



**UNIVERSIDADE
EDUARDO MONDLANE**



**FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Estágio laboral



DETERMINAÇÃO DO VALOR REAL DE SULFITOS NOS VINHOS TINTOS

AUTORA: Cumbana, Onizia Felizarda

Maputo, Dezembro de 2015



**UNIVERSIDADE
EDUARDO MONDLANE**



**FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Estágio laboral



DETERMINAÇÃO DO VALOR REAL DE SULFITOS NOS VINHOS TINTOS

AUTORA: Cumbana, Onízia Felizarda

SUPERVISORA: Prof.^a Doutora Tatiana Kuleshova

CO-SUPERVISORES: Eng. Sualei Imede

dr. Silvestre Muiambo

Maputo, Dezembro de 2015

DEDICATÓRIA

Ao meu filho Vagner Nhassengo, presente de Deus em minha vida;

Ao meu companheiro Osvaldo Nhassengo pelo incentivo e encorajamento nos momentos mais difíceis, pelo companheirismo e atenção em todas as horas e pelo amor verdadeiro;

Aos meus pais Rafael Miguel Cumbana e Felizarda Luís Nhatave, pelo amor e dedicação em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua infinita bondade

Endereço os meus sinceros agradecimentos á minha supervisora Prof.^a Doutora Tatiana Kuleshova pelos valiosos ensinamentos transmitidos e sua excelente orientação, paciência, amizade e atenção dispensada.

Aos meus co-supervisores Eng. Sualei Imede e dr. Silvestre Muiambo pela colaboração imprescindível e disponibilização do material para a realização deste trabalho.

Aos professores do curso em especial aos do ramo da química pura pelos ensinamentos ao longo do curso.

Ao Instituto Nacional de Inspeção de Pescado pela autorização do estágio e a realização deste trabalho. Agradeço aos funcionários do Laboratório de Inspeção de Pescado em especial o dr. Fabião, dr.^a Dulce e Sr.^a Arsénia pelos conhecimentos transmitidos durante o decurso do estágio, pelo apoio e participação neste trabalho.

Agradeço aos meus pais em especial á minha mãe Felizarda Luís Nhatave pela paciência e por ter compartilhado os momentos mais difíceis da minha vida. Aos meus irmãos Janete Felizarda Cumbana, Adelaide Felizarda Cumbana, Olívio Rafael Cumbana em especial á Inês Felizarda Cumbana pelo apoio moral e financeiro e por ter servido de espelho na vida académica. Aos meus sobrinhos por me alegrarem e a toda minha a família. Ao meu companheiro Osvaldo Nhassengo pelo seu amor incondicional.

Agradeço a todos os colegas e amigos do curso em especial o dr. Adércio Mumguambe, dr. Armando Muianga, dr. Alberto Nhatave, dr. Percio de Jesus, dr. Rui Felizardo, Nelma João, Aldonaldo Simbine, Mércia Comé, e Sónia Desma pelo apoio e companheirismo ao longo do curso. Aos colegas do estágio Arlindo Manhiça, Marta e Júlia. A todos os que direta e indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse uma realidade.

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Onízia Felizarda Cumbana, declaro por minha honra que o presente trabalho de licenciatura foi concebido no Departamento de Química e desenvolvido como Estágio Laboral por mim e que nunca foi apresentado, na sua essência, para obtenção de qualquer grau e que ele constitui o resultado da minha investigação pessoal, estando no texto e na bibliografia as fontes utilizadas.

Maputo, Dezembro de 2015

(Onízia Felizarda Cumbana)

RESUMO

O vinho é uma bebida alcoólica, resultante da fermentação do mosto de uvas frescas, sãs e maduras, por intermédio de microrganismos chamados leveduras, as quais transformam o açúcar do sumo da uva em álcool etílico, gás carbónico e uma série de substâncias secundárias em quantidades variadas. Para manter a qualidade de alimentos, quer o seu valor nutricional ou aparência, diversos produtos como metabissulfito ou pirossulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) são adicionados em alimentos como conservante para prolongarem o tempo de vida dos alimentos. Os agentes sulfitantes mais usados pela indústria de alimentos e bebidas são: metabissulfito e bissulfito de sódio ou de potássio, que libertam o dióxido de enxofre (SO_2) nas condições de uso. Contudo é importante ressaltar que a quantidade de sulfitos adicionada aos alimentos não reflecte os teores remanescentes no momento do consumo do produto, devido a perdas que podem ocorrer durante o processamento e armazenamento. Objectivo do trabalho foi determinar o valor real de sulfitos nos vinhos tintos de marcas Drostdy-Hof, Cellar-Cask, Baronne, Orla Marítima e Clos seleccionados para o estudo usando o método de Monier-Williams; avaliar se as concentrações de sulfitos nas diferentes marcas e lotes diferem significativamente ou não. Os resultados das análises demonstraram que as concentrações de sulfitos em todos vinhos analisados variaram na média entre 69.5 mg L^{-1} á 105.1 mg L^{-1} . Para as marcas Orla Marítima, Drostdy – Hof e Baronne as concentrações de sulfitos encontram – se dentro do valor recomendado pela OMS e as marcas Clos e Cellar – Cask acima do valor recomendado pela OMS. Segundo o teste (ANOVA) as concentrações de sulfitos em diferentes vinhos diferem significativamente, o mesmo verifica - se entre as diferentes marcas do vinho.

GLOSSÁRIO

ANOVA: Análise de variância

DBC: Delineamento em blocos causalizados

DCC: Delineamento completamente causalizado

F: Valor do teste de Fisher 5% de probabilidade

FAO: Food and Agriculture Organization

INIP: Instituto Nacional de Inspeção de Pescado

LIP: Laboratório de Inspeção de Pescado

OMS: Organização Mundial da Saúde

S/A: Sem Ano

SQ: Soma dos Quadrados

UEM: Universidade Eduardo Mondlane

Var: Variedade

Σ : Refere-se operação aritmética

ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	ii
DECLARAÇÃO DE HONRA.....	iii
RESUMO.....	iv
GLOSSÁRIO	v
ÍNDICE GERAL.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	x
ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS DO ANEXO	xi
Capítulo I: INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Perguntas de pesquisa	2
1.2.Objectivos	3
1.2.1. Geral:.....	3
1.2.1. Específicos:.....	3
1.3. Justificativa.....	3
1.4. Metodologia para a realização do trabalho.....	4
Capítulo II: REVISÃO DA LITERATURA.....	6
2.1. Conservantes	6
2.2. Efeitos tóxicos e possíveis malefícios à população causados pelos agentes sulfitantes.....	6
2.3. Legislação, Controle e Fiscalização.....	7
2.4. Conservantes adicionados durante a produção do vinho.....	8

2.5. Importância da determinação do nível de dióxido de enxofre.....	9
2.6. Processo de produção do vinho	10
2.7. Processo de conservação do vinho.....	10
2.8. Métodos de determinação de sulfitos.....	12
2.8.1. Método de Ripper modificado	12
2.8.2. Método electroquímico.....	13
2.8.3. Método de Monier-Williams	13
Capítulo III: DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO	16
3.1. Instituto Nacional de Inspeção de pescado (INIP)	16
3.2. Laboratório de Inspeção de pescado (LIP)	16
Capítulo IV: PARTE EXPERIMENTAL	19
4.1. Amostragem	19
4.2. Material e reagentes	19
4.3. Procedimento experimental.....	20
Capítulo V: RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1. Concentração de sulfitos nos diferentes tipos de vinho tinto	21
5.2. Concentração de sulfitos no vinho Orla Marítima.....	22
5.3. Concentração de sulfitos no vinho Clos.....	22
5.4. Concentração de sulfitos no vinho Drostdy-Hof	23
5.5. Concentração de sulfitos no vinho Baronne.....	24
5.6. Concentração de sulfitos no vinho Cellar-Cask.....	24
5.7. Análise estatística	25
5.8. Limitações.....	29
Capítulo VI: CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	30

6.1. Conclusões	30
6.2. Recomendações	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXO	A

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Estrutura da molécula de glutamato monossódico	7
Figura 02: Estrutura da molécula de corante artificial tartrazina	7
Figura 03: Esquema de reacções para obtenção de sulfitos usando o método de Ripper modificado.....	13
Figura 04: Destilação Monier-Williams	14
Figura 05: Esquema de reacções para obtenção de sulfitos usando o método de Monier-Williams.....	15
Figura 06: Localização do INIP	17
Figura 07: Gráfico de dependência de concentração de sulfitos em lotes de diferentes marcas de vinho..	21
Figura 08: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Orla Marítima.....	22
Figura 09: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Clos.....	22
Figura 10: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Drostdy-Hof	23
Figura 11: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Baronne.....	24
Figura 12 Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Cellar -Cask.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Materiais e reagentes usados para a análise de sulfitos.....	19
Tabela 2: Comparação das médias das concentrações de sulfito nas diferentes marcas de vinho.....	27
Tabela 3: Comparação das médias de concentrações de sulfito nos lotes de cada tipo de vinho.....	27

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS DO ANEXO

Tabela I: Resultados de determinação de sulfito em cinco marcas de vinho com limite de confiança de 95%.....	B
Tabela II: Análise de variância das diferentes marcas de vinho.	C
Tabela III: Comparação da média das diferentes marcas do vinho.....	D
Tabela IV: Análise de variância dos lotes do vinho Orla Marítima.....	D
Tabela V: Comparação das médias dos lotes do vinho Orla Marítima.....	E
Tabela VI: Análise de variância dos lotes do vinho Clos.....	E
Tabela VII: Comparação da média dos lotes do vinho Clos.....	F
Tabela VIII: Análise da variância dos lotes do vinho Drostdy-Hof.....	G
Tabela IX: Comparação da média dos lotes do vinho Drostdy-Hof.....	H
Tabela X: Análise de variância dos lotes do vinho Baronne.....	H
Tabela XI: Comparação da média dos lotes do vinho Baronne.....	I
FiguraOI: Titulação da solução obtida pelo hidróxido de sódio.....	J
FiguraOII: Amostra de cinco marcas de vinho tinto.....	J

Capítulo I: INTRODUÇÃO

Sulfitos ou agentes sulfitantes têm uma longa história de uso como ingredientes de alimentos e incluem o dióxido de enxofre (SO₂) e as diversas formas de sulfitos inorgânicos que libertam SO₂ nas condições de uso. Essas substâncias também podem derivar da produção endógena de leveduras durante a fermentação de vinho e cerveja. (Machado, 2007 citado por Tavares, 2014).

Os agentes sulfitantes mais usados pela indústria de alimentos e bebidas são: metabissulfito e bissulfito de sódio ou de potássio. Contudo existe certa preocupação acerca da segurança dos sais de sulfito, pois podem causar dificuldades respiratórias em algumas pessoas sensíveis, reacções alérgicas, como irritação da pele, irritação gástrica e asma (Da Silva, 2007 & Nagato, 2013).

A adição de sulfitos ao vinho serve para ajudar a conservação do vinho. Os sulfitos actuam como agente antimicrobiano, inibindo actividades de bactérias e leveduras prejudiciais para a qualidade do vinho. Actuam também como agente antioxidante, evitando a oxidação dos vinhos e as consequentes alterações de cor, aroma e sabor (Nagato, 2013 & Taylor et al., 1986).

O vinho é uma bebida alcoólica, resultante da fermentação do mosto de uvas frescas, sãs e maduras, por intermédio de microorganismos chamados leveduras, as quais transformam o açúcar do suco da uva em álcool etílico, gás carbónico e uma série de substâncias secundárias em quantidades variadas. Em função disto, o vinho é considerado um produto elaborado, diferenciando-se dos produtos fabricados, caracterizados por misturas de diversas matérias-primas. Os microorganismos que participam na vinificação agem profundamente sobre a composição do vinho e, por isso, são em grande parte responsáveis pelo seu gosto e aromas. No entanto, um controlo rígido desses processos é indispensável visto que, em condições diferentes, podem degradá-lo (Da Silva, 2007).

Para a determinação de sulfitos são usados os seguintes métodos: o método electroquímico, o método de Ripper modificado e o método Monier-Williams. No presente trabalho foi aplicado o método modificado de Monier-Williams. Este método foi o primeiro de vários métodos

analíticos desenvolvidos para determinar os sulfitos em produtos alimentares e bebidas alcoólicas, principalmente o vinho. (Machado et al., 2006 & Hillery et al., 1989).

O método de Monier-Williams quantifica o SO₂ total (sulfito livre mais uma fracção dos sulfitos ligados), por meio do aquecimento da amostra com ácido clorídrico, em atmosfera inerte. O SO₂ libertado é colectado em solução de peróxido de hidrogénio a 3 %, na qual é oxidado a ácido sulfúrico, sendo este estequiometricamente determinado por titulação com hidróxido de sódio. (Nagato, 2013 & Daniels et al. 1992).

1.1. Perguntas de pesquisa

As concentrações de sulfitos nos vinhos mais consumidos em Moçambique estão em conformidade com os valores recomendados pela organização mundial de saúde (OMS/FAO)?
Há diferenças significativas nas concentrações de sulfitos nos diferentes vinhos escolhidos para o estudo?

1.2.Objectivos

1.2.1. Geral:

Determinar o valor real de sulfitos nos vinhos tinto de marcas Drostdy-Hof, Cellar-Cask, Baronne, Orla Marítima e Clos seleccionados para o estudo.

1.2.1. Específicos:

- ✓ Analisar os sulfitos em vinhos mais consumidos em Moçambique usando o método de Monier-Williams;
- ✓ Comparar os dados obtidos com os recomendados pela (OMS/FAO);
- ✓ Avaliar se as concentrações de sulfitos nas diferentes marcas e lotes diferem significativamente ou não.

1.3. Justificativa

Para manter a qualidade de alimentos, quer o seu valor nutricional ou aparência, diversos produtos são adicionados em alimentos como conservante para prolongarem o tempo de vida dos alimentos. Contudo é importante ressaltar que a quantidade de sulfitos adicionada aos alimentos não reflete os teores remanescentes no momento do consumo do produto, devido a perdas que podem ocorrer durante o processamento e armazenamento e que alguns alimentos são consumidos em excesso por algumas pessoas podendo causar inúmeros efeitos adversos à saúde humana relacionada a ingestão desses aditivos alimentares, entre eles náusea, irritação gástrica local e urticária em indivíduos asmáticos sensíveis a sulfitos. Os sulfitos são amplamente utilizados na indústria de vinhos devido à sua capacidade de eliminar bactérias e leveduras indesejáveis ao processo e por auxiliar a extracção de pigmentos. Apresentam ainda acção

antioxidante que protege da oxidação os compostos responsáveis pelo padrão sensorial dos vinhos. O vinho é uma das bebidas mais consumidas pelo homem em especial os residentes provinciais e da Cidade de Maputo tendo em vista o perigo a saúde de alguns indivíduos como os asmáticos, há necessidade de se conhecer a quantidade de sulfitos presentes nos vinhos dos mercados dos arredores da cidade a fim de se comparar os valores encontrados com os valores estabelecidos pela (OMS / FAO). Aliado a isso, este estudo poderá estimular as empresas produtoras de vinho a melhorar o processo de controlo e informação dos agentes sulfitantes adicionados nos vinhos. Para isso, é importante informar ao leitor quais são as funções dos sulfitos na indústria de alimentos, bem como a quantidade que podem estar presente.

1.4. Metodologia para a realização do trabalho

O presente trabalho consistiu nas seguintes fases: revisão bibliográfica; parte experimental; discussão dos resultados e elaboração do relatório final. A pesquisa bibliográfica teve como base a consulta dos livros, revistas electrónicas, artigos científicos físicos e virtuais, teses e dissertações que abordam o tema do trabalho. A parte experimental consistiu na recolha das amostras de cinco marcas de vinho nomeadamente, Drostdy-Hof, Cellar-Cask, Baronne, Orla Marítima e Clos. As análises foram feitas com base no método modificado de Monier-Williams no Laboratório de Inspeção de Pescado de Maputo (LIP) nos meses de Julho e Agosto de 2015.

A análise estatística dos dados foi feita com base na análise de variância (ANOVA), usando o pacote estatístico STATA versão 10 ao nível de significância de 5%. Para a comparação de médias das marcas e de cada lote foi usado o teste estatístico de Fisher-Hayter ao nível de significância de 5%. Para a homogeneidade de variância e distribuição normal dos erros foram feitos teste Breusch-Pagan e Shapiro-Wilk respectivamente, ao nível de significância de 5%.

Com base nos resultados obtidos fez - se comparação entre os valores de concentração de sulfitos encontrados nos diferentes tipos de vinhos com os valores recomendados pela OMS. O relatório foi feito obedecendo as regras de elaboração do relatório do Departamento de Química da Faculdade de Ciências na Universidade Eduardo Mondlane.

Capítulo II: REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Conservantes

Pode-se definir como conservante toda a substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas (Pereira, 2010). São substâncias químicas cuja função é inibir o crescimento de microrganismos no produto, conservando-o livre de deteriorações causadas por bactérias, fungos e leveduras (Favero et al., 2011).

Existem vários conservantes cujo uso depende da sua eficiência num determinado produto, sendo um deles o metabissulfito vulgarmente conhecido por sulfito, o qual é usado em diferentes tipos de produtos. Devido a essas múltiplas funções, os sulfitos são usados em vários produtos como frutas desidratadas, vinhos, sucos industrializados, bebidas carbonatadas, que contenham suco de fruta, biscoitos, geleias e mostarda, hortícolas desidratadas (com excepção da cebola e do alho) frutas e legumes frescos, licores, produtos cárneos como salsichas, peixes e linguças. (Favero et al., 2011).

2.2. Efeitos tóxicos e possíveis malefícios à população causados pelos agentes sulfitantes

Enquanto os aditivos alimentares não representam riscos para a maioria da população, uma pequena parcela desta pode sofrer com reacções adversas causadas por sulfitos ou certos corantes. É importante ressaltar que as reacções causadas por sulfitos são caracterizadas como intolerâncias, e não como alergias. A intolerância alimentar pode ter sintomas semelhantes aos de uma alergia (incluindo diarreia, náusea e dor abdominal), mas o sistema imunológico não é envolvido nas reacções que ocorrem da mesma maneira. A intolerância alimentar ocorre quando o organismo não consegue digerir adequadamente um alimento ou um dos seus componentes (Favero et al., 2011).

As reacções adversas aos conservantes, corantes e aditivos alimentares são raras, mas não devem ser menosprezadas. O corante artificial tartrazina ($C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$), sulfitos e glutamato monossódico ($C_5H_8NO_4Na$) são relatados como causadores de reacções. Na espécie humana os sulfitos podem provocar anafilaxia, urticária, angioedema, hipotensão, náusea, irritação gástrica local, dores de cabeça, distúrbio do comportamento, erupções cutâneas, diarreia e crise asmática em indivíduos asmáticos sensíveis a sulfitos (Favero et al., 2011).

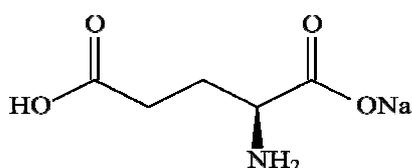


Figura 01: Estrutura da molécula de glutamato monossódico

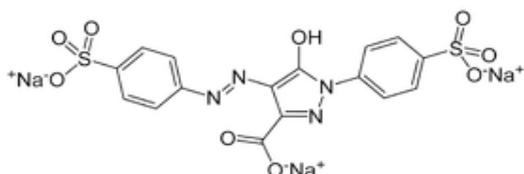


Figura 02: Estrutura da molécula de corante artificial tartrazina

2.3. Legislação, Controle e Fiscalização

Os aditivos sulfitantes possuem legislação específica dependendo do país em que são utilizados. As quantidades adicionadas às bebidas durante o processo de produção ou estocagem das mesmas devem ser limitadas, considerando a menor concentração adicionada para obter o efeito desejado (Brasil, 1997 citado por Tavares, 2014).

Em muitos países, inclusive no Brasil, o controle e a fiscalização de aditivos, em especial sulfitos, seguem como referência as recomendações do JECFA (*Joint FAO/WHO Expert*

Committee on Food Additives) para o uso seguro desses compostos em bebidas e alimentos (Brasil, 1997 citado por Tavares, 2014).

Porém, OMS fixou um máximo de consumo diário de SO_2 equivalente a 0.7 mg por quilo de peso – o que não dá grande margem de manobra. Uma pessoa de 70 quilos terá para a OMS um limite diário de 49 mg de ingestão do anidrido sulfuroso. Meia garrafa de vinho com 150 mg L^{-1} pode fornecer 56 mg de SO_2 . Contudo a OMS recomenda o valor de 100 mg L^{-1} de sulfitos em vinhos (Demoliner, 2008 & Afonso, 2009).

Na Europa exige-se que a quantidade desses aditivos não ultrapasse os valores de 160 mg L^{-1} e de 210 mg L^{-1} para vinhos tintos e brancos, respectivamente, estando a Comunidade Económica Europeia (CEE) responsável pelo controle e fiscalização (Demoliner, 2008)

O vinho tinto necessita então de uma menor dose visto que possui mais compostos fenólicos que por si só são uma defesa natural do vinho contra a oxidação. A concentração máxima de sulfitos nos vinhos tem vindo a ser progressivamente reduzida e a sua presença é de menção obrigatória no rótulo da garrafa quando presente em concentrações superiores a 10 mg L^{-1} .

Diante do exposto, justifica-se a necessidade e o controle da concentração de sulfitos em bebidas e alimentos, sobretudo com o uso de técnicas analíticas na determinação de tais aditivos, já que alguns procedimentos analíticos apresentam dificuldades em decorrência da elevada reatividade desses compostos (Nunes *et al.*, 2012, citado por Vagante, 2012).

2.4. Conservantes adicionados durante a produção do vinho

Nos vários constituintes do vinho encontram-se, igualmente, conservantes que são adicionados durante o processo de produção, sendo que destes o mais importante é o anidrido sulfuroso. O anidrido sulfuroso é adicionado em várias etapas do processo de vinificação devido às suas propriedades antissépticas e antioxidantes. Assim, este composto é adicionado para prevenir o

início prematuro da fermentação, inibindo a acção das bactérias e leveduras presentes na flora natural das uvas e que poderiam levar ao aparecimento de odores e sabores indesejáveis ou conduzir à deterioração do vinho (Nunes *et al.*, 2012 Vagante, 2012).

O anidrido sulfuroso combina-se com o oxigénio livre e inactiva enzimas oxidativas, impedindo, deste modo, a ocorrência das reacções que poderiam conduzir a um conjunto de defeitos de oxidação reflectidas nas qualidades sensoriais do vinho. Também se combina com alguns compostos presentes no vinho inibindo reacções químicas indesejáveis, contribuindo assim para a estabilização de cor e sabor do vinho, mantendo a segurança microbiológica do produto e favorecendo a sua preservação (Nunes *et al.*, & Vagante, 2012).

2.5. Importância da determinação do nível de dióxido de enxofre

A partir da obtenção do mosto, este já recebe uma quantidade de dióxido de enxofre (SO₂) que varia de acordo com o estado sanitário das uvas. Uma parte considerável deste dióxido de enxofre combina-se no momento da sua adição, e no decorrer do processo fermentativo, a porção que permanece livre combina principalmente com o acetaldeído. Esta adição pré-fermentativa tem a função de controlar o desenvolvimento de leveduras, seleccionando-as e de impedir o desenvolvimento de bactérias (Demoliner, 2008).

A adição de dióxido de enxofre neste momento do processo de vinificação também previne as oxidações de ordem química (ocasionadas pelo oxigénio) e as de ordem enzimática (no caso de uvas atacadas por podridão). No transcorrer da fermentação alcoólica é de suma importância o controle da quantidade de dióxido de enxofre empregada, pois uma dose muito elevada pode ocasionar uma parada de fermentação e impedir a realização da fermentação malolática (Demoliner, 2008 & Leclercq *et al.*, 2000).

2.6. Processo de produção do vinho

O vinho fino tinto é feito com uvas da espécie *Vitis vinifera*, essas uvas são específicas para essa utilização, pois acumulam mais açúcares do que as “comuns”, com o maior acúmulo de açúcares melhor é a fermentação do mosto, desde que as uvas viníferas sejam produzidas de forma correcta obedecendo às características do solo, clima e as diversas técnicas viticultoras sejam respeitados conforme o tipo de cada uma (Ferreira et al., 2010).

Para formar novos paladares nos vinhos esses tipos de uvas podem ser misturados uns com os outros originando uma combinação de sabores e aromas, essas combinações são determinadas pelo enólogo que garantirá a formação de um novo vinho agradável ao paladar dos seus consumidores (Ferreira et al., 2010).

O processo de produção do vinho inicia-se com a colheita, ressecção das uvas, esmagamento e desengace, fermentação, afinamento, maturação do vinho, filtragem, engarrafamento e rotulagem, envelhecimento (vinho tinto guarda), análises do vinho e resíduos (Ferreira et al., 2010).

2.7. Processo de conservação do vinho

Sulfitagem do mosto.

O anidrido sulfuroso ou dióxido de enxofre é, há muito tempo empregado como desinfectante onde o enxofre é acrescentado ao mosto antes da sua fermentação, com as seguintes finalidades:

- ✓ Inibir crescimento de bactéria e leveduras indesejáveis;
- ✓ Antioxidar e proteger o mosto do ar;

- ✓ Realizar o efeito selectivo da flora microbiana. O enxofre inibe o crescimento das leveduras não produtoras de álcool, deixando o campo aberto para as produtoras de álcool;
- ✓ Facilitar a dissolução das matérias corantes, permitindo obter vinhos mais coloridos;
- ✓ Activar a reacção de transformação do açúcar em álcool e dióxido de carbono, quando empregado em doses baixas, favorecendo a produção de um vinho com maior teor alcoólico e com menos açúcar. (Santos et al., 2007 & Popolim, 2009).

Fermentação

Após o esmagamento e sulfitagem, as uvas são colocadas em pipas de fermentação. Normalmente essas pipas têm controlo automatizado de temperatura para que desse modo a fermentação seja suficiente para se produzir um bom vinho. Estas pipas permitem a troca de calor. O contacto com o ar deve ser evitado, pois o ar ao entrar em contacto com o vinho provoca a oxidação do mesmo (Ferreira et al., 2010).

Quando terminada a fermentação é acrescentado ácido ascórbico como antioxidante. Em seguida, o vinho é decantado e encaminhado para a segunda fermentação ou a fermentação malolática. Esta fermentação é bastante praticada pelos viticultores franceses. Nesta etapa o ácido málico transforma - se em ácido láctico, menos ácido e menos agressivo, dando sabores especiais ao vinho. Por este facto os vinhos franceses têm um sabor diferente dos demais (Ferreira et. al., 2010).

Sulfitagem do vinho

O uso de anidrido sulfuroso ou dióxido de enxofre é considerado benéfico por muitos enólogos, pois serve para estabilizar o vinho, e evita que haja uma adulteração da sua qualidade. Quando adicionado ao vinho, diminui a cor ao início, que volta depois mais intensa e viva quando o SO₂ se volatiliza. Esta intensificação é consequência da acção corrosiva do gás sobre as paredes das células que contém a matéria corante (Santos et. al., 2007).

As dosagens de enxofre usadas em enologia não são nocivas ao consumidor, pois quando adicionado ao vinho, divide-se em partes: uma parte combina-se com o açúcar, aldeídos, etc. outra oxida - se sob a forma de sulfatos; outra é absorvida por microrganismos do meio e somente a parte livre é que poderá provocar algum problema (Ferreira et al, 2010).

2.8. Métodos de determinação de sulfitos

Diversos métodos são empregados para determinação de sulfitos em bebidas utilizando como princípio a conversão das variadas formas de sulfitos em SO_2 dentre eles destaca-se os seguintes:

2.8.1. Método de Ripper modificado

O procedimento permite a extracção do dióxido de enxofre livre contido na amostra de vinho ou de mosto, fixando-o estavelmente numa solução de hidróxido de sódio. O resultado é uma solução incolor que pode ser facilmente titulada com o uso de iodo. Este procedimento permite a determinação do nível de dióxido de enxofre em vinhos o que tenha sido adicionado o ácido ascórbico. Este procedimento consiste em inicialmente, resfriar a amostra a uma temperatura de aproximadamente 10°C para evitar a extracção do SO_2 adsorvido. Esta amostra é acidificada com ácido sulfúrico e faz-se passar por ela uma corrente de ar constante, a qual arrasta consigo o dióxido de enxofre livre e borbulha, para fixá-lo, numa solução de água destilada e hidróxido de sódio. O hidróxido de sódio permite a fixação, na forma de SO_3 , o SO_2 extraído. O tempo de extracção é de 10 minutos e o líquido incolor obtido é titulado pelo método Ripper, já citado anteriormente. O aparelho realiza de forma automática a titulação do SO_2 livre. O principal inconveniente deste método é o custo da aparelhagem (Gibertini, 2007 citado por Demoliner, 2008, Vahl et al., 1980).



Figura 03: Esquema de reacções para obtenção de sulfitos usando o método de Ripper modificado

2.8.2. Método electroquímico

Este método baseia-se em uma série de eléctrodos que são introduzidos em uma solução aquosa controlada com p^{H} . Dependendo de um determinado electrólito (substância que em dissolução, ou como sólidos fundidos, é capaz de transportar a corrente eléctrica graças aos seus iões). Realizando testes de calibragem é possível saber que uma determinada condutividade corresponde a uma determinada concentração deste electrólito e, assim, é possível medir as concentrações de sulfitos em vinho (Pedaz, 2012 & Trenerry, 1996).

2.8.3. Método de Monier-Williams

Este método determina o sulfito livre mais a parte reprodutível de sulfitos vinculados, tais como adições de produtos de carbonilo em produtos pesqueiros frescos e processados. A amostra é aquecida com refluxo de ácido clorídrico (HCl) para converter o sulfito em dióxido de enxofre (SO_2). O fluxo de nitrogénio que é introduzido na amostra arrasta o dióxido de enxofre para o condensador de água. O SO_2 é borbulhado em solução de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) a 3%, onde é oxidado a ácido sulfúrico. O sulfito contido é directamente proporcional ao H_2SO_4 gerado que é determinado por titulação com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0.01N padronizado (Figura 04).

Este método é aplicável para produtos frescos e processados com níveis de sulfito iguais a 25 ppm. É também aplicável na presença de outros compostos de enxofre volátil. Não é aplicável para cebola seca, alho e couves (Procedimento técnico, 2012).



Figura 04: Destilação Monier-Williams

Reacções:**I. Conversão do sulfito (metabissulfito de sódio) em dióxido de enxofre (SO₂)****II. Oxidação do dióxido de enxofre em trióxido de enxofre (SO₃)****III. Conversão do trióxido do enxofre em ácido sulfúrico (H₂SO₄)****IV. Neutralização do ácido sulfúrico pelo hidróxido de sódio**

Figura 05: Esquema de reacções para obtenção de sulfitos usando o método de Monier-Williams

Capítulo III: DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO

3.1. Instituto Nacional de Inspeção de pescado (INIP)

Segundo o Decreto 18/2005 de 24 de Junho o Instituto Nacional de Inspeção de pescado é uma instituição pública, dotada de personalidade jurídica e autonomia administrativa tutelada pelo Ministério das Pescas actualmente designado Ministério do Mar, Águas Interiores e Pesca. Para o seu funcionamento o INIP conta com o orçamento do estado e receitas provenientes das tarifas cobradas pelos serviços prestados nomeadamente: licenciamento sanitário, certificação sanitária e análises laboratoriais.

3.2. Laboratório de Inspeção de pescado (LIP)

O departamento dos laboratórios é formado por um grupo de cinco laboratórios dos quais o principal encontra - se localizado em Maputo e os restantes na Beira, Quelimane, Nacala e Angoche. O Laboratório de Inspeção de pescado (LIP) é uma unidade de prestação de serviços pertencente ao Instituto Nacional de Inspeção de Pescado (INIP). O laboratório de Maputo encontra-se situado na Rua Tavares de Almeida, recinto do Porto de Pesca, na Baixa da cidade de Maputo (Figura 06).

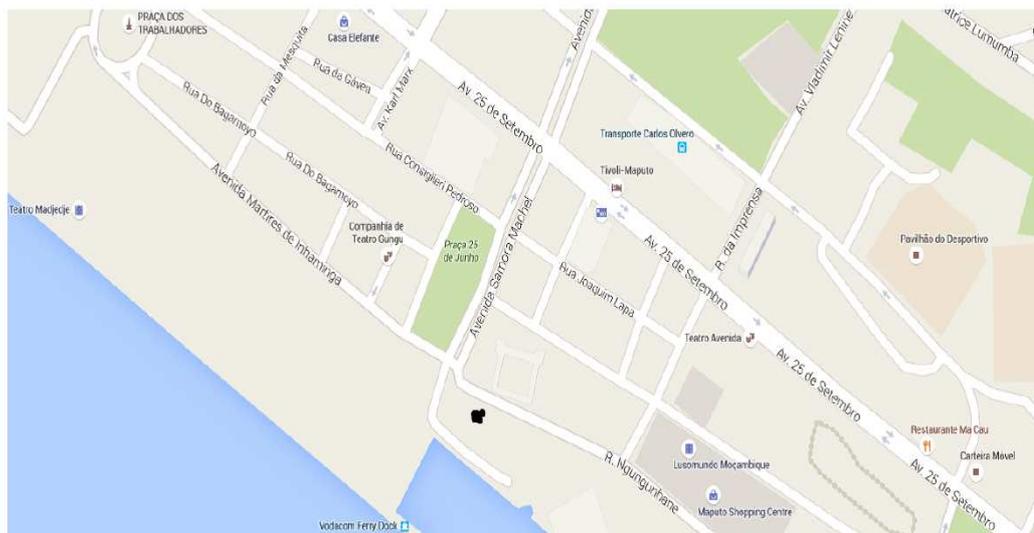


Figura 06: Localização do INIP

Fonte: Google Maps, 2015

O LIP tornou-se laboratório de referência de Inspeção de pescado em Moçambique ao ser acreditado após a auditoria a 1 de Junho de 2012 pelo Instituto Português de Acreditação (I.P.A.C.) e funciona em conformidade com a Norma ISO 17025:2005. Este dedica-se à Inspeção e controlo higiénico-sanitário de pescado de forma a reduzir o risco de colocação de produtos contaminados nos mercados interno e internacional, com destaque a União Europeia.

O LIP é constituído pelas secções de análise físico-sensoriais, de análises microbiológicas e de análises químicas respectivamente:

✓ Secção de análise físico-sensoriais

As amostras são recebidas na recepção seguidas de codificação e encaminhadas para as secções de análises de acordo com a requisição do cliente. De seguida é feito o preenchimento do livro de entrada e preenchimento das fichas de pedido das análises para as secções de análises. Nesta secção são feitas as análises sensoriais e organolépticas, avaliação de embalagem, avaliação da rotulagem, avaliação de peso líquido, avaliação de classificação e análises de defeitos físicos.

✓ Secção de análise microbiológica

Tem como propósito principal efectuar análises com vista a avaliar o grau de contaminação no processo de manuseamento dos produtos de pesca nas salas de processamento por forma a determinar o nível de higiene dos estabelecimentos de processamento e o nível de contaminação do pescado. As principais análises efectuadas nesta secção são: microrganismos totais viáveis, coliformes totais, coliformes fecais, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*; *Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus*.

✓ Secção de análise química

Tem o propósito de detectar e determinar os níveis dos parâmetros de qualidade química e informar se os resultados estão dentro dos requerimentos exigidos pelo país importador. Assim, bases voláteis totais (BVT), trimetilamina (TMA), sulfitos (SO₂), pH, cinzas, gorduras, proteínas, cloretos, histamina, mercúrio etc. podem ser avaliados.

Capítulo IV: PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Amostragem

Adquiriu - se cinco amostras de 750 mL e 1000 mL de vinho tinto das seguintes marcas: Drostdy-Hot, Cellar-Cask, Baronne, Orla Marítima e Clos. A colheita das amostras foi feita no mês de Julho e Agosto em três mercados da cidade de Maputo, nomeadamente: Benfica, Fajardo e Museu donde foram levados directamente para a secção de Química do laboratório.

4.2. Material e reagentes

Tabela 1: Materiais e reagentes usados para a análise de sulfitos

Materiais	Reagentes
Balões de destilação de 500 mL;	Indicador vermelho de metilo;
Balões colectores de 250 mL;	Peróxido de hidrogénio (H ₂ O ₂ a 30%);
Aparelho de destilação;	Hidróxido de sódio (NaOH a 97%);
Provetas;	Ácido clorídrico (HCl a 32-37%);
Suporte de bureta;	Água destilada;
Copos de vidro e plásticos;	Cinco marcas de vinho;
Botija de gás azoto;	Gás azoto;
Bureta;	Etanol (C ₂ H ₅ OH a 98%)
Esguicho;	
Pipetas volumétricas;	
Pipetas graduadas;	
Balança analítica	

4.3. Procedimento experimental

- ✓ Pipetou – se cerca de 25 mL de amostra de vinho e adicionou - se no balão de destilação de 500 mL;
- ✓ Num balão cónico de 250 mL introduziu - se 30 mL de peróxido de hidrogénio a 3% e duas (2) gotas de indicador de vermelho de metilo a 0.25 %. Neutralizou - se a solução com algumas gotas de hidróxido de sódio a 0.01 N até o aparecimento da cor amarela;
- ✓ Procedeu - se á montagem do equipamento de destilação de Monier- Williams;
- ✓ Adicionou - se 45 mL de HCl a 4 N ao balão de destilação de 500 mL e ligou se a manta eléctrica;
- ✓ Ajustou - se o fluxo de gás azoto e ligou - se o fluxo de água;
- ✓ Aqueceu - se a solução á ebulição até se verificar a mudança da cor da solução contida no balão cónico da cor amarela para cor rosa. Este processo decorreu durante 60 minutos;
- ✓ Desligou - se o equipamento. Titulou - se a solução do balão cónico com o hidróxido de sódio a 0.01 N padronizado até á mudança da coloração de rosa para amarelo;
- ✓ Após a titulação calculou-se a concentração do sulfito usando a fórmula 1.

$$C_{so_2} (mg / L) = \frac{V.N.32.1000}{m} \quad \text{Fórmula (1)}$$

onde: C= concentração de sulfito;

V= Volume em ml de NaOH usado na titulação;

N= Normalidade de NaOH;

m = massa da amostra em (g).

Capítulo V: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante o estudo de várias amostras de vinhos estão apresentados na figura 7 e nas tabelas 2 e 3.

5.1. Concentração de sulfitos nos diferentes tipos de vinho tinto

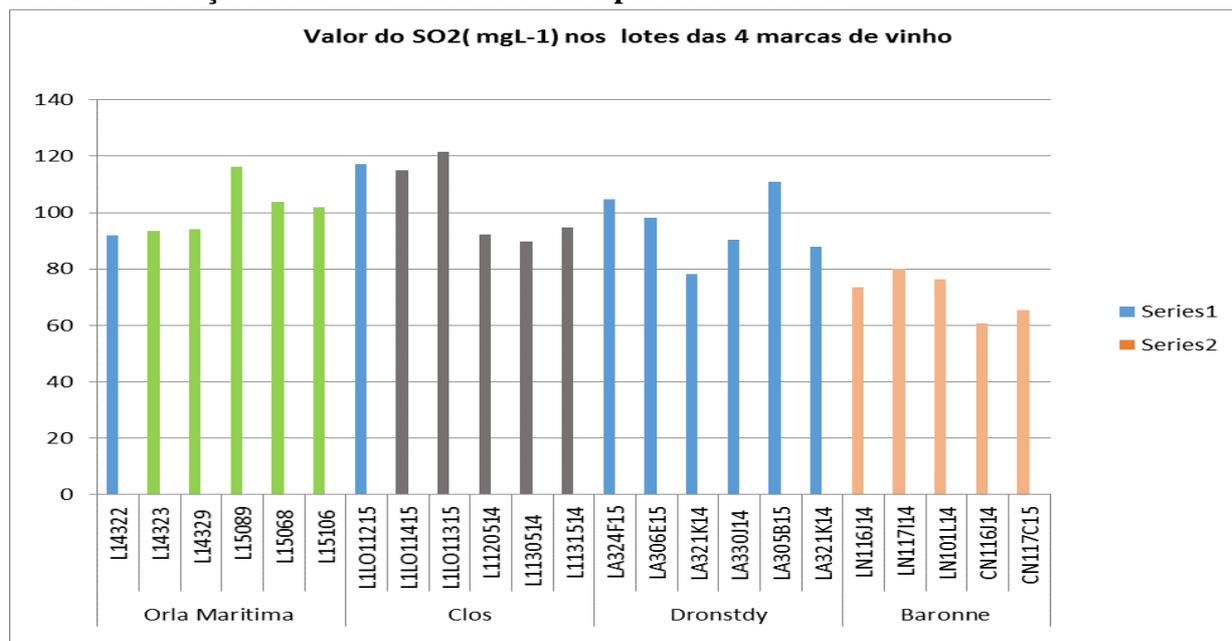


Figura 07: Gráfico de dependência de concentração de sulfitos em lotes de diferentes marcas de vinho

Para avaliar a correlação entre concentração de sulfitos em vinhos analisados e comparar com padrões estabelecidos pela OMS foram calculados os seus valores médios para cada tipo de vinho. Os resultados dos cálculos estão apresentados nas figuras 8-12.

5.2. Concentração de sulfitos no vinho Orla Marítima

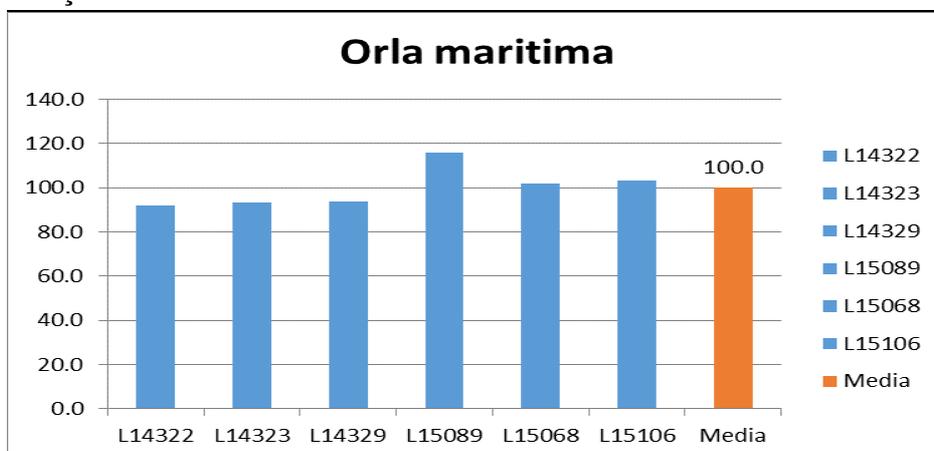


Figura 08: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Orla Marítima

O gráfico Orla Marítima apresentou a concentração mínima de 91.9 mg L⁻¹ para o lote L14322, e a máxima de 115.8 mg L⁻¹ para o lote L15089, e teve uma média de 100 mg L⁻¹.

5.3. Concentração de sulfitos no vinho Clos

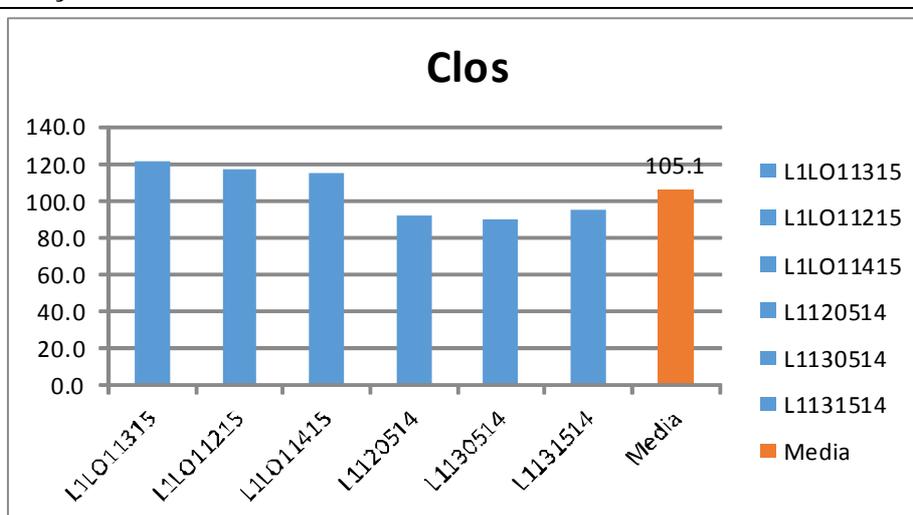


Figura 09: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Clos

Para o gráfico que representa o vinho Clos a concentração mínima foi de 89.7 mg L⁻¹ no lote L1130514 e a máxima de 121.5 mg L⁻¹ e teve uma média de 105.1 mg L⁻¹.

5.4. Concentração de sulfitos no vinho Drostdy-Hof

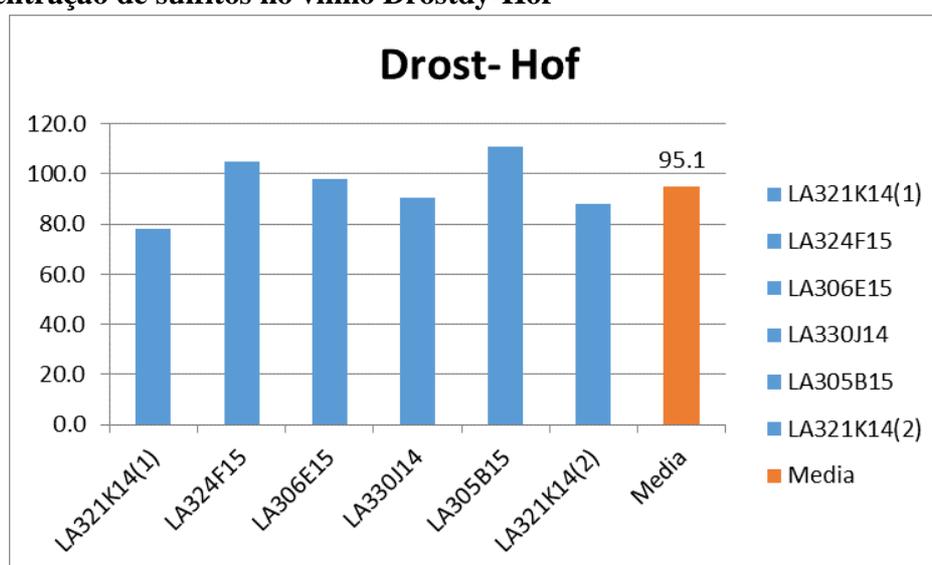


Figura 10: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Drostdy-Hof

O gráfico que representa o vinho Drostdy-Hof teve uma concentração mínima de 78.2 mg L⁻¹ no lote LA321K14 a máxima de 111 mg L⁻¹ no LA324F15, onde a média foi de 95.1 mg L⁻¹.

Nota: As indicações por exemplo 1 e 2 entre parenteses correspondem a diferentes garrafas do mesmo tipo de vinho do mesmo lote.

5.5. Concentração de sulfitos no vinho Baronne

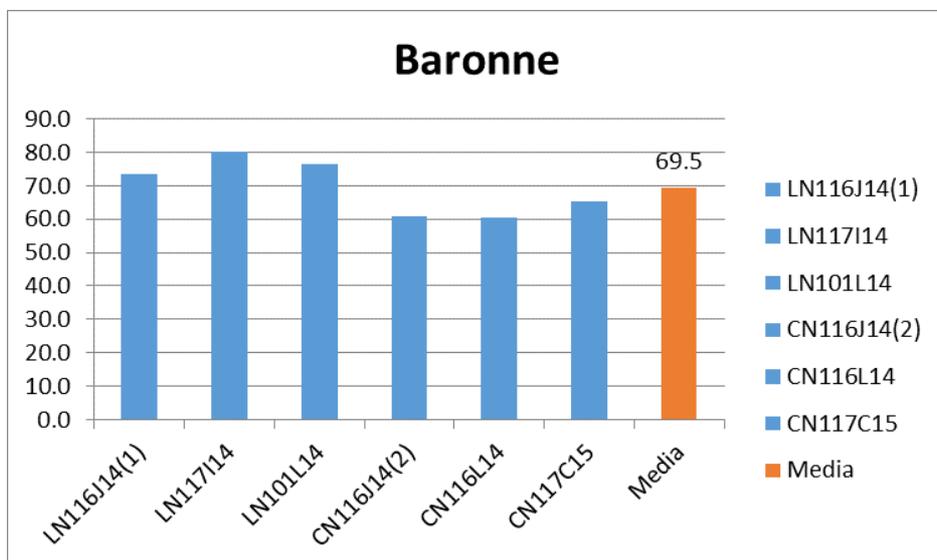


Figura 11: Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Baronne

O gráfico do vinho Baronne apresenta uma concentração mínima de 60.5 mg L⁻¹ lote no CN116J14 (2) e a máxima de 80.2 mg L⁻¹ no lote LN117I14 e uma média de 69.5 mg L⁻¹.

5.6. Concentração de sulfitos no vinho Cellar-Cask

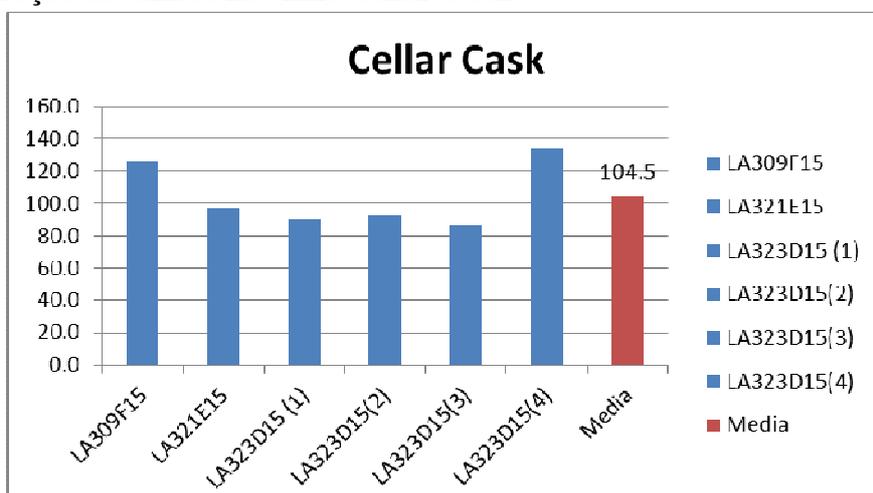


Figura 12 Gráfico de dependência de concentrações de sulfito em lotes do vinho Cellar -Cask

O gráfico do vinho Cellar-Cask apresenta uma concentração mínima de 85.9 mg L⁻¹ no lote LA323D15 (3) e máxima de 134.4 mg L⁻¹ no lote LA323D15 (4) e uma média de 104.5 mg L⁻¹.

As concentrações de sulfitos em todos vinhos analisados variam na média entre 69.5 mg L⁻¹ á 105.1 mg L⁻¹. Para as marcas Orla Marítima, Drostdy – Hof e Baronne as concentrações de sulfitos encontram – se dentro do valor recomendado pela OMS e as marcas Clos e Cellar – Cask as concentrações de sulfitos encontram acima do valor recomendado pela OMS. As marcas Clos e Cellar – Cask apesar de apresentarem valores médios acima do recomendado, as mesmas estão dentro de intervalo de confiança, considerando o seu valor mínimo (tabela 1 do anexo).

5.7. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita com base na análise de variância (ANOVA), usando o pacote estatístico STATA versão 10 ao nível de significância de 5%. Para a comparação de médias das marcas e de cada lote foi usado o teste estatístico de Fisher-Hayter ao nível de significância de 5%. Para a homogeneidade de variância e distribuição normal dos erros foram feitos testes de Breusch-Pagan e Shapiro-Wilk respectivamente, ao nível de significância de 5%.

O modelo estatístico para a análise de variância

a) o modelo estatístico para a análise de variância dos dados das marcas

Modelo de blocos completamente causalizados (DBCC):

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad \text{Fórmula (2)}$$

onde:

Y_{ijk} = Valor do sulfito observado no lote i

μ = Média geral

β_i = Efeito do lote i (i=1...3)

τ_j = Efeito da marca de vinho (j=1...5)

ε_{ij} é o erro aleatório. Assume-se que $\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

b) o modelo estatístico para a análise de variância dos dados dos lotes

Delineamento Completamente Causalizado (DCC):

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{Fórmula (3)}$$

onde:

Y_{ijk} = Valor do sulfito observado

μ = Média geral

τ_i = Efeito do tratamento do lote i

ε_{ij} é o erro aleatório. $\varepsilon_{ij} = 0$ termo erro correspondente ao tratamento i na repetição j e $\varepsilon_{ij} \sim \text{iidN}(0, \sigma^2)$ (iid = identicamente e independentemente distribuídas)

Tabela 2: Comparação das médias das concentrações de sulfito nas diferentes marcas de vinho

Marca	Orla Marítima	Clos	Drostdy	Baronne
Média	101.6536	101.7744	98.4512	71.2517
Comparação	A	A	A	B

Nota: Pares de médias com a mesma letra na linha não diferem com base no teste Fisher-Hayter ao nível de significância de 5%.

Comparando as médias das quatro marcas de vinhos, observa-se que os vinhos Orla Marítima, Clos, Drostdy-Hot não diferem entre si estatisticamente e que as mesmas diferem do vinho Baronne com base no teste Fisher-Hayter á nível de significância de 5%. (**Tabela 2**)

Na base de cálculos estatísticos pode - se dizer que neste caso a quantidade média de sulfito da marca Baronne é menor comparativamente com as outras três marcas.

Tabela 3: Comparação das médias de concentrações de sulfito nos lotes de cada tipo de vinho

Orla marítima	Lotes	L15089	L15106	L15068	L14329	L14323
	Media	115.8274	103.1104	102.0793	93.8701	93.3809
	Comparação	A	B	B	C	C
Clos	Lotes	L1LO11215	L1LO11415	L1131514	L1120514	L1130514
	Media	117.1392	115.0533	94.8616	92.1120	89.7061
	Comparação	A	A	B	B	B
Drostdy- Hof	Lotes	LA305B15	LA324F15	LA306E15	LA330J14	LA321K14
	Media	111.0155	104.6988	98.1609	90.3935	87.9876
	Comparação	A	A	AB	B	B
Baronne	Lotes	LN117I14	LN101L14	LN116J14	CN117C15	CN116J14
	Media	80.2171	76.3283	73.5700	65.3033	60.8351
	Comparação	A	AB	AB	BC	C

Pares de médias com a mesma letra na linha não diferem estatisticamente com base no teste Fisher-Hayter ao nível de significância de 5%.

Em geral, a partir do teste estatístico, verifica-se que existem diferenças significativas das médias dos lotes de cada marca (Tabela 3), podendo - se observar algumas aproximações em certos lotes como por exemplo:

No vinho Orla Marítima, não existe diferença significativa entre os lotes L15106 e L15068, o mesmo verifica - se entre os lotes L14329 e L14323, os dois últimos apresentam média inferior em relação a outros lotes.

Para o vinho Clos, o lote L1LO11215 não difere do lote L1LO11415, observando - se o mesmo nos três restantes lotes.

No vinho Drostdy- Hof o lote LA305B15 não difere estatisticamente do lote LA324F15, o mesmo verifica - se entre os lotes LA330J14 e LA321K14. Contudo, o lote LA306E15 não difere de todos.

No vinho Baronne os lotes LN117I14, LN101L14 e LN116J14 não se diferem significativamente, o mesmo acontece entre os lotes LN101L14, LN116J14 e CN117C15.

Estas diferenças nos resultados podem ser causadas por vários factores tais como: os reagentes usados para análise, a idade e o estado da conservação das amostras no mercado, lavagem das garrafas na fábrica produtora do vinho e o erro humano na preparação do conservante;

5.8. Limitações

Na tabela 1 do anexo está representado o quadro geral que mostra os resultados das análises das cinco marcas de vinho, analisadas no laboratório de inspeção do pescado num total de trinta (30) amostras. Para a análise estatística (ANOVA) foram usadas vinte (20) amostras tendo sido excluída a marca Cellar-Cask porque as suas amostras eram na maioria todas do mesmo lote. Para as restantes marcas nomeadamente Orla Marítima, Clos, Drostdy - Hof e Baronne foram analisadas cinco (5) amostras em cada, porque algumas amostras eram do mesmo lote, tendo sido excluídas 10 amostras na análise estatística.

Capítulo VI: CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.1. Conclusões

No presente estudo foi determinada a quantidade do sulfito nos vinhos seleccionados pelo método modificado de Monier-Williams;

Comparando os valores obtidos com os recomendados pela OMS foi estabelecido que para as marcas Orla Marítima, Drostdy – Hof e Baronne as concentrações de sulfitos encontraram – se dentro do valor recomendado pela OMS com valores de 100 mg L^{-1} , 95.1 mg L^{-1} e 69.5 mg L^{-1} respectivamente e as marcas Clos e Cellar – Cask tiveram as concentrações de sulfitos acima do valor recomendado pela OMS com valores de 105.1 mg L^{-1} e 104.5 mg L^{-1} respectivamente. As marcas Clos e Cellar – Cask apesar de apresentarem valores médios acima do recomendado, as mesmas estão dentro de intervalo de confiança, considerando o seu valor mínimo.

A partir do teste ANOVA, verificou – se que as concentrações de sulfitos em lotes de vinhos em estudo diferem significativamente. Em termos de marcas os vinhos Orla Marítima, Clos e Drostdy-Hof não diferem significativamente. A marca Baronne difere significativamente de todas.

Com base no estudo da determinação de teor de sulfito torna se possível o controlo da dose diária do consumo de vinho para o consumidor levando em consideração ao seu peso corporal.

6.2. Recomendações

Visto que os vinhos apresentam diferenciações em termos de concentrações de sulfitos em marcas assim como em lotes, recomenda – se:

Aos produtores de vinho a melhorar o controlo de qualidade de modo a evitar estas diferenciações que podem alterar a qualidade do vinho;

Aos produtores a declararem qualitativamente a presença de sulfitos nos rótulos antes de apresentarem ao público para evitar o consumo do mesmo com teor de sulfito não especificado;

Ao consumidor o controlo de consumo destes vinhos obedecendo a ingestão diária que é de 0.7mg/ por peso corporal de modo a evitar efeitos adversos que podem prejudicar a saúde humana.

Aos pesquisadores a desenvolverem outros métodos analíticos para determinação de sulfitos no vinho e comparar a sua eficiência;

A fazer - se o mesmo estudo para outros tipos de vinhos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afonso, J. (2009). *Sulfuroso e Sulfitos*. Revista de Vinhos, Acedido em 17 de Abril de 2015 em: <http://www.revistadevinhos.pt/artigos/show.aspx?seccao=segredos-do-vinho&artigo=10595&title=sulfuroso-e-sulfitos&idioma=pt>

Daniels, D. H., Joe, F.L. & Warnner, C.R. (1992). *Survey of sulphites determined in a variety of foods by the optimized Monier-Williams method*. Food Additives and Contaminants, v. 9, n. 4, p. 283-289.

Da Silva, C. F. *Dosagem de sulfito usado como conservantes em vinhos fabricados na região universidade federal do piauí – ufpi*. Campus Universitário Ministro Petrônio Portela. Bloco 06 – bairro ininga, cep: 64049-550 – teresina-pi – Brasil.

Da Silva, K. R. (2007). *Optados para a determinação de SO₂ e O₂*, Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. Departamento de Química Analítica.

Demoliner, F. (2008). *Avaliação de dois métodos analíticos de determinação de dióxido de enxofre livre*. Ministério da Educação, Centro federal de educação tecnológica de Bento Gonçalves, curso superior de tecnologia em viticultura e enologia, Bento Gonçalves.

Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa, no Porto. (2013) *Os sulfitos no vinho: para que servem e que perigo representam?* Acedido em 04 de Novembro de 2015 e http://www-org.rr.pt/rubricas_detalhe.aspx?fid=63&did=105953

Favero, D.M., Ribeiro, C.S.G. & Aquino, A. D. (2011). *Importância dos sulfitos para a saúde e indústria*. Segurança Alimentar e Nutricional. Campinas 18(1): 11-20. Acedido em 12 de Março de 2015 em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/63533/1/2-Favero-et-al-Sulfitos-13-06-2011.pdf>

Ferreira, E.T. D., Rosina, C.D. & Mochiutt, F.G. (2010). *Processo de produção do vinho fino tinto*. Fecilcam campo Mourão- PR. Acedido em 05 de abril de 2015 em: http://www.fecilcam.br/anais_iveepa/arquivos/5/5-02.pdf

Hillery, B. R. & Elkins E.R. (1989). Optimized Monier-Williams method for determination of sulfites in foods: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v. 72, n. 3, p. 470-475.

Leclercq, C Molinaro, M.G. & Piccinelli, R. (2000). *Dietary intake exposure to sulphites in Italy – analytical determination of sulphite-containing foodsand their combination into standard meals for adults and children*. *Food Additives and Contaminants*, v. 17, n. 12, p. 979-989.

Machado, R. M., & Toledo, M.C. F. (2006). *Indústria de alimentos*, Departamento de Ciência de Alimentos Faculdade de Engenharia de Alimentos, Brasil. Acedido em 12 de março de 2015 em: <http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/bjft/2006/p06259.pdf>.

Nagato, L. A. F. (2013). Verificação do método Monier-Williams otimizado na determinação de dióxido de enxofre em sucos de frutas, água de coco e cogumelo em conserva, *Rev Inst Adolfo Lutz*. 72(1):28-40.

Pedraz, C. G. (2012) *Determinam as concentrações de sulfitos no vinho através de um método eletroquímico*. Acedido em 17 de Abril de 2015 em: <http://www.dicyt.com/noticia/determinam-as-concentracoes-de-sulfitos-no-vinho-atraves-de-um-metodo-eletoquimico>.

Pereira, C. (2010). *Determinação de sulfito em vinho universidade federal do espírito santo, centro de ciências agrárias*. Departamento de engenharia rural. Acedido em 17 de Abril de 2015 em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABOZEAB/determinacao-sulfito-vinho>

Popolim (2009). *Análise de sulfitos em sucos de frutas e estimativas de seu consumo por escolares*. Programa de pós- graduação interunidades em nutrição Humana. Tese para a obtenção do grau de doutor. Universidade são Paulo.

Procedimento técnico, (2012). Departamento laboratório Instituto nacional de inspeção do pescado, Maputo.

Santos J., Dias, E., Novais, A., e Machado A. (2007). *Processamento Industrial do Vinho Tinto*, Instituto Politécnico de Coimbra Escola Superior Agrária Coimbra. Acedido em 13 de Março de 2015 em: http://www.esac.pt/noronha/pgs/0708/trabalhos/Processamento_Industrial_Vinho_Tinto_PGA_07_08.pdf.

Tavares M. R. S. (2014). *Um Microanalisador em fluxo batelada para determinação fotométrica de sulfitos em bebidas*, Universidade federal da Paraíba, centro de ciências exatas e da natureza, departamento de química, programa de pós-graduação em química, João pessoa – pb – Brasil. Acedido em 17 de Abril de 2015 em: http://www.quimica.ufpb.br/posgrad/dissertacoes/Dissertacao_Marcio_R_S_Tavares.pdf

Taylor, S. L. Higley, N.A. & Bush R.K. (1986). *Sulfites in foods: uses, analytical methods, residues, fate, exposure, assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity*. *Advances in Food Research*, v. 30, p. 1-76.

Trenerry, V. C. (1996). *The determination of the sulphite content of some foods and beverages by capillary electrophoresis*. *Food Chemistry*, v. 55, n. 3, p. 299-303.

Warner, C. R. (1986). *Revaluation of Monier-Williams method for determining sulfite in food*. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v. 69, n. 1, p. 3-5.

Vagante, C. S. L. (2012). *Efeitos do consumo de vinho na saúde humana: Aspectos positivos e negativos*, Licenciada em Engenharia Biológica e Alimentar. Faculdade de ciências e tecnologia da Universidade de Lisboa Acedido em 18 de Abril de 2015 em: http://run.unl.pt/bitstream/10362/8670/1/Vagante_2012

Vahl, J.M. & Converse J.E. (1980). *Ripper procedure for determining sulfur dioxide in wine: collaborative study*. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v. 63, n. 2, p. 194-199.

ANEXO

Tabela I: Resultados de determinação de sulfito em cinco marcas de vinho com limite de confiança de 95%

Marca	Data da análise	Nr do Lote	Massa, em g		Volumes, em mL		Resultado de SO ₂ em mgL ⁻¹		Médias
			Massa 1	Massa 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	
Orla M. Benfica	7/8/2015	L14322	25.46	25.46	5.60	7.35		91.87	91.9
Orla M. Fajardo	7/8/2015	L14323	25.60	25.56	6.50	7.50		93.38	93.4
Orla M. Museu	7/8/2015	L14329	25.68	26.02	7.55	7.70	93.56	94.18	93.9
Orla M. Benfica	14/07/2015	L15089	25	25	8.4	8.45	115.5	116.2	115.8
Orla M. Fajardo	17/07/2015	L15068	25	25	7.3	7.55	100.4	103.8	102.1
Orla M. Museu	14/07/2015	L15106	25	25	7.6	7.4	104.5	101.7	103.1
Media ± intervalo de confiança									100.0 ± 8.26
ClosBenfica	10/8/2015	L1LO11215	25.14	25.12	9.50	9.00	120.26	114.02	117.1
Clos Fajardo	10/8/2015	L1LO11415	25.04	25.60	9.40	8.90	119.47	110.64	115.1
Clos Museu	10/8/2015	L1LO11315	25.34	25.20	9.90	9.40	124.33	118.71	121.5
ClosBenfica	21/07/2015	L1120514	25	25	6.5	6.9	89.4	94.9	92.1
Clos Fajardo	21/07/2015	L1130514	25	25	6.35	6.7	87.3	92.1	89.7
Clos Museu	21/07/2015	L1131514	25	25	7	6.8	96.2	93.5	94.9
Media ± intervalo de confiança									105.1 ± 13.05
Drostdy Benfica	11/8/2015	LA324F15	25.20	25.58	8.70	8.00	109.87	99.53	104.7
Drostdy Fajardo	11/8/2015	LA306E15	25.62	25.44	8.00	7.75	99.37	96.95	98.2
Drostdy Museu	11/8/2015	LA321K14	25.48	25.38	6.40	6.10	79.94	76.49	78.2
Drostdy Benfica	21/07/2015	LA330J14	25	25	6.7	6.45	92.1	88.7	90.4
Drostdy Fajardo	21/07/2015	LA305B15	25	25	8	8.15	110.0	112.0	111.0
Drostdy Museu	16/07/2015	LA321K14	25	25	6.55	6.25	90.0	85.9	88.0
Media ± intervalo de confiança									95.1.0 ± 10.89
BaronneBenfica	12/8/2015	LN116J14	25.52	25.82	5.90	5.20	73.57		73.6
Baronne Fajardo	12/8/2015	LN117I14	25.40	25.38	6.70	6.10	83.95	76.49	80.2
Baronne Museu	12/8/2015	LN101L14	25.50	25.36	6.40	5.80	79.87	72.78	76.3
Baronne Benfica	17/07/2015	CN116L14	25	25	4.5	4.35	61.9	59.8	60.8
Baronne Fajardo	17/07/2015	CN116J14	25	25	4.3	4.5	59.1	61.9	60.5
Baronne Museu	17/07/2015	CN117C15	25	25	4.65	4.85	63.9	66.7	65.3
Media ± intervalo de confiança									69.5 ± 7.65
Cellar Cask Benfica	12/8/2015	LA309F15	25.30	25.54	9.80	10.40	123.27	129.59	126.4
Cellar Cask Fajardo	12/8/2015	LA321E15	25.68	25.60	7.50	8.10	92.94	100.69	96.8
Cellar Cask Museu	22/07/2015	LA323D15	25.00	25.00	6.7	6.5	92.1	89.4	90.7
Cellar Cask Benfica	21/07/2015	LA323D15	25.00	25.00	6.85	6.65	94.2	91.4	92.8
Cellar Cask Fajardo	22/07/2015	LA323D15	25.00	25.00	6.35	6.15	87.3	84.6	85.9
Cellar Cask Museu	12/8/2015	LA323D15	25.60	25.30	10.80	10.70	134.26	134.59	134.4
Media ± intervalo de confiança									104.5 ± 18.72

Tabela II: Análise de variância das diferentes marcas de vinho.

FV	SQ	GL	QM	F	Prob > F
Var	3271.30156	3	1090.43385	9.92	0.0014
Erro	1319.43355	12	109.952796		
Total	4929.55173	19	259.450091		

Variável	Shapiro-Wilk W test for normal data				
	Obs	W	V	Z	Prob
Erro	20	0.95274	1.119	0.226	0.41059

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticidade Prob > chi2 = 0.5346

Tabela III: Comparação da média das diferentes marcas do vinho

Marca		Marca	Médias		Diferenças de médias	FH-Test
Orla marítima	Vs	Clos	101.6536	101.7744	0.1208	0.0258
Orla marítima	Vs	Drostdy	101.6536	98.4512	3.2024	0.6829
Orla marítima	Vs	Baronne	101.6536	71.2517	30.4019	6.4831*
Clos	Vs	Drostdy	101.7744	98.4512	3.3232	0.7087
Clos	Vs	Baronne	101.7744	71.2517	30.5227	6.5089*
Drostdy	Vs	Baronne	98.4512	71.2517	27.1995	5.8002*

Tabela IV: Análise de variância dos lotes do vinho Orla Marítima

FV	SQ	GL	QM	F	Prob > F
Var	664.438589	4	166.109647	82.15	0.0001
Erro	10.1102458	5	2.02204916		
Total	674.548835	9	74.9498706		

Variável	Shapiro-Wilk W test for normal data				
	Obs	W	V	Z	Prob
Erro	10	0.95314	0.722	-0.541	0.70566

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticidade Prob > chi2 = 1.0000

Tabela V: Comparação das médias dos lotes do vinho Orla Marítima

Lotes		Lotes	Médias		Diferenças de médias	FH-Test
L14323	Vs	L14329	93.3809	93.8701	0.4893	0.4866
L14323	Vs	L15089	93.3809	115.8274	22.4465	22.3238*
L14323	Vs	L15068	93.3809	102.0793	8.6984	8.6509*
L14323	Vs	L15106	93.3809	103.1104	9.7295	9.6763*
L14329	Vs	L15089	93.8701	115.8274	21.9572	21.8372*
L14329	Vs	L15068	93.8701	115.8274	8.2092	8.1643*
L14329	Vs	L15106	93.8701	103.1104	9.2403	9.1898*
L15089	Vs	L15068	115.8274	102.0793	13.7481	13.6729*
L15089	Vs	L15106	115.8274	103.1104	12.7169	12.6474*
L15068	Vs	L15106	102.0793	103.1104	1.0311	1.0255

Tabela VI: Análise de variância dos lotes do vinho Clos

FV	SQ	GL	QM	F	Prob > F
Var	1398.40192	4	349.600481	19.66	0.0029
Erro	88.9142011	5	17.7828402		
Total	1487.31613	9	165.257347		

Variável	Shapiro-Wilk W test for normal data				
	Obs	W	V	Z	Prob
Erro	10	0.91049	1.379	0.570	0.28435

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticidade Prob > chi2 = 1.0000

Tabela VII: Comparação da média dos lotes do vinho Clos

Lotes		Lotes	Médias		Diferenças de médias	FH-Test
L1LO11215	Vs	L1LO11415	117.1392	115.0533	2.0858	0.6995
L1LO11215	Vs	L1120514	117.1392	92.1120	25.0272	8.3932*
L1LO11215	Vs	L1130514	117.1392	89.7061	27.4331	9.2000*
L1LO11215	Vs	L1131514	117.1392	94.8616	22.2776	7.4711*
L1LO11415	Vs	L1120514	115.0533	92.1120	25.3473	7.6937*
L1LO11415	Vs	L1130514	115.0533	89.7061	22.9414	8.5005*
L1LO11315	Vs	L1131514	115.0533	94.8616	20.1918	6.7716*
L1120514	Vs	L1130514	92.1120	89.7061	2.4059	0.8069
L1120514	Vs	L1131514	92.1120	94.8616	2.7496	0.9221
L1130514	Vs	L1131514	89.7061	94.8616	5.1555	1.7290

Tabela VIII: Análise da variância dos lotes do vinho Drostdy-Hof

FV	SQ	GL	QM	F	Prob > F
Var	742.789949	4	185.697487	12.73	0.0078
Erro	72.9436927	5	14.5887385		
Total	815.733641	9	90.6370713		

Variável	Shapiro-Wilk W test for normal data				
	Obs	W	V	Z	Prob
Erro	10	0.96884	0.480	-1.174	0.87989

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticidade Prob > chi2 = 1.0000

Tabela IX: Comparação da média dos lotes do vinho Drostdy-Hof

Lotes		Lotes	Médias		Diferenças de médias	FH-Test
LA324F15	Vs	LA306E15	104.6988	98.1609	6.5380	2.4207
LA324F15	Vs	LA321K14	104.6988	87.9876	16.7113	6.1875*
LA324F15	Vs	LA330J14	104.6988	90.3935	14.3054	6.1875*
LA324F15	Vs	LA305B15	104.6988	111.0155	6.3167	2.3388
LA306E15	Vs	LA321K14	98.1609	87.9876	10.1733	3.7668
LA306E15	Vs	LA330J14	98.1609	90.3935	7.7674	2.8760
LA306E15	Vs	LA305B15	98.1609	111.0155	12.8547	4.7596
LA321K14	Vs	LA330J14	87.9876	90.3935	2.4059	0.8908
LA321K14	Vs	LA305B15	87.9876	111.0155	23.0280	8.5263*
LA305B15	Vs	LA305B15	90.3935	111.0155	20.6221	7.6355*

Tabela X: Análise de variância dos lotes do vinho Baronne

<i>FV</i>	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>QM</i>	<i>F</i>	<i>Prob > F</i>
Var	510.825511	4	127.706378	10.85	0.0111
Erro	58.8352959	5	11.7670592		
Total	569.660807	9	63.2956452		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variável	Obs	W	V	Z	Prob
Erro	10	0.94720	0.814	-0.346	0.63548

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticidade Prob > chi2 = 1.0000

Tabela XI: Comparação da média dos lotes do vinho Baronne

Lotes		Lotes	Médias		Diferenças de médias	FH-Test
LN116J14	Vs	LN117I14	73.5700	80.2171	6.6471	2.7404
LN116J14	Vs	LN101L14	73.5700	76.3283	2.7583	1.1372
LN116J14	Vs	CN116J14	73.5700	60.8351	12.7349	5.2502*
LN116J14	Vs	CN117C15	73.5700	65.3033	8.2667	3.4081
LN117I14	Vs	LN101L14	80.2171	76.3283	3.8888	1.6032
LN117I14	Vs	CN116J14	80.2171	60.8351	19.3819	7.9906*
LN117I14	Vs	CN117C15	80.2171	65.3033	14.9138	6.1485*
LN101L14	Vs	CN116J14	76.3283	60.8351	15.4931	6.3873*
LN101L14	Vs	CN117C15	76.3283	65.3033	11.0250	4.5453
CN117C15	Vs	CN117C15	60.8351	65.3033	4.4681	1.8421



Figura0I: Titulação da solução obtida pelo hidróxido de sódio



Figura0II: Amostra de cinco marcas de vinho tinto