes de amostra injetados com estes loops seriam maiores, proporcionalmente, se comparados com os volumes da camada estagnada.

Isto se observou no método colorimétrico com o polietileno.

Já para o caso do teflon, observa-se que um loop de diâmetro menor é mais adequado. Isto se deve ao fato de que o ácido acético parece não ter uma interação tão intensa com o teflon, como com o polietileno, sendo mais facilmente difundido para a solução de limpeza.

O resultado é, então, coerente com os princípios da FIA para a limpeza das linhas de fluxo. Quanto menor o diâmetro do tubo, mais rápida se dá a difusão das espécies presentes, da parede ao centro do fluxo. Quanto maior o diâmetro do tubo, mais difícil a limpeza.

Um estudo mais aprofundado dos materiais, tamanhos e diâmetros do loop seria, por si só, um trabalho longo, a nível de tese. Sendo assim, se determinou, experimentalmente, alguns loops que apresentaram curvas adequadas. Estes foram, então, utilizados nas análises.

Um detalhe importantíssimo a ser levado em consideração, é a passagem de ar pelo loop a cada troca de solução. Observou-se que o ar, ao passar pelo loop, "quebra" a camada estagnada presente em suas paredes, minimizando o efeito de retenção.

O curioso do fenômeno é que o ácido acético presente nas paredes do loop se difundia para as soluções mais diluídas, gerando um acréscimo de sinal, o que não se notava quando a camada se difundia para a água de limpeza. Pode-se tentar explicar que a quantidade difundida para a água estava abaixo do limite detectável, não gerando sinal. Todavia, quando se difundia para uma solução de ácido acético de concentração mensurável, esta diferença se tornava perceptível.

Pode-se apontar como causa desta detecção, o fato do sistema, talvez, necessitar um "mínimo" de concentração para que haja difusão através da membrana e/ou mesmo detecção.

Foi tentada uma curva-padrão com carregador de ácido acético 0,005%, mas o mesmo problema se observou.

III.3. Da Linearidade dos métodos

No método condutométrico, nota-se que não há linearidade nas duas faixas de trabalho utilizadas. Isto deve ser devido ao ácido acético ser um ácido fraco (vide Fig. 2).

Os resultados foram, então, plotados em gráficos para melhor determinação das amostras.

No método colorimétrico, pelo fato de tratar-se de uma reação ácido-base colorimétrica, normalmente, a curva-padrão deve seguir o formato de uma curva da Lei de Beer.

Testes feitos na faixa de trabalho mais diluída, realmente confirmam que a faixa linear encontrada vai até 0,12% em ácido acético, aproximadamente.

O gráfico abaixo mostra o estudo da linearidade do método colorimétrico.

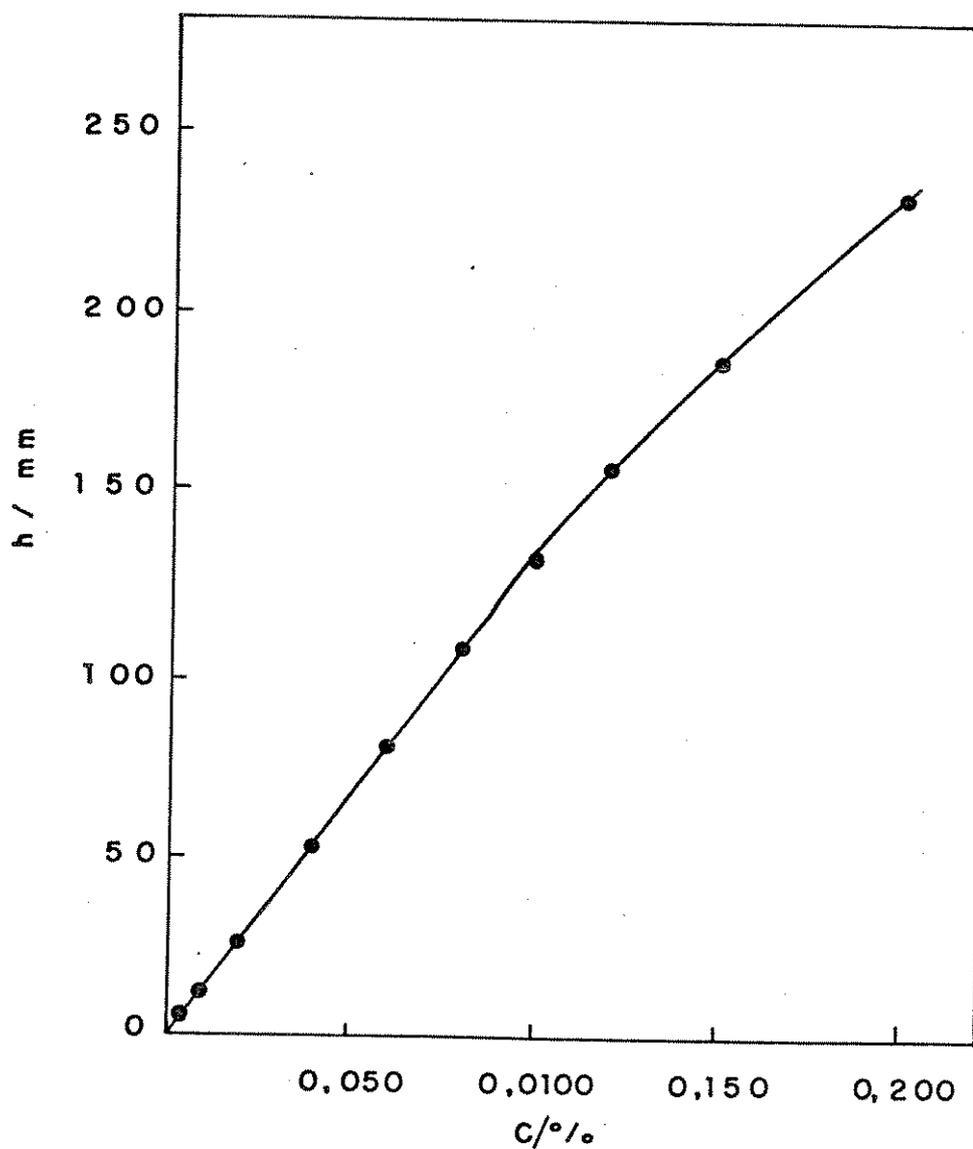


Fig. 19: Estudo da linearidade do método colorimétrico

III.4. Do Tratamento das Amostras

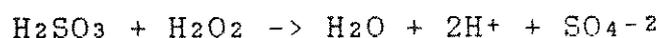
Como descrito anteriormente (tópico II.3.), o tratamento das amostras é simples.

No caso dos vinagres, uma diluição em balão se faz necessária porque as curvas realizadas com injeção direta

apresentam erros muito altos nos resultados das amostras. A diluição de dez vezes proporciona, também, uma diluição dos interferentes, e um menor tempo de análise, já que a limpeza da linha é mais rápida.

Uma diluição em linha foi tentada, além de uma confluência com solução diluída de NaOH, para que houvesse uma neutralização parcial da amostra, mas nenhuma das tentativas apresentou resultados satisfatórios.

Algumas gotas de água oxigenada 40 volumes são suficientes para a oxidação do anidrido sulfuroso a sulfato, eliminando a interferência do mesmo, como pode ser visto pela equação abaixo:



O CO₂, no caso do vinagre, não interfere, pois não está presente, devido ao baixo pH da amostra.

No caso do vinho, uma prévia deaeração em trompa de vácuo é necessária, visto que o pH do vinho não é tão baixo, e, experimentalmente, confirmou-se uma grande interferência do CO₂, que deve, então, ser eliminado.

Algumas gotas de água oxigenada 0,5 volumes são necessárias para a oxidação do anidrido sulfuroso. O uso de menor concentração de água oxigenada é necessário pelo fato de se ter observado, experimentalmente, que esta pode oxidar o etanol a ácido acético. Concentrações muito elevadas de água oxigenada devem aumentar a velocidade de oxidação do etanol.

A análise no vinho é muito mais delicada que no vinagre. Por exemplo, as razões entre os valores de acidez volátil e anidrido sulfuroso, em g/l, calculadas a partir dos limites máximos permitidos pela legislação, mostram uma influência muito maior do SO₂ no caso do vinho.

$$R(\text{vinagre}) = 60/0,070 = 857 \quad R(\text{vinhos}) = 1,20/0,035 = 3,43$$

A escolha do indicador, na determinação colorimétrica, também foi de suma importância no resultado das análises. Inicialmente, usou-se o indicador azul de bromotimol em pH=8,0. Os resultados eram sempre maiores que os esperados. Isto pode ser explicado, talvez, pela hidrólise básica dos ésteres⁽⁴⁷⁾ presentes, à ácido acético. Estudos cromatográficos mostram que a porcentagem de ésteres voláteis no vinagre gira em torno de 0,3 a 0,9%⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾.

Sendo assim, passou-se a usar o Púrpurá de Bromocresol (BCP) em pH=7,0, diminuindo-se a possibilidade de hidrólise básica. A faixa de viragem deste indicador é de 5,2 a 6,8.

O espectro de absorção do BCP é mostrado na Fig. 20. Observa-se máxima absorção a 580 nm. As determinações foram feitas a comprimentos de onda mais baixos e próximos do máximo, de acordo com a sensibilidade requerida.

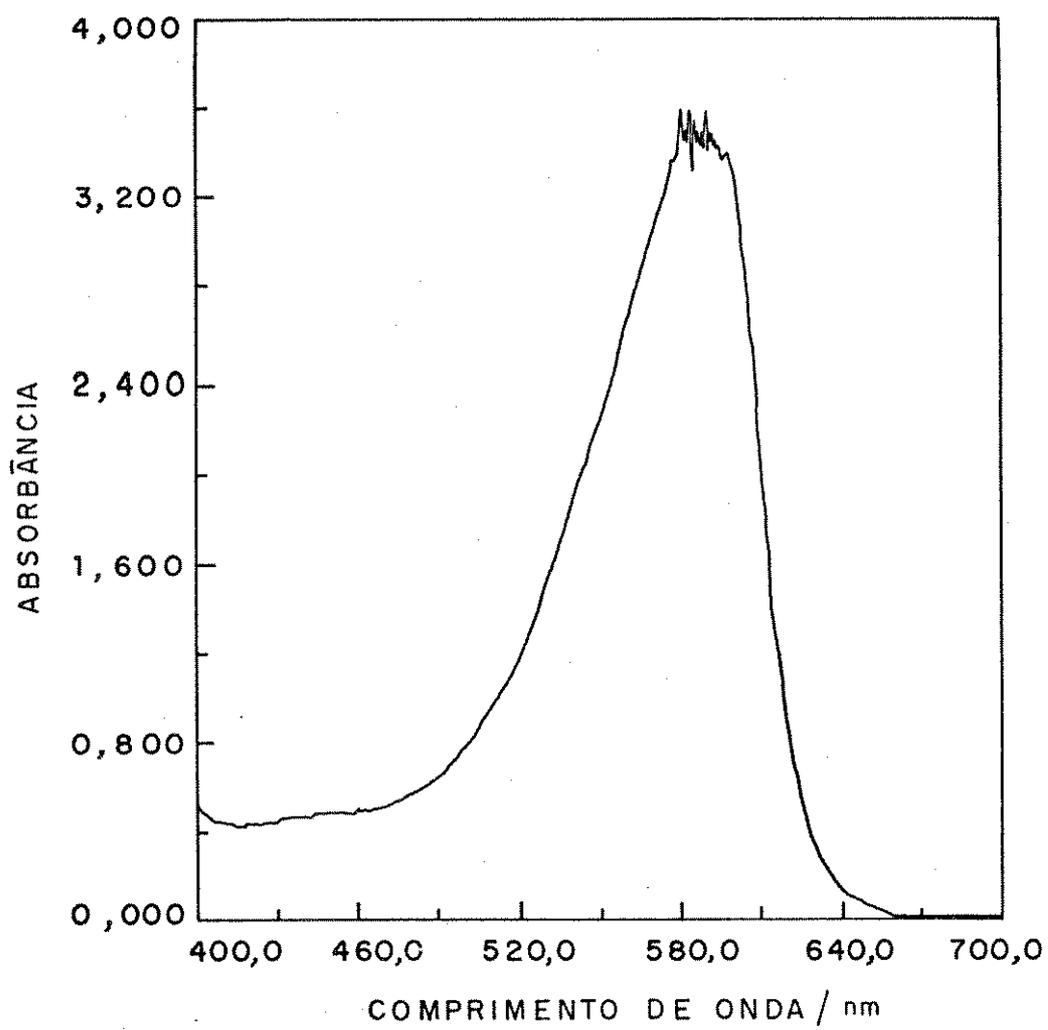


Fig. 20: Espectro de absorção do BCP

III.5. Das Curvas-padrão

III.5.1. Conduutométrico (vinagres)

Algumas curvas-padrão não apresentaram linearidade, sendo assim, os resultados foram obtidos por interpolação gráfica. Notou-se, também, que os pontos experimentais descrevem uma curva cuja equação é do tipo $y = Ax^2 + Bx + C$, onde y é a altura dos picos (mm), x é a acidez volátil (%) e A , B e C são parâmetros ajustados. Assim sendo, os resultados foram, também, calculados através das equações correspondentes e comparados com os obtidos por interpolação gráfica, apresentando um erro médio relativo de 1,3%.

Foram feitas duas curvas para vinagres, sendo que a primeira foi realizada com loop de polietileno de D.I.=0,8 mm e volume de 120 μ l. Esta curva mostra resultados referentes às amostras analisadas imediatamente depois de abertas. A segunda curva foi feita com loop de teflon de D.I.=0,9 mm e volume de 62 μ l. Esta curva mostra resultados referentes às mesmas amostras analisadas anteriormente. Todavia, tais amostras foram retituladas, pois já se encontravam mantidas em geladeira por algum tempo. Conseqüentemente, seus valores de acidez volátil apresentaram pequenas diminuições em relação aos obtidos quando da utilização das amostras recém abertas.

Os diagramas referentes às curvas 1 e 2, bem como as curvas-padrão são mostradas nas figuras 21 e 22.

OBS: A maior separação na linha base, entre os picos das diferentes amostras, nos diagramas à seguir, são apenas avanços de velocidade do registrador, com a finalidade de facilitar a visualização.

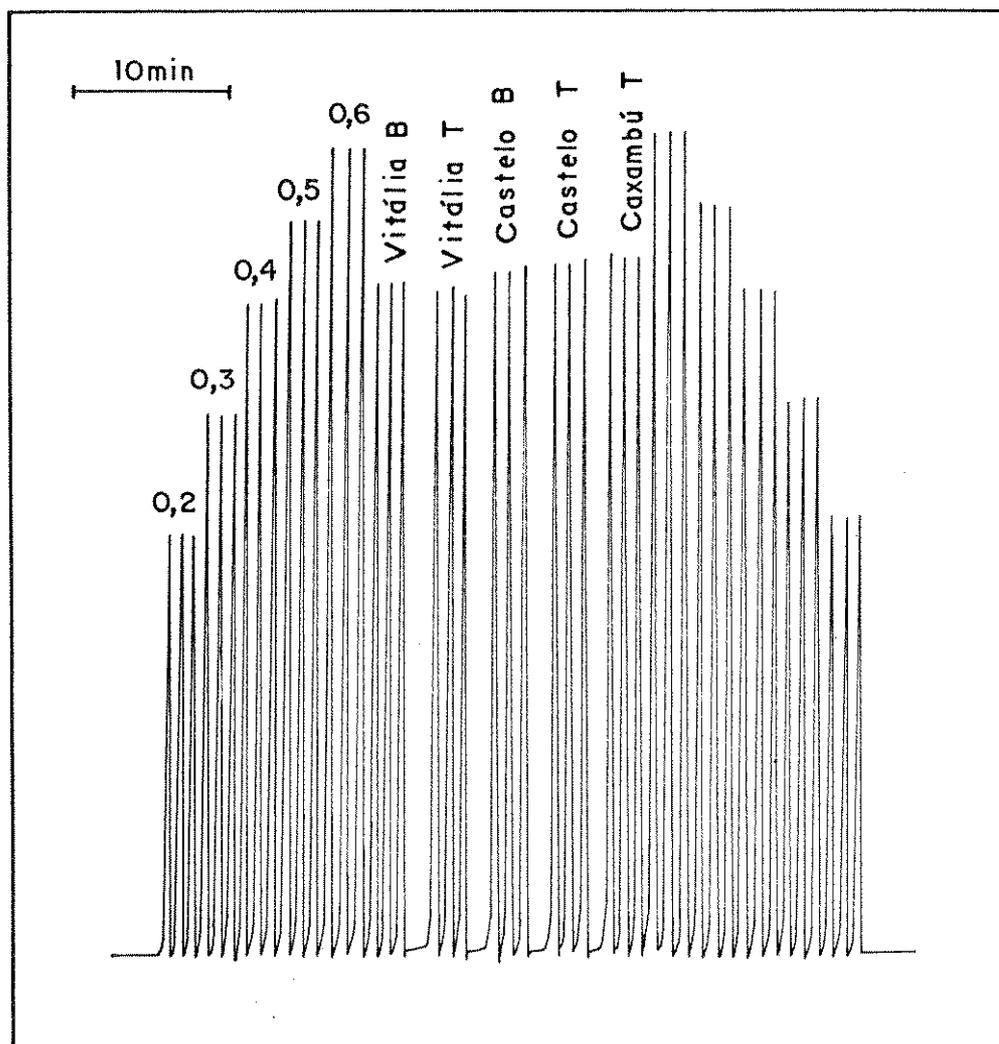


Fig. 21: a) Diagrama 1 - condições: registrador ECB, fundo de escala (FE)=500 mV; condutivímetro - FE=200 μ S e constante de cela=0,194 cm^{-1} . Padrões de ácido acético (0,2-0,6%), amostras de vinagre e padrões na descendente, em triplicata.

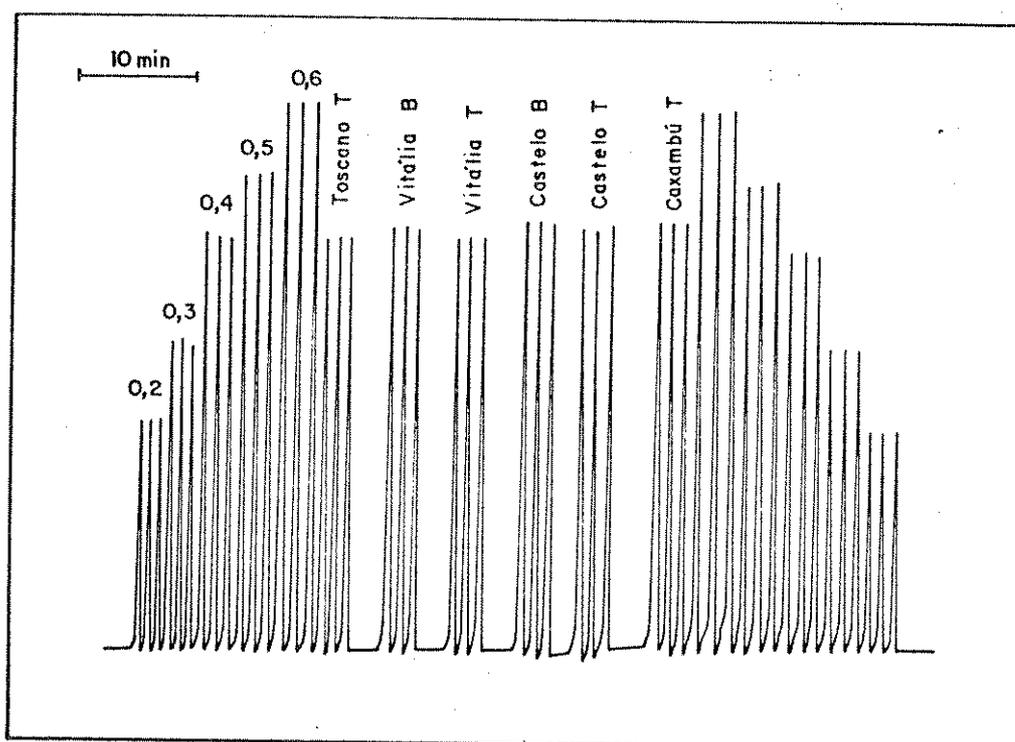


Fig. 21: b) Diagrama 2 - condições: registrador ECB, FE=200 mV; condutivímetro - FE=200 μ S e constante de cela=0,194 cm^{-1} . Padrões de ácido acético (0,2-0,6%), amostras de vinagre e padrões na descendente, em triplicata.

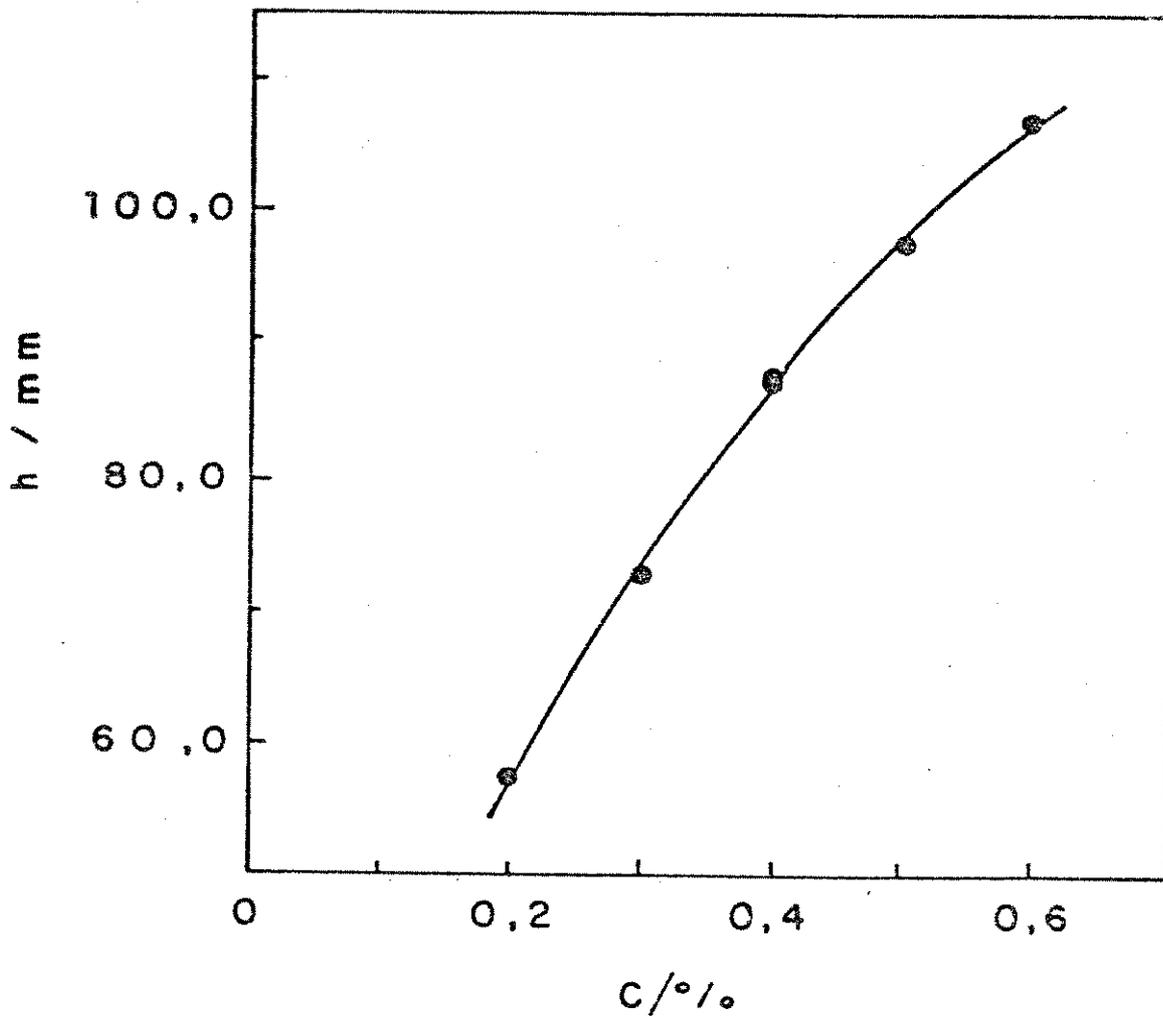


Fig. 22: a) Curva 1: $y = -122,1x^2 + 221,2x + 18,06$ $r = 0,9998$
Concentração de ácido acético x Altura dos picos

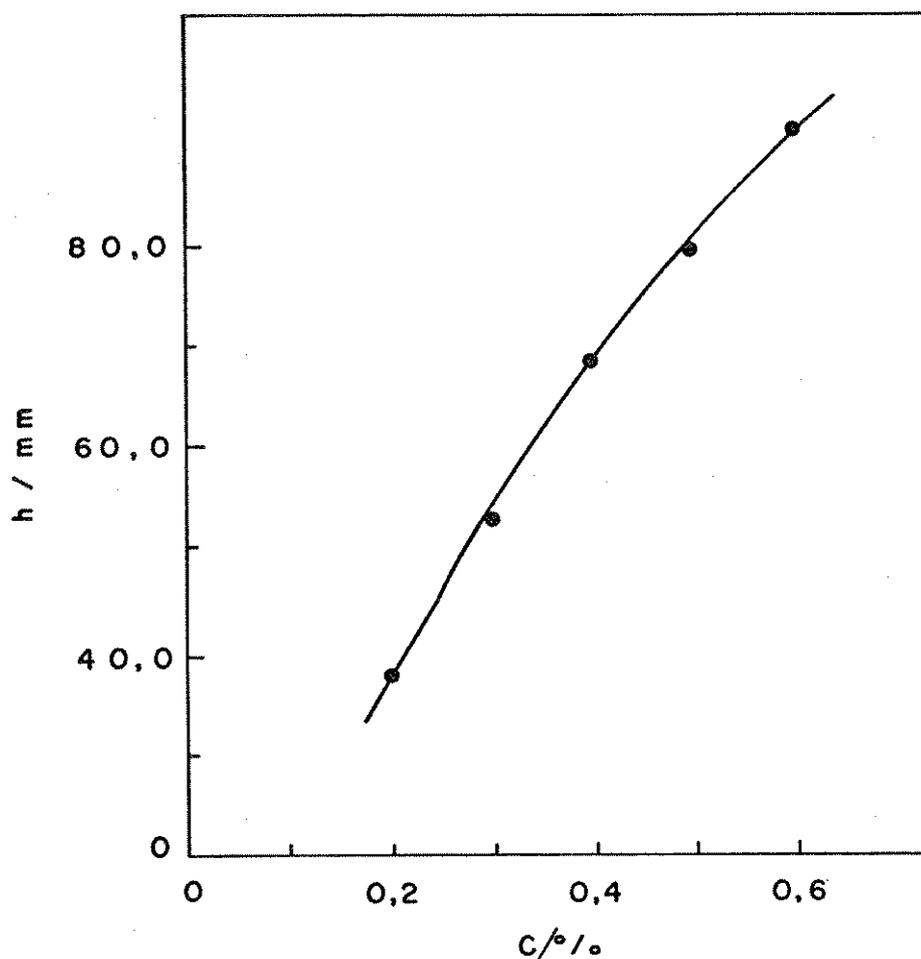


Fig. 22: b) Curva 2: $y = -67,857x^2 + 187,786x + 3,15$ $r = 0,9988$
 Concentração de ácido acético x Altura dos picos

A tabela 4 mostra os resultados obtidos pelas duas curvas, sendo:

- A.V. = Acidez Volátil calculada pelo método FIA
- A.T. = Acidez Total calculada por titulação com NaOH
- A.F. = Acidez Fixa calculada por diferença
- SR = Estimativa do desvio padrão relativo
- SR = Média das estimativas do desvio padrão relativo

loop	Curva 1				Curva 2			
	Poliet. D.I.=0,8mm				Teflon D.I.=0,9mm			
vinagres	AV(%)	AT(%)	AF(%)	SR(%)	AV(%)	AT(%)	AF(%)	SR(%)
Caxambú T.	4,67	4,85	0,18	0,00	4,46	4,77	0,31	0,26
Castelo T.	4,62	4,85	0,23	0,25	4,46	4,70	0,24	0,26
Castelo B.	4,57	4,77	0,20	0,25	4,52	4,70	0,18	0,00
Vitália T.	4,31	4,52	0,21	0,40	4,31	4,50	0,19	0,40
Vitália B.	4,41	4,71	0,30	0,00	4,41	4,61	0,20	0,92
Toscano T.	-	-	-	-	4,25	4,43	0,18	0,41

 $\overline{SR} = 0,18\%$
 $\overline{SR} = 0,38\%$

Tabela 4

III.5.2. Colorimétrico (vinagres)

Para a análise colorimétrica em vinagres foram feitas três curvas com dois tipos diferentes de loops. As curvas 3 e 4 foram obtidas com um loop de polietileno de D.I.=1,6 mm e volume de 240 μ l, e a curva 5 foi obtida com um loop de tygon de D.I.=1,14 mm e volume de 46 μ l.

Os diagramas referentes às curvas 3, 4 e 5, bem como as curvas-padrão são mostradas nas figuras 23 e 24.

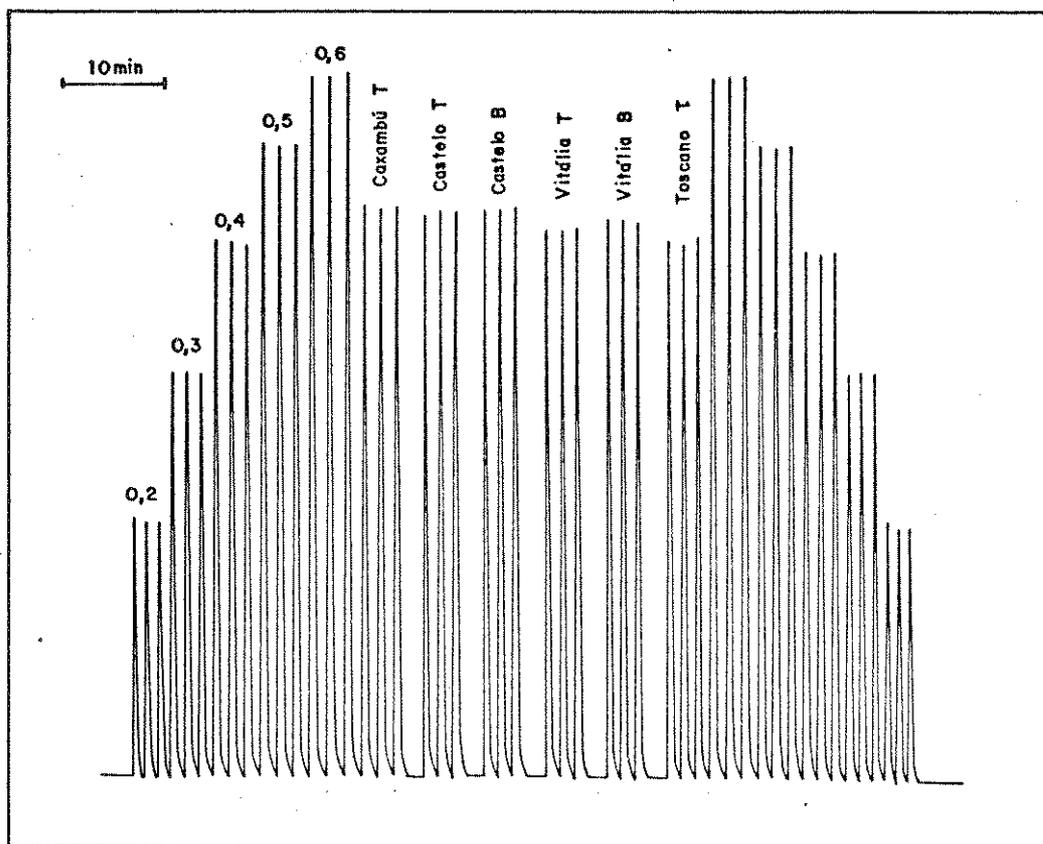


Fig. 23: a) Fiagrama 3 - condições: registrador Metrohm, FE=1 V; espectrofotômetro ajustado em 545 nm. Padrões de ácido acético (0,2-0,6%), amostras de vinagre e padrões na descendente, em triplicata.

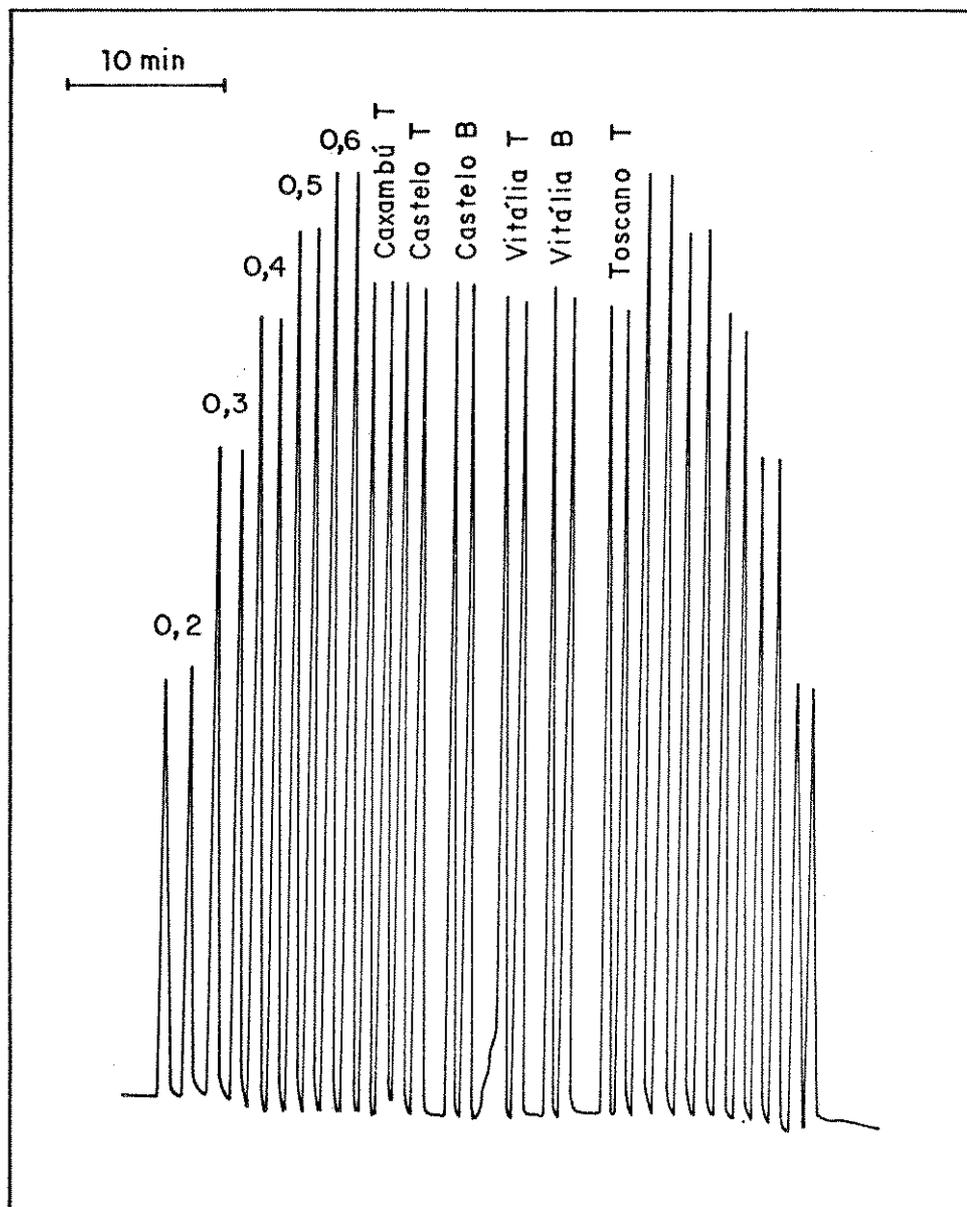


Fig. 23: b) Diagrama 4 - condições: registrador Metrohm, FE=1 V; espectrofotômetro ajustado em 540 nm. Padrões de ácido acético (0,2-0,6%), amostras de vinagre e padrões na descendente, em duplicata.

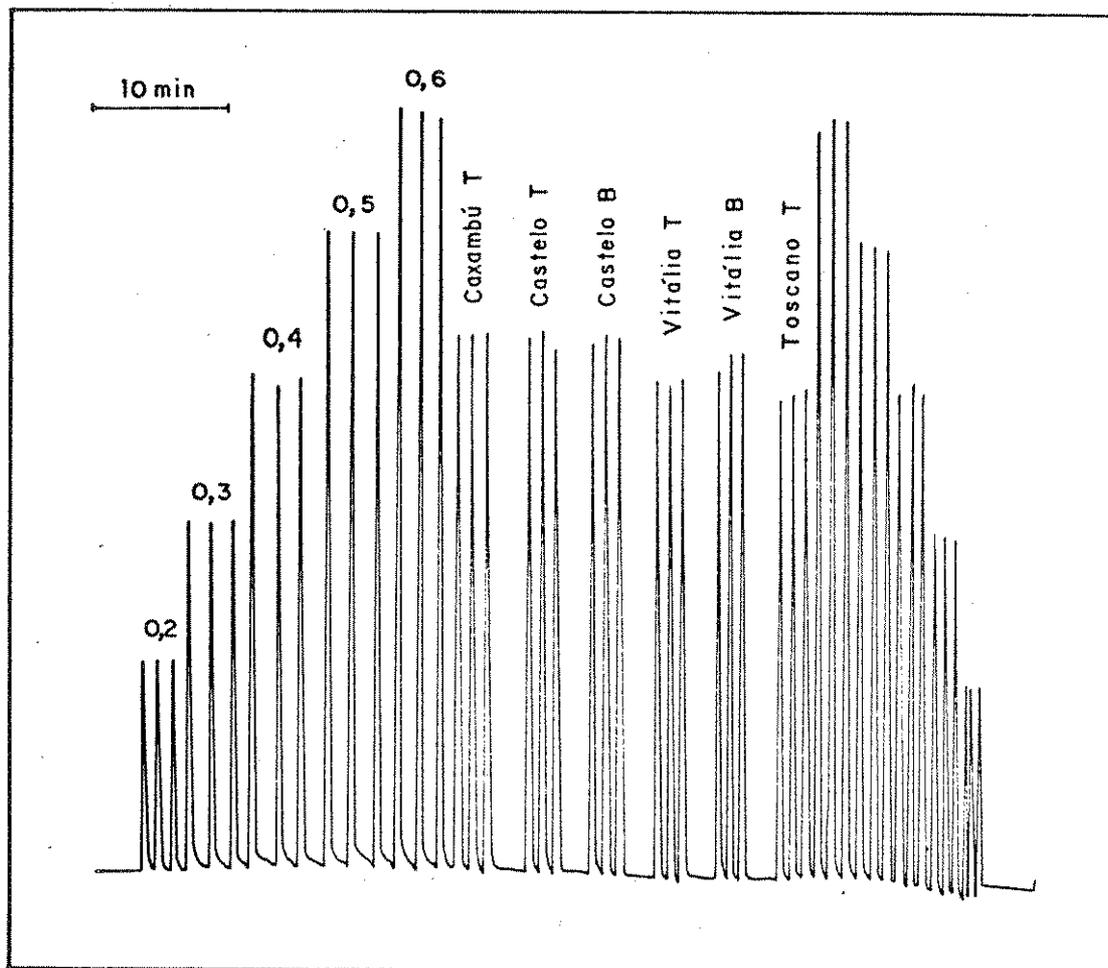


Fig.23: c) Fiograma 5 - condições: registrador ECB, FE=0,5 V; espectrofotômetro ajustado em 540 nm. Padrões de ácido acético (0,2-0,6%), amostras de vinagre e padrões na descendente, em triplicata.

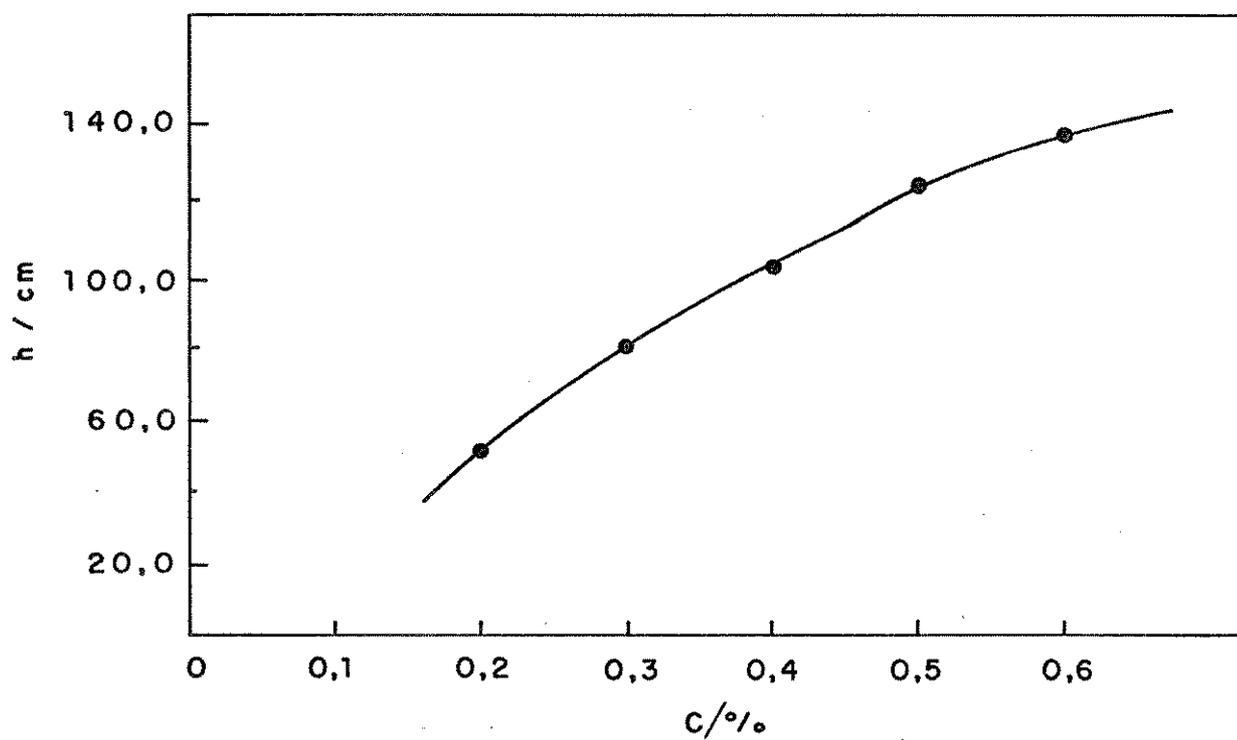


Fig. 24: a) Curva 3: $y = -232,143x^2 + 402,214x - 19,10$ $r = 0,9998$
Concentração de ácido acético x Altura dos picos

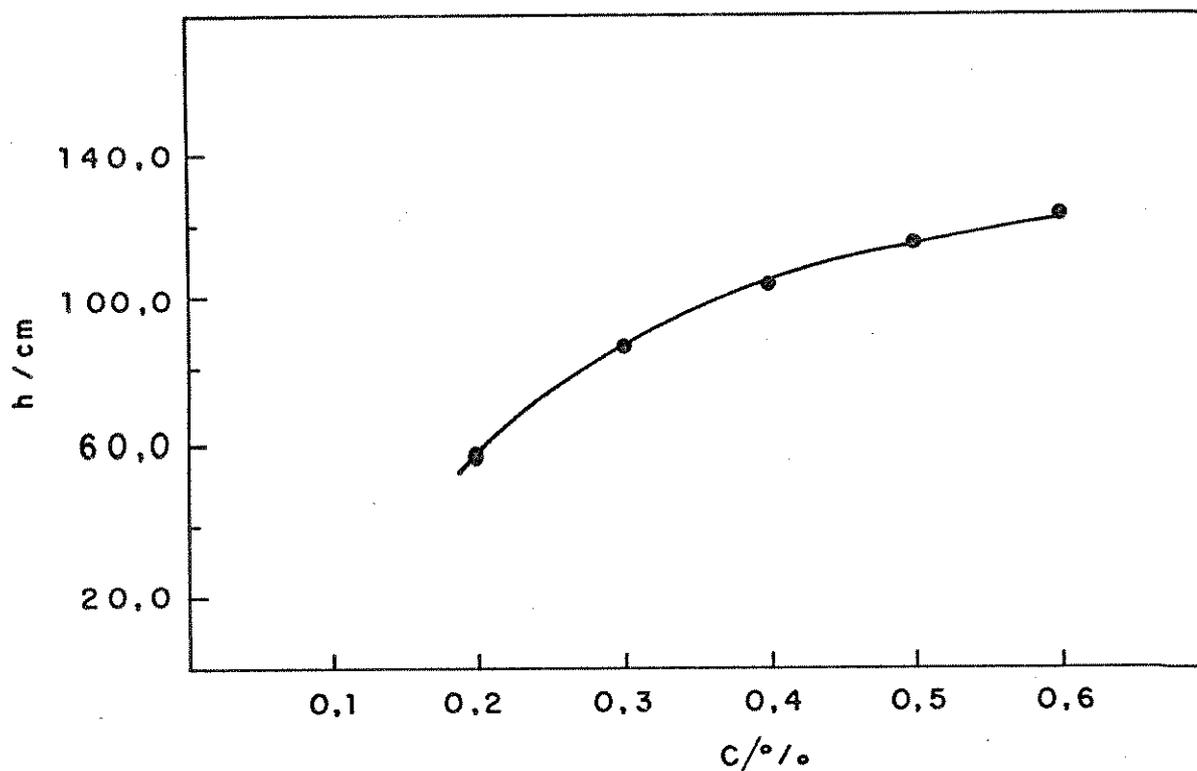


Fig. 24: b) Curva 4: $y = -325,0x^2 + 420,5x - 12,90$ $r = 0,9984$
Concentração de ácido acético x Altura dos picos

Obs: Os resultados obtidos pela curva 5 foram calculados a partir da regressão linear $y = 209,90x - 7,84$, com correlação linear de 0,9994.

As tabelas 5 e 6 mostram os resultados obtidos pelas três curvas:

Curva 3

Curva 4

loop	Poliet. DI= 1,6mm				Poliet. DI= 1,6mm			
	AV(%)	AT(%)	AF(%)	SR(%)	AV(%)	AT(%)	AF(%)	SR(%)
vinag.								
Caxambú T.	4,57	4,77	0,20	0,55	4,55	4,77	0,22	0,16
Castelo T.	4,52	4,70	0,18	0,38	4,49	4,70	0,21	2,19
Castelo B.	4,52	4,70	0,18	0,00	4,56	4,70	0,14	0,00
Vitália T.	4,31	4,50	0,19	0,70	4,38	4,50	0,12	0,48
Vitália B.	4,44	4,61	0,17	0,26	4,44	4,61	0,17	0,80
Toscano T.	4,20	4,43	0,23	0,60	4,20	4,63	0,23	0,84

 $\overline{SR} = 0,42\%$
 $\overline{SR} = 0,75\%$

Tabela 5

Curva 5

loop	Tygon DI= 1,14mm			
	AV(%)	AT(%)	AF(%)	SR(%)
vinag.				
Caxambú T.	4,55	4,77	0,22	0,00
Castelo T.	4,52	4,70	0,18	0,94
Castelo B.	4,53	4,70	0,17	0,76
Vitália T.	4,33	4,50	0,17	0,67
Vitália B.	4,43	4,61	0,18	0,58
Toscano T.	4,22	4,43	0,21	1,18

 $\overline{SR} = 0,68\%$

Tabela 6

III 5.3. Condutométrico (vinhos)

No caso dos vinhos, foram feitas curvas com os loops de polietileno (curva 6) e teflon (curva 7), que apresentaram os bons resultados no caso do vinagre.

As figuras 25 e 26 mostram os diagramas e as curvas-padrão 6 e 7, referentes às análises condutométricas dos vinhos:

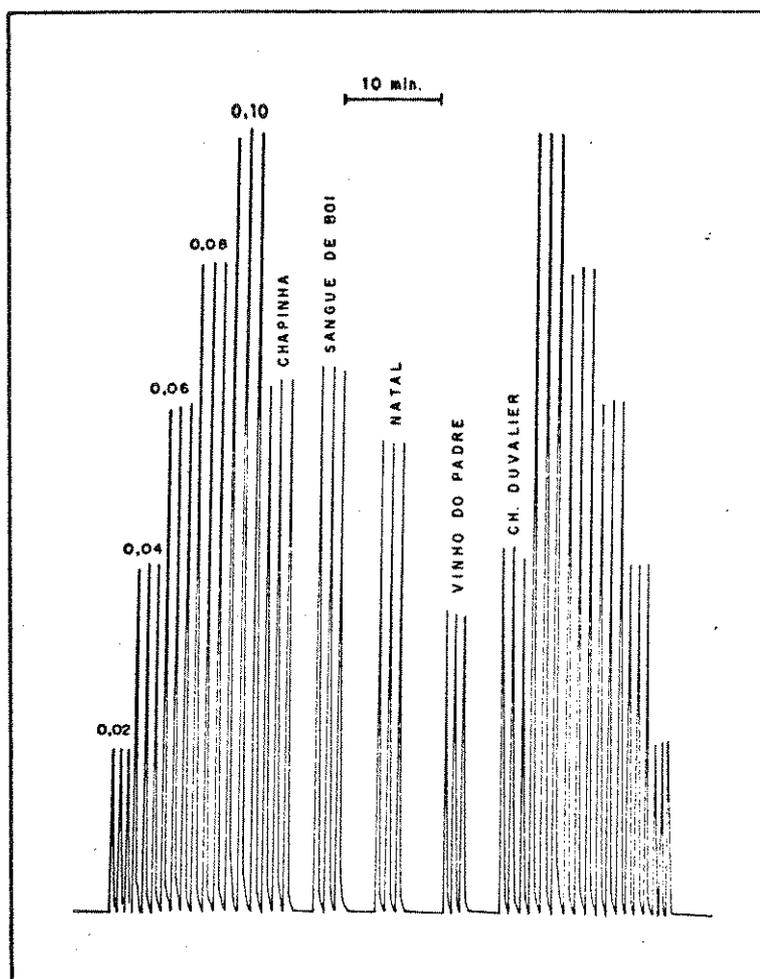


Fig. 25: a) Diagrama 6 - condições: registrador Cole-Parmer, FE=200 mV; condutivímetro FE=200 μ S e constante de cela=0,299 cm^{-1} . Padrões de ácido acético (0,02-0,10%), amostras de vinho e padrões na descendente, em triplicata.

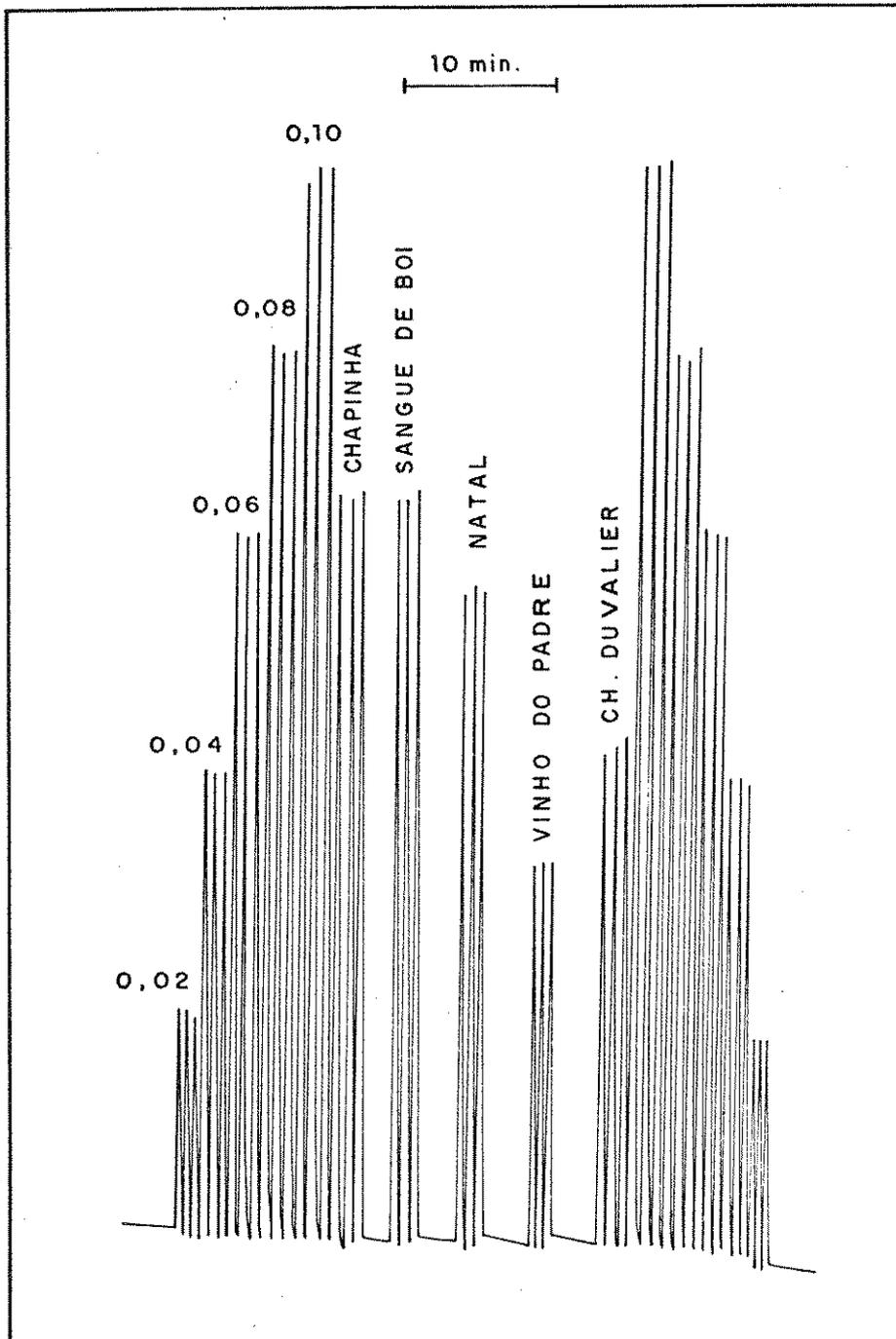


Fig. 25: b) Fiagrama 7 - condições: registrador Cole-Parmer, FE=200 mV; condutivimetro FE=200 μ S e constante de cela=0,299 cm^{-1} . Padrões de ácido acético (0,02-0,10%), amostras de vinho e padrões na descendente, em triplicata.

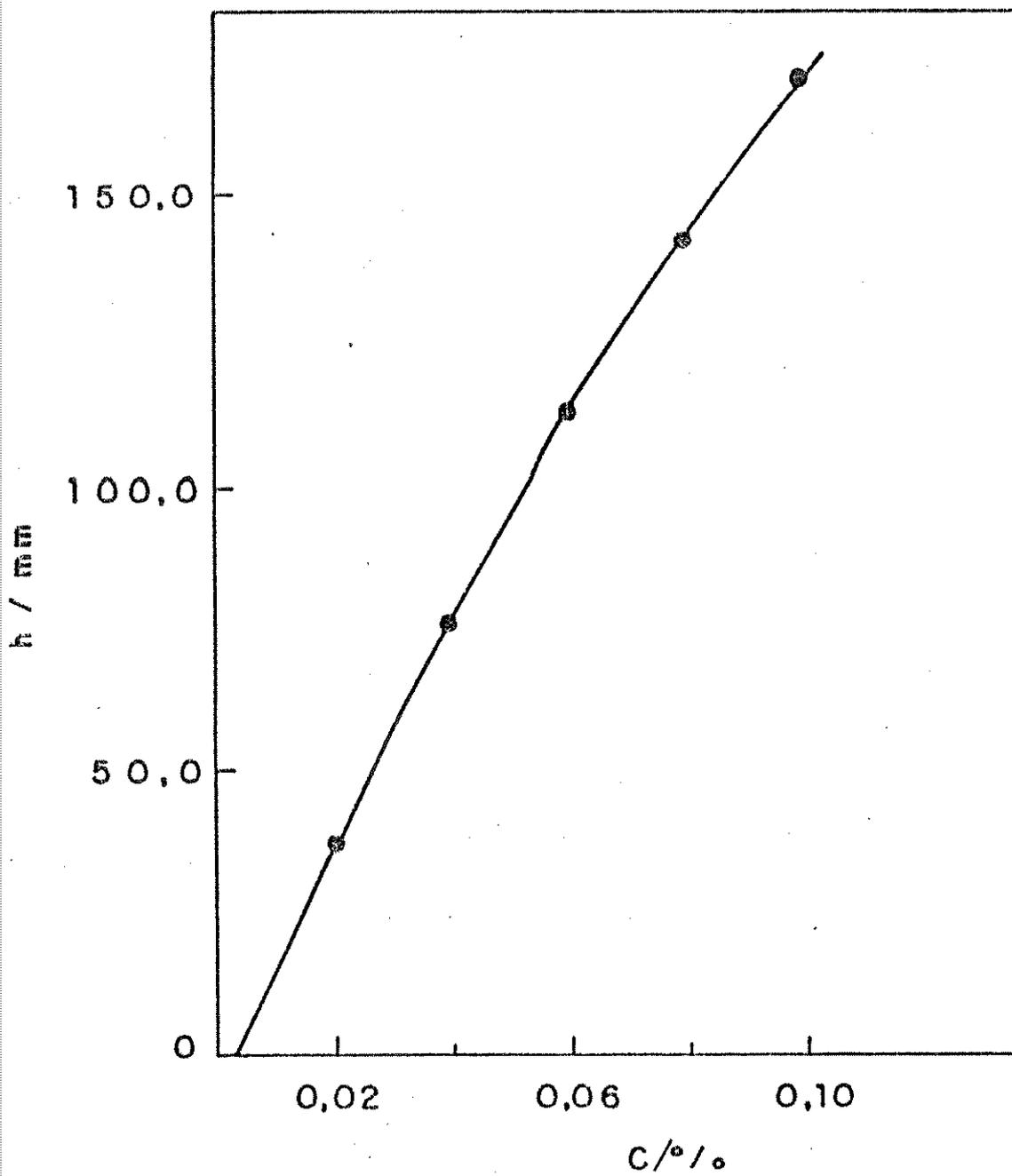


Fig. 26: a) Curva 6: $y = -4375,0x^2 + 2177,5x - 4,58$ $r = 0,9999$
Concentração de ácido acético x Altura dos picos

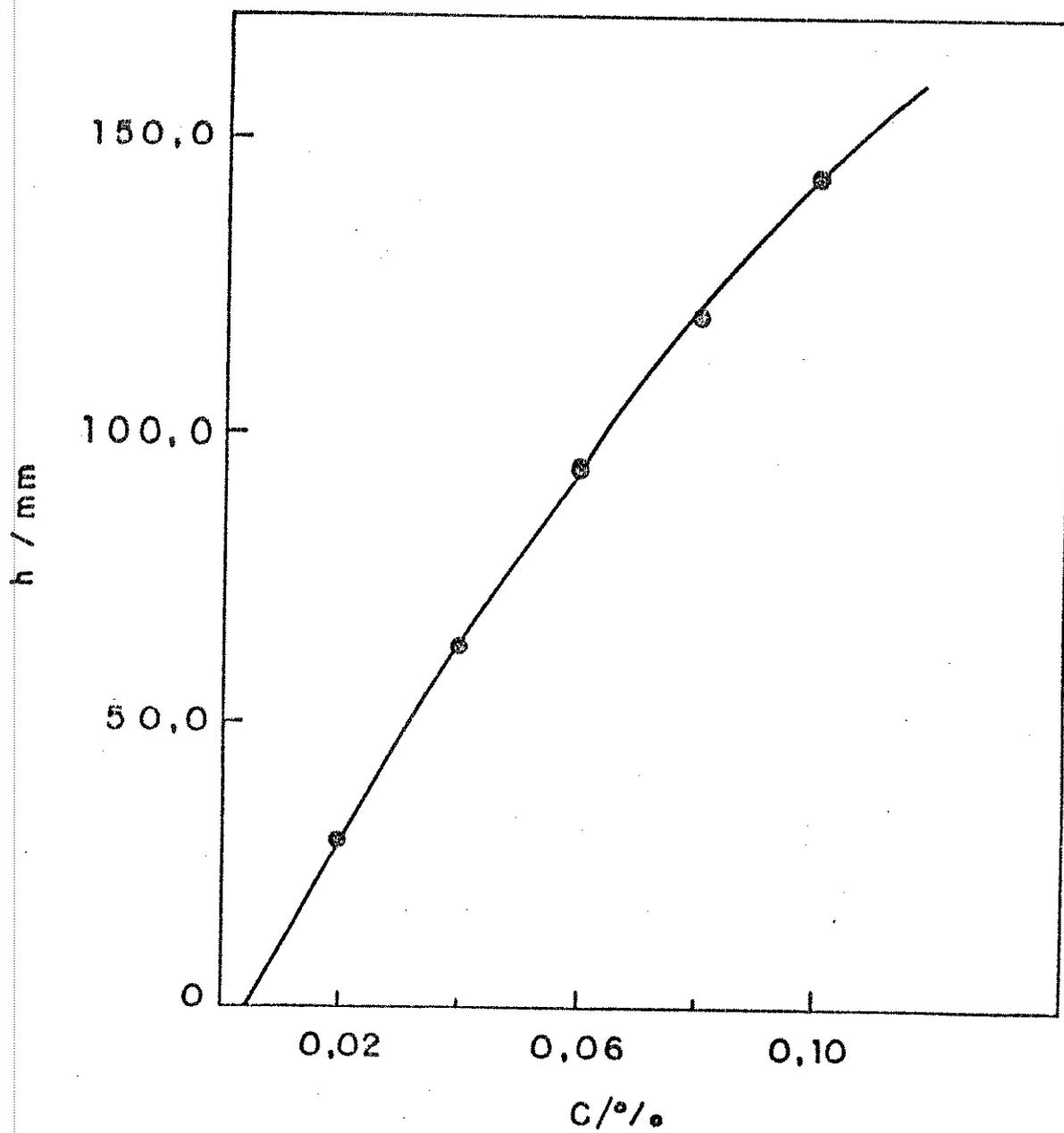


Fig.26: b)Curva 7: $y=-4571,43x^2+1973,57x-7,54$ $r=0,9997$
Concentração de ácido acético x Altura dos picos

A tabela 7 mostra os resultados obtidos pelas curvas 6 e 7:

loop	Curva 6 Poliet. DI= 0,8mm		Curva 7 Teflon DI=0,9mm	
	Ac. Volátil (%) x10 ²	SR(%)	Ac. Volátil (%) x10 ²	SR(%)
vinhos				
Chapinha	6,62	0,60	6,62	0,76
S. de Boi	6,56	0,75	6,52	1,07
Natal	5,57	0,90	5,57	0,90
V do Padre	3,62	1,38	3,52	0,83
Duvalier	4,41	1,36	4,46	1,12

$\overline{SR} = 1,00\%$

$\overline{SR} = 0,94\%$

Tabela 7

III.5.4. Colorimétrico (vinhos)

Finalmente, as curvas 8 e 9 mostram os resultados das análises colorimétricas dos vinhos. As curvas foram feitas com o loop de polietileno que apresentou bons resultados na análise colorimétrica de vinagres.

A figura 27 mostra os diagramas referentes às curvas 8 e 9:

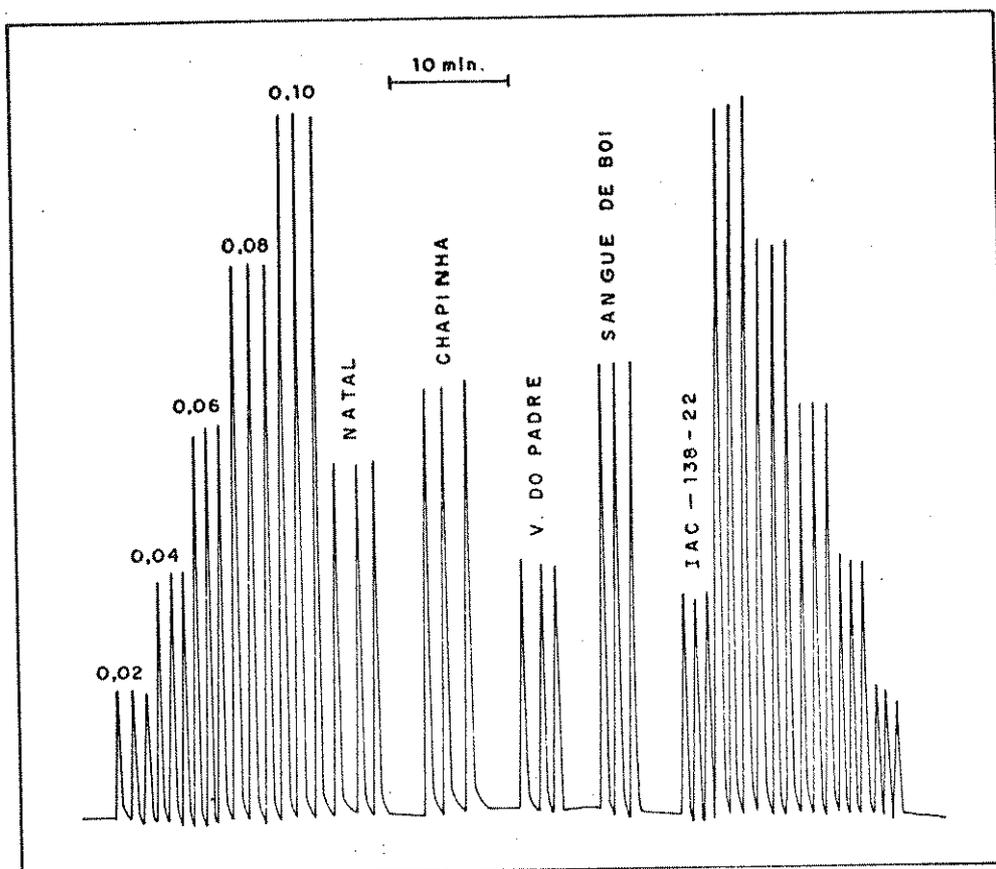


Fig. 27: a) Diagrama 8 - condições: registrador Cole-Parmer, EE=200 mV; espectrofotômetro ajustado em 560 nm. Padrões de ácido acético (0,02-0,10%), amostras de vinho e padrões na descendente, em triplicata.

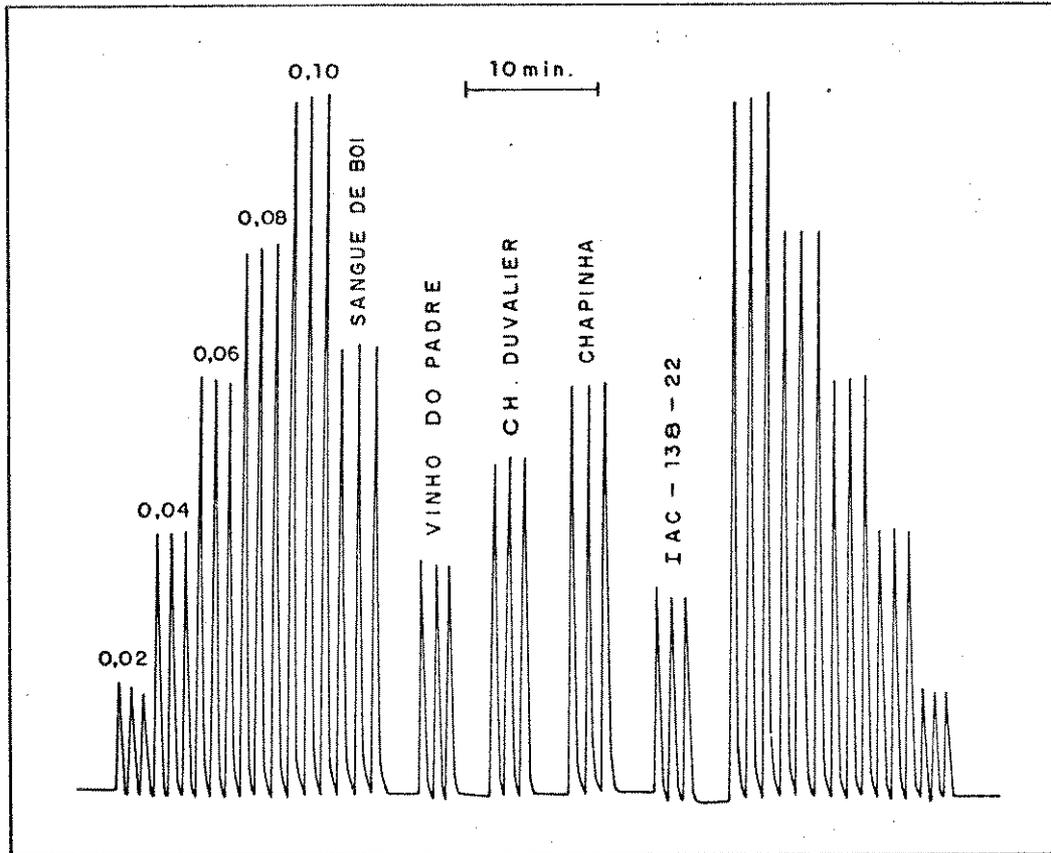


Fig. 27: b) Diagrama 9 - condições: registrador Cole-Parmer, FE=200 mV; espectrofotômetro ajustado em 560 nm. Padrões de ácido acético (0,02-0,10%), amostras de vinho e padrões na descendente, em triplicata.

Obs: Os resultados obtidos pelas curvas 8 e 9 foram calculados a partir das regressões lineares $y=1240,0x-4,6$ e $y=1120,0x-4,6$ com correlações lineares de 0,9993 e 0,9998, respectivamente.

A tabela 8 mostra os resultados obtidos pelas duas curvas:

vinhos	Curva 8		Curva 9	
	Ac. Volátil (%) x10 ²	SR(%)	Ac. Volátil (%) x10 ²	SR(%)
Chapinha	6,57	0,76	6,33	0,79
S. de Boi	6,74	0,59	6,62	0,76
Natal	5,47	0,91	-	-
V do Padre	3,78	1,06	3,71	1,08
Duvalier	-	-	5,00	1,00
IAC-138-22	3,48	0,86	3,34	0,60

$\bar{SR} = 0,84\%$

$\bar{SR} = 0,85\%$

Tabela 8

III.6. Métodos Comparativos

Os resultados obtidos pelo método alternativo (Jaulmes), e os obtidos pelos métodos FIA (por interpolação gráfica e pelas equações) são comparados nas tabelas 9 a 15, usando-se o teste t⁽⁵¹⁾.

No caso dos métodos FIA foram feitas três determinações de cada amostra e no método de Jaulmes duas determinações. A fórmula usada para comparação de dois métodos, pelo teste t,

é a seguinte:

$$t = \frac{X_A - X_B}{\sqrt{\frac{(n_A + n_B) \cdot (n_A s_A^2 + n_B s_B^2)}{(n_A + n_B - 2) \cdot n_A \cdot n_B}}} \cdot \frac{1}{2}$$

onde X_A e X_B são as médias aritméticas dos resultados dos dois métodos; s_A e s_B são as estimativas do desvio padrão e n_A e n_B o número de determinações.

O valor de t obtido é comparado com o valor da tabela para um grau de liberdade de $n_A + n_B - 2$.

Em todos os casos o valor de t , para um nível de confiança de 95%, é 3,18.(51)

III.6.1. Conducométrico (vinagres)

As tabelas 9 e 10 se referem, respectivamente, à comparação com o método de Jaulmes, dos resultados obtidos por interpolação gráfica e pela equação $y = -67,857x^2 + 187,786x + 3,15$.

Tabela 9

Vinagre	X _{FIA} (%)	S _{FIA} (%)	X _{Jaulmes} (%)	S _{Jaulmes} (%)	t _{calc.}
Caxambú T.	4,46	0,01	4,58	0,02	6,86 *
Castelo T.	4,46	0,01	4,53	0,00	7,67 *
Castelo B.	4,52	0,00	4,52	0,00	-
Vitália T.	4,31	0,02	4,34	0,02	1,27
Vitália B.	4,41	0,04	4,40	0,02	0,25
Toscano T.	4,25	0,04	4,23	0,01	0,54

* resultados onde t_{calc.} > 3,18

Tabela 10

Vinagre	X _{FIA} (%)	S _{FIA} (%)	X _{Jaulmes} (%)	S _{Jaulmes} (%)	t _{calc.}
Caxambú T.	4,57	0,01	4,58	0,02	0,57
Castelo T.	4,57	0,01	4,53	0,00	4,38 *
Castelo B.	4,60	0,00	4,52	0,00	-
Vitália T.	4,41	0,02	4,34	0,02	2,96
Vitália B.	4,49	0,04	4,40	0,02	2,28
Toscano T.	4,33	0,04	4,23	0,01	2,68

III.6.2. Colorimétrico (vinagres)

As tabelas 11 e 12 apresentam, respectivamente, as médias dos resultados obtidos pelas curvas 3 e 4,

por interpolação gráfica e pelas equações
 $y = -232,143x^2 + 402,214x - 19,10$ e $y = -325,0x^2 + 420,5x - 12,90$.

Tabela 11

Vinagres	X _{FIA} (%)	S _{FIA} (%)	X _{Jaulmes} (%)	S _{Jaulmes} (%)	t _{calc.}
Caxambú T.	4,56	0,01	4,58	0,02	1,14
Castelo T.	4,51	0,05	4,53	0,00	0,44
Castelo B.	4,54	0,01	4,52	0,00	2,19
Vitália T.	4,34	0,03	4,34	0,02	0,00
Vitália B.	4,44	0,02	4,40	0,02	1,69
Toscano T.	4,21	0,04	4,23	0,01	0,53

Tabela 12

Vinagres	X _{FIA} (%)	S _{FIA} (%)	X _{Jaulmes} (%)	S _{Jaulmes} (%)	t _{calc.}
Caxambú T.	4,55	0,01	4,58	0,02	1,71
Castelo T.	4,52	0,05	4,53	0,00	0,22
Castelo B.	4,56	0,01	4,52	0,00	4,38 *
Vitália T.	4,38	0,03	4,34	0,02	1,28
Vitália B.	4,45	0,02	4,40	0,02	2,12
Toscano T.	4,26	0,04	4,23	0,01	0,81

Pode-se notar que, por interpolação gráfica, apenas para os vinagres Caxambú e Castelo tinto, no método condutométrico, os resultados não concordam dentro da imprecisão dos métodos. Isto se deve ao fato de se terem valores pequenos para as estimativas do desvio padrão. Não se pode calcular o fator t para o vinagre Castelo branco, pelo método condutométrico, visto que, pela fórmula, obtém-se uma divisão por zero. Todavia os resultados concordam dentro da imprecisão dos métodos, pois são virtualmente iguais.

Para os resultados calculados a partir das equações, nota-se que o vinagre Castelo tinto, no caso condutométrico, e o Castelo branco, no caso colorimétrico, não apresentam resultados concordantes devido ao pequeno valor de suas estimativas do desvio padrão.

Por outro lado, vemos que o vinagre Caxambú, quando calculado pela equação, apresenta valor concordante com o método Jaulmes.

III.6.3 Condutométrico (vinhos)

As tabelas 13 e 14 apresentam, respectivamente, as médias dos resultados obtidos pelas curvas 6 e 7, por interpolação gráfica e pelas equações $y = -4375,0x^2 + 2177,5x - 4,58$ e $y = -4571,43x^2 + 1973,57x - 7,54$.

Tabela 13

Vinhos	XFIA x10 ² (%)	SFIA x10 ² (%)	XJaulmes x10 ² (%)	SJaulmes x10 ² (%)	tcalc.
Chapinha	6,62	0,05	6,63	0,05	0,17
S. de Boi	6,54	0,06	6,41	0,03	2,20
Natal	5,57	0,05	5,46	0,04	2,01
V do Padre	3,57	0,04	3,65	0,04	1,69
Duvalier	4,46	0,06	4,80	0,06	4,80 *

Tabela 14

Vinhos	XFIA x10 ² (%)	SFIA x10 ² (%)	XJaulmes x10 ² (%)	SJaulmes x10 ² (%)	tcalc.
Chapinha	6,73	0,05	6,63	0,05	1,70
S. de Boi	6,74	0,06	6,41	0,03	5,58 *
Natal	5,63	0,05	5,46	0,04	3,12
V do Padre	3,53	0,04	3,65	0,04	2,54
Duvalier	4,43	0,06	4,80	0,06	5,23 *

III.6.4 Colorimétrico (vinhos)

A tabela 15 apresenta a média dos resultados obtidos pelas curvas 8 e 9, por regressão linear, usando-se as equações $y=1240,0x-4,6$ e $y=1120,0x-4,6$.

Tabela 15

Vinhos	X _{FIA} x10 ² (%)	S _{FIA} x10 ² (%)	X _{Jaulmes} x10 ² (%)	S _{Jaulmes} x10 ² (%)	t _{calc.}
Chapinha	6,45	0,05	6,63	0,05	3,05
S. de Boi	6,68	0,05	6,41	0,03	5,31 *
Natal	5,47	0,05	5,46	0,04	0,19
V do Padre	3,74	0,04	3,65	0,04	1,91
Duvalier	5,00	0,05	4,80	0,06	3,13
IAC-138-22	3,41	0,03	3,34	0,04	1,73

Analisando-se os resultados dos vinhos, obtidos por interpolação gráfica (caso condutométrico), apenas o Chateau Duvalier branco, não concorda dentro da imprecisão dos métodos.

No caso dos vinhos calculou-se os valores de acidez volátil, através das equações de segundo grau, apenas para os resultados do método condutométrico, já que no colorimétrico estes já foram calculados por regressões lineares.

Observa-se que, apenas para os vinhos Sangue de Boi tinto e Chateau Duvalier branco, os valores não concordam dentro da imprecisão do método.

É importante ressaltar que, à excessão do vinho Sangue de boi, tanto para os vinhos como para os vinagres, não se

observa a discordância de resultados para a mesma marca nos dois métodos em FIA. Isso mostra que ela deve ser ocasional e não própria da marca da amostra.

Comparando-se os resultados de acidez volátil de vinagre, pelo método FIA, e os de acidez total, por titulação com NaOH, nota-se uma diferença absoluta de 0,15 a 0,30%, o que corresponde aos valores usuais de acidez fixa.

IV- Discussão Final

As particularidades e vantagens gerais do método FIA já foram descritas anteriormente. No caso particular do método proposto, tais vantagens se tornam evidentes.

Os métodos tradicionais para análise de vinhos e vinagres, já comentados, utilizam técnicas demoradas de análise. Os processos mais rápidos possibilitam, em média, 6 a 10 análises por hora, enquanto que os métodos FIA propostos apresentam velocidades analíticas de 40 a 60 análises por hora.

Além disso, os métodos desenvolvidos apresentam precisões maiores que os métodos oficiais usados no Brasil, tais como o Cazenave-Ferré, que podem apresentar erros relativos, considerados aceitáveis, de até 2,5%.

Visitas foram feitas a esses laboratórios com o objetivo de se acompanhar os métodos de análise usuais. Alguns destes laboratórios titulam o destilado com NaOH 1,0M, em buretas de 25,0 ml, para um volume final de 4,5 ml aproximadamente. Além disso considera-se tal volume final como o valor direto da acidez volátil. Para isso é necessária uma alíquota de 6,0 ml que, muito provavelmente, não é transferida por meio de pipeta volumétrica. Por

exemplo, uma amostra de vinagre de acidez volátil igual a 4,5% é equivalente a uma solução 0,75M em ácido acético. Usando-se NaOH 1,0M para um volume de 4,5 ml (acidez volátil), temos:

$$0,75M \times \text{Vol. (amostra)} = 1,0M \times 4,5 \text{ ml}$$

$$\text{Vol. (amostra)} = 6,00 \text{ ml}$$

Pipetas volumétricas comerciais de 6,0 ml não são usuais. Daí se conclui que a alíquota é transferida com pipeta graduada ou com bureta.

Outro ponto interessante, passível de crítica, é a metodologia de análises de bebidas e vinagres do Ministério da Agricultura, para o caso da acidez volátil de vinagres. O método proposto, Cazenave-Ferré, indica o uso de uma bureta de 50,0 ml, para titulação de 10,0 ml de amostra com NaOH 0,1M. Para titular um vinagre de acidez volátil de 4,5%, seriam necessários 75,0 ml de NaOH, ou seja, mais ou menos uma bureta e meia. Neste caso, é de nossa opinião, que se deveria usar, preferencialmente, menor volume de amostra ou então solução de base mais concentrada.

As contra-titulações com solução de iôdo servem para corrigir o valor da acidez volátil devido à presença de sulfito. Normalmente, não se fazem estas contra-titulações em análises de rotina, a não ser que o valor esteja próximo dos valores máximos permitidos. Tal procedimento é devido ao

tempo que se perde.

Nos métodos FIA propostos, nota-se que, apenas pela adição de algumas gotas de água oxigenada, elimina-se a interferência do sulfito.

Sendo assim, a maior velocidade analítica dos métodos FIA é uma vantagem evidente, devido à eliminação de etapas demoradas, tais como a destilação e as titulações.

Em termos de aparelhagem, vê-se que para os métodos tradicionais, seu custo é mais baixo, se comparado com o sistema FIA. Contudo, o gasto adicional, que aliás não é tão grande, é perfeitamente compensado pelo tempo de análise.

A aparelhagem de Jaulmes, usada para comparação dos resultados, possibilitava uma destilação em quatro minutos. Tal aparelhagem, porém, tem um custo muito superior ao sistema FIA descrito neste trabalho.

Analisando-se os métodos FIA propostos, em termos de custo operacional, velocidade analítica e precisão de resultados, observa-se que, estes apresentam vantagens significativas em relação aos métodos tradicionais. Esperamos que, num futuro próximo, sejam empregados intensamente.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Valcarcel, M. and Luque de Castro, M.D.; "Análisis por Inyección en Flujo", Editora Imprensa San Pablo, Córdoba, España, (1984).
- 2) Stewart, K.K.; Talanta, 28(1981)789.
- 3) James, A.T. and Martin, A.J.P.; Analyst, 77(1952)915.
- 4) Skeggs, L.T.; Am. J. Clin. Pathol., 28(1957)311.
- 5) Spackman, D.H., Stein, W.H. and Moore, S.; Anal. Chem., 30(1958)1190.
- 6) Nagy, G., Feher, Z.S. and Pungor, E.; Anal. Chim. Acta., 52(1970)47.
- 7) Bergmeyer, H.V. and Hagen, A.; Z. Anal. Chem., 261(1972)333.
- 8) White, V.R. and Fitzgerald, J.M.; Anal. Chem., 44(1972)1267.
- 9) Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Anal. Chim. Acta., 78(1975)145.
- 10) Ruzicka, J. and Stewart, J.W.B.; Anal. Chim. Acta., 79(1975)79.
- 11) Dutt, V.V.S.E. and Mottola, H.A.; Anal. Chem., 47(1975)357.
- 12) Fleet, B. and Ho, A.Y.W.; Anal. Chem., 46(1974)9.
- 13) Ruzicka, J., Hansen, E.H. and Mosbaek, H.; Anal. Chim. Acta., 92(1977)235.

- 14) Krug, F.J., Bergamin Filho, H., Zagatto, E.A.G. and Stogard-Jorgensen, S.; Analyst, 102(1977)503.
- 15) Bergamin Filho, H., Reis, B.F. and Zagatto, E.A.G.; Anal. Chim. Acta, 97(1978)427.
- 16) Bergamin Filho, H., Zagatto, E.A.G., Krug, F.J. and Reis, B.F.; Anal. Chim. Acta, 101(1978)17.
- 17) Mindegaard, J.; Anal. Chim. Acta, 104(1979)185.
- 18) Faria, L.C.; "Determinação Condutométrica de Amônia em Digeridos de Kjeldahl, Aguas e Solos por Análise por Injeção em Fluxo", Tese de Mestrado, Unicamp, 1987.
- 19) Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Anal. Chim. Acta, 114(1980)19.
- 20) Zagatto E.A.G., Jacinto, O.A., Mortatti, J. and Bergamin Filho, H.; Anal. Chim. Acta, 120(1980)399.
- 21) Krug, F.J., Reis, B.F., Giné, M.F., Ferreira, J.R., Jacinto, A.O. and Zagatto, E.A.G.; Anal. Chim. Acta, 151(1983)39.
- 22) Reijn, J.M., Van der Linden, W.E. and Poppe, H.; Anal. Chim. Acta, 126(1981)1.
- 23) Reis, B.F., Jacinto, O.A., Mortatti, J., Krug, F.J., Zagatto, E.A.G., Bergamin Filho, H. and Pessenda, L.C.R.; Anal. Chim. Acta, 123(1981)221.
- 24) Reis, B.F., Giné, M.F. e Kronka, E.A.M.; Química Nova, 12(1)1989 pg. 82.
- 25) Snyder, L.R.; Anal. Chim. Acta, 114(1980)3.
- 26) Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; "Flow Injection Analysis", John Wiley and Sons, New York, 1981.

- 27) Ramsing, A.V., Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Anal. Chim. Acta, 129(1981)1.
- 28) Van Son, M., Schotorst, R.C. and Den Boef, G.; Anal. Chim. Acta, 153(1983)271.
- 29) Ramsing, A., Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Anal. Chim. Acta, 114(1980)165.
- 30) Andrade, J.C., Ferreira, M. e Baccan, N.; Quimica Nova, 9(1986)123.
- 31) Baadenhuijsen, H. and Seuren-Jacobs, H.E.H.; Clin. Chem., 25(1979)443.
- 32) Van der Linden, W.E.; Anal. Chim. Acta, 151(1983)359.
- 33) West, P.W. and Gaeke, G.C.; Anal. Chem., 28(1956)1816.
- 34) Moore, W.J.; "Físico-Química", Edgar Blucher Editora, 4ª Ed., 1976, vol. 2, pg. 388.
- 35) Vogel, A.I.; "Análise Inorgânica Quantitativa", Ed. Guanabara Dois, 4ª Ed. 1981, pg. 514.
- 36) Ohlweiler, O.A.; "Teoria e Prática da Análise Quantitativa Inorgânica", Ed. Universidade de Brasília, 1ª Ed., vol. 3, 1968, pg. 719.
- 37) "Biotechnology", Verlag Chemie, Weinheim, 1983, vol. 5, Cap. 9.
- 38) Nunheimer, T.D. and Fabian, F.W.; Amer. J. Publ. Health, 30(1940)1040.
- 39) Szakaal, A.; Z. Lebensm. Unters. Forsch., 95(1952)100.

- 40) Mecca, F., Andreotti, R. and Veronelli, L.; "L'Aceto", Edizioni A.E.B., S.p.A. S.Polo - Brescia - Itália, 1979, pg. 1-433.
- 41) Diário Oficial do Brasil, de 8 de Outubro de 1974, pg. 17.
- 42) Amerine, M.A. and Ough, C.S.; "Methods for Analysis of Musts and Wines", John Wiley and Sons, New York, 1980, pg. 1-50.
- 43) Simão, C.; "Enoquímica", apostila fornecida no "VI Curso de Viticultura e Enologia".
- 44) Ribereau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. et Ribereau-Gayon, P.; "Sciences et Techniques du Vin", vol. 1, Dudot, Paris, 1976, pg. 89.
- 45) "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists", 11ª Ed. 1970, pg. 183 e 519.
- 46) Kobos, R.K., Parks, S.J. and Meyerhoff, M.E.; Anal. Chem., 54(1982)1976.
- 47) Gould, E.S.; "Mecanismos y Estructuras en Química Orgánica", Ed. Kapelusz, Buenos Aires, 1967, pg. 345.
- 48) Aurand, L.W., Singleton, J.A., Bell, T.A. and Etchells, J.L.; J. Food Sci., 31(2), 172-177, (1966).
- 49) Jones, D.D. and Greenshields, R.N., J. Inst. Brew., 75(1969)457.
- 50) *ibidem*, 77(1971)160.

51) Eckschlager, K.; "Errors, Measurement and Results in Chemical Analysis", Van Nostrand Reinhold Company, 1972, pg. 111.

52) Diário Oficial da União, de 09 de Março de 1990, Artigo 103.