

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE FÍSICA**

CARACTERIZAÇÃO ELEMENTAR DO VINHO GAÚCHO

Carla Eliete Iochims dos Santos



**Porto Alegre
2008**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE FÍSICA

CARACTERIZAÇÃO ELEMENTAR DO VINHO GAÚCHO*

Carla Eliete Iochims dos Santos

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

Porto Alegre, janeiro de 2008

*Trabalho parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao meu amado esposo, Paulo, que me faz ver que cada dia é especial e único, e que “juntos não há estrelas que não possamos alcançar.”

Aos meus pais, Leonoldo e Elisabete. Dentre tantas coisas que me ensinam, aprendi o quanto é valioso ser perseverante, acreditar nos sonhos e ser forte diante das muitas surpresas que a vida nos traz.

Aos meus irmãos, Cláudia e Leandro, meu cunhado Jorge e meu tio Leopoldo. “Por tornarem meus momentos mais felizes”.

Aos meus sogros, Paulo e Thais, pelo carinho.

Aos meus tios, Paulo e Neli, pelo exemplo.

Ao professor Lívio , pela dedicação e por ter aceitado ser meu orientador no final deste trabalho.

Ao professor Johnny, meu orientador, e à Lúcia, pela confiança em meu trabalho e exemplo.

A todos os meus queridos amigos .

À Vinícola Villagio Larentis, do Vale dos Vinhedos, pela colaboração e por estarem sempre de portas abertas para nos receber, esclarecer dúvidas e fornecer amostras.

Aos técnicos do laboratório de Implantação Iônica do IF-UFRGS.

Ao grupo PIXE: Johnny, Liana, Lúcia, Luiza, Rafaela, e Samir, José e Raquel.

ÍNDICE

RESUMO.....7

ABSTRACT.....8

INTRODUÇÃO.....9

CAPÍTULO I – O VINHO

1.1 O Vinho e Fatores Determinantes de sua Qualidade.....11

1.2 Aspectos Históricos do Vinho..... 13

1.3 Videiras e Varietais.....14

1.4 Processo de Elaboração do Vinho.....16

1.4.1 Esquema de Elaboração do Vinho.....16

1.4.2 Vinhos Tintos.....17

1.5 O *Terroir*.....19

1.6 Principais Regiões Brasileiras Produtoras de Vinho.....19

1.7 O Vale dos Vinhedos.....21

1.8 Breve Revisão Sobre o Uso de Técnicas Analíticas no Estudo de Vinhos.....22

CAPÍTULO II – ASPECTOS EXPERIMENTAIS: EQUIPAMENTO, AMOSTRAS E ANÁLISE

2.1 Detalhes do Equipamento de *Particle-Induced X-Ray Emission* (PIXE)25

2.2 Amostras.....27

2.3 Preparação das Amostras30

2.4 Análise dos Dados e Padronização32

CAPÍTULO III – RESULTADOS e DISCUSSÕES

3.1 Resultados de *Rutherford Backscattering Spectrometry* (RBS)34

3.2 Resultados de PIXE: Composição Elementar do Vinho de Acordo com a Região de Produção.....36

3.3	Processo de Elaboração.....	42
3.4	Rolhas.....	47
3.5	Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc e Chardonnay.....	53
3.6	Discussões.....	55
3.6.1	Resultados de PIXE: Composição Elementar do Vinho de Acordo com a Região de Produção.....	55
3.6.2	Processo de Elaboração.....	56
3.6.3	Rolhas.....	59
CONCLUSÕES.....		60
PERSPECTIVAS.....		61
ANEXO I – PIXE, DETECTORES, PADRONIZAÇÃO, AMOSTRAS, GUPIXWIN E RBS		
I.A	PIXE.....	62
I.A.A	Conceitos Básicos de Interação de Íons com a Matéria.....	64
I.A.B	Intensidade dos Raios-X e Concentração Elementar.....	65
I.B	Padronização.....	67
I.C	Detectores Usados em PIXE.....	68
I.C.A	Calibração dos Detectores.....	69
I.C.B	Função Resposta do Detector (<i>Lineshape</i>).....	71
I.C.C	Pile-up.....	71
I.C.D	Absorvedores de Raio-X.....	72
I.C.E	Limite de Detecção.....	72
I.D	Tipos de Amostras.....	74
I.E	GUPIXWIN.....	75
I.E.A	Parâmetros Importantes para Uso do GUPIXWIN.....	76
I.F	RBS.....	79

ANEXO II – PADRONIZAÇÃO DO SISTEMA PIXE DO IF-UFRGS

II.A	Parâmetros Referentes à Calibração de Energia/Canal e de Largura/Energia (Montagem Experimental Atual) para uso do GUPIXWIN e Filtro Utilizado no Detector de Si(Li).....	83
II.B	Padrão de Folhas de Maçã (SRM1515-NIST).....	83
II.C	Padrão de Fígado de Boi (SRM1577b-NIST).....	87
II.D	Padrão de Buffalo River - Sedimento (RM8704-NIST).....	90
II E	Padrão de Músculo de Peixe – DORM (CRM Dorm-2-NRCC).....	94
	REFERÊNCIAS	96

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar, em termos da constituição elementar, vinhos procedentes de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, com ênfase na produção do Vale dos Vinhedos, estabelecendo se existem peculiaridades advindas da região em que o vinho é produzido, e que naturalmente estão relacionados ao ciclo de produção: solo, folha, uva e mosto. Além disto, estudar possíveis influências do processo de armazenamento do produto.

Para tanto, foram utilizadas duas técnicas analíticas, PIXE e RBS.

A análise por PIXE, realizada com o varietal Cabernet Sauvignon, mostrou que os vinhos, em geral, possuem elementos com número atômico entre 11 e 38, como Na, P, S, K, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb e Sr. Foram observadas algumas diferenças nas concentrações de alguns elementos, de acordo com a região de procedência, como, por exemplo, nas concentrações do Mn e do Rb.

Rolhas também foram analisadas. Elementos como P, K, Ca, Ti, e Fe ficam retidos na parte da rolha que manteve contato com o vinho, sendo que este efeito é mais evidente para o Si, com relação aos demais elementos.

Resultados referentes ao processo de cultivo e elaboração mostraram que o Cu é um elemento que apresenta grande variação de uma amostra para outra do ciclo de produção, com maior concentração na folha e no solo e menor concentração no vinho. Outros elementos como Ni e Rb também apresentaram variações no processo de vinificação.

RBS foi usada na determinação da matriz do vinho e das rolhas, que é constituída, no caso do vinho, basicamente por C (68%) e O (32%).

ABSTRACT

In this work we studied the elemental concentration of wines from different regions of Rio Grande do Sul, Brazil, with principal focus in the production stemming from Vale dos Vinhedos.

Two analytical techniques were used, Particle- Induced X-Ray Emission (PIXE) and Rutherford Backscattering Spectrometry (RBS).

The PIXE spectra of wine consisted typically of seventeen elements with atomic number between 11 and 38, as Na, P, S, K, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb and Sr , with some variations in the elemental concentrations between wines from different regions.

We also analyzed the corks. The analysis of the internal side of the cork showed some elements stuck in the cork, as P, K, Ca, Ti and Fe. This result is more evident to Si element.

Analysis of grape cultivation and wine processing samples showed Cu as an abundant element in the soil and leaves. Others elements showed variations in the vinification process, as Ni and Rb.

The matrix composition of the wine was obtained by RBS. It revealed an amount of 32% of oxygen and 68% of carbon approximately.

INTRODUÇÃO

Estudos clínicos e epidemiológicos estabelecem que a ingestão habitual e moderada de vinho, preferencialmente o tinto, traz propriedades importantes de proteção ao organismo humano [1] contra doenças cardiovasculares e desenvolvimento de demências, como doença de Alzheimer, e está relacionado à longevidade.

O vinho tinto é rico em substâncias polifenólicas. Os polifenóis são encontrados na casca da uva e atuam como antioxidantes, inibindo o envelhecimento precoce e proliferação de células cancerosas.

Assim, em vista da importância do vinho para a saúde, além de conhecer suas propriedades fenólicas também é importante saber sua composição elementar. E, uma vez conhecida a mesma, estudar se as várias etapas desde o plantio até o líquido acondicionado na embalagem final (garrafa, caixa, etc.) pode incorporar outros elementos como, por exemplo, metais pesados. A existência dos mesmos no produto final, além de terem o efeito inverso, pois são deletérios à saúde, poderiam comprometer aroma e sabor.

O Rio Grande do Sul é o maior produtor de uvas do país. As uvas são destinadas à produção de vinhos de mesa, vinhos finos, sucos e outros derivados e a vinicultura brasileira tem aqui seu maior pólo de produção, secundado por outras unidades federativas como Pernambuco, Bahia e Santa Catarina. Os vinhos produzidos aqui são, em sua maioria, de videiras plantadas em solo gaúcho, refletindo, portanto, as características do respectivo *terroir*.

O trabalho desta dissertação tem dois principais objetivos. Inicialmente procuramos estudar a composição elementar e estabelecer se existem peculiaridades advindas da região em que o vinho é produzido, e que naturalmente estão relacionados ao ciclo de produção: solo, folha, uva e mosto. Neste sentido, comparamos os vinhos do Vale dos Vinhedos com os de outras regiões da Serra Gaúcha, do estado e de dois países vizinhos. Como segundo objetivo, procuramos estudar a eventual influência do processo de armazenamento final do vinho, seja na tradicional garrafa e rolha ou nas recentes caixas de tetrapak.

A identificação da composição elementar foi realizada através da técnica de análise PIXE (*Particle- Induced X-Ray Emission*) que, basicamente, consiste na incidência de um feixe de prótons de alta energia em determinada amostra, resultando na emissão de raios-x característicos dos elementos presentes na mesma.

Com os resultados obtidos esperamos adicionar informações a respeito da constituição elementar do vinho e, de algum modo, contribuir para novas pesquisas em tecnologia , cultivo de videiras e elaboração da bebida.

No CAPÍTULO I desta dissertação, abordaremos alguns assuntos relacionados ao vinho, como sua história, videiras, processo de elaboração, *terroir*, principais regiões brasileiras produtoras, em especial Vale dos Vinhedos, e estudos realizados sobre sua composição elementar.

No CAPÍTULO II, faremos uma breve descrição dos aspectos experimentais, como equipamento, amostras e preparação das mesmas, e de alguns tópicos referentes à análise.

No CAPÍTULO III, citaremos e, no final, discutiremos os resultados.

Por último, faremos as conclusões e apresentaremos nossas perspectivas, seguidas de dois anexos.

O primeiro anexo contém a descrição da técnica PIXE (princípios básicos de interação de íons com a matéria, intensidade dos raios-x e concentrações elementares), detectores (calibração, função resposta, pile-up, absorvedores de raio-x e limite de detecção), tipos de amostras, GUPIXWIN (parâmetros importantes para uso do programa) e RBS.

O segundo anexo contém a descrição e os resultados da padronização do sistema PIXE do IF-UFRGS, realizada com quatro diferentes padrões.

CAPÍTULO I - O VINHO

1.1 O VINHO E FATORES DETERMINANTES DE SUA QUALIDADE

Vinho, no contexto geral, é uma bebida alcoólica proveniente da fermentação do suco da uva. Além da uva, sucos de outras frutas, como a maçã, também podem fermentar, produzindo uma bebida conhecida como “vinho de maçã”. É composto, basicamente, por água, álcoois, substâncias polifenólicas e minerais. Estes constituintes interferem conjuntamente na qualidade do produto final. “Qualidade do vinho” é um termo abrangente, relacionado ao ciclo de produção do vinho e à degustação [2].

Segundo o Dr. Celito Crivellaro Guerra, da Embrapa Uva e Vinho, “a qualidade do vinho é, em última análise, a manifestação de sua composição química. Os vinhos são constituídos de água, álcoois, açúcares, ácidos orgânicos, proteínas e seus produtos de constituição, polifenóis, substâncias aromáticas, minerais e vitaminas. Cada grupo é composto por dezenas ou centenas de compostos químicos. A tarefa de uní-los harmoniosamente é complexa, a tal ponto que a ciência enológica assemelha-se à arte”. [3]

A qualidade química e organoléptica do vinho e sua longevidade estão diretamente ligadas aos compostos fenólicos, em especial, com os antocianos e taninos. Antocianos, responsáveis pela cor do vinho, são encontrados nos vacúolos das células das películas da casca da uva. Os taninos, extraídos da película e das sementes durante a fermentação e maceração, possuem propriedades gustativas, caracterizando-se principalmente pela adstringência. O teor destes compostos depende da *maturação fenólica*. O ponto ideal de maturação depende da variedade, das condições naturais da região e do cultivo do vinhedo. A análise da maturação fenólica deve ser realizada por um enólogo antes da colheita das uvas, de forma que o potencial fenólico seja aproveitado em sua totalidade.

Os compostos fenólicos variam estruturalmente durante todo o processo de vinificação e envelhecimento. Através de reações com outros polifenóis, proteínas e minerais do vinho, produzem outros compostos que melhoram a qualidade e contribuem para a estabilidade da cor do vinho. O vinho evolui como um “ser vivo”. A qualidade sensorial ou de degustação evolui durante a vinificação. Sua qualidade é crescente durante a

estabilização, atingindo um ponto máximo durante o envelhecimento. A partir de então, decresce até atingir uma mudança total da cor, aroma e sabor. O intervalo de tempo para tal mudança depende claramente da estrutura química do vinho uma vez que está diretamente relacionada com a longevidade do mesmo [4].

Em resumo, a qualidade do vinho depende principalmente do *terroir*, ou seja, da combinação dos fatores naturais e de manipulação humana presentes durante todo o processo de produção da bebida. Portanto, sempre houve desenvolvimento e a aplicação de tecnologias na vitivinicultura e, no nosso meio, aconteceu grande avanço nos últimos anos. O sistema de condução dos vinhedos é um exemplo. Na Serra Gaúcha e, em especial no Vale dos Vinhedos, os produtores têm adotado o método de manejo em *espaldeira*, para um melhor aproveitamento dos raios solares incidentes nos frutos.

Além de garantir a qualidade e longevidade do vinho, os compostos fenólicos também estão relacionados à saúde e longevidade humana. Muitos são os estudos que comprovam benefícios da ingestão diária e moderada de vinho, principalmente do vinho tinto. Em uma pesquisa realizada recentemente com modelo animal, foi constatado que a ingestão de vinho tinto varietal Cabernet Sauvignon está relacionada à atenuação do risco da doença de Alzheimer e outras neuropatologias [5]. O resveratrol, um importante composto fenólico encontrado na casca da uva, possui grande poder antioxidante, atuando como importante inibidor do LDL (conhecido popularmente como colesterol ruim) ao oxidar sua molécula antes que a mesma obstrua as artérias. Além disso, o resveratrol também está ligado à longevidade, mas o processo pelo qual isto ocorre é menos conhecido, sendo objeto de muito estudo na literatura da área [6].

O vinho também contém quantidades significantes de alguns elementos essenciais para suprir as necessidades diárias, por exemplo, de uma dieta alimentar adulta. Tais elementos, por outro lado, podem influenciar as características organolépticas do vinho. Além destes, podem estar presentes na composição do vinho elementos que, em determinados níveis, tornam-se tóxicos ao organismo humano, como Pb [7]. O monitoramento da composição elementar do vinho é, portanto, de relevante interesse para os vinicultores, enólogos e consumidores. Com tal objetivo, vários estudos já foram realizados, como será visto na seção 1.8.

Dada a influência da composição elementar nas características sensoriais do vinho, é de interesse deste trabalho averiguar, através da técnica PIXE, se há e quais são as diferenças elementares entre vinhos produzidos no Vale dos Vinhedos e aqueles provenientes de outras áreas de produção da própria Serra Gaúcha, Campanha Gaúcha e região central do estado.

1.2 ASPECTOS HISTÓRICOS DO VINHO

O vinho é uma coisa maravilhosamente apropriada ao homem, tanto na saúde como na doença, se bebido com moderação e na medida exata, conforme a constituição de cada indivíduo.
Hipócrates 460-367 a.C.

A história da produção do vinho começou a ser escrita por volta de 6500-6000 anos AC. Gregos e romanos tiveram papel importante na difusão da cultura do vinho em suas várias colônias, como Itália, França e Espanha. Em diferentes culturas e países, o vinho foi se firmando como uma importante bebida no que diz respeito à socialização e comercialização.

No Brasil, a história do vinho data de 1532, quando as primeiras videiras aportaram, juntamente com o colonizador português Martim Afonso de Souza, na Capitania de São Vicente, atual estado de São Paulo, mas o primeiro vinho brasileiro foi produzido somente em 1551. A produção inicial de vinhos era de caráter familiar, para consumo próprio e comércio restrito [8].

Somente em 1875, com a instalação dos imigrantes italianos no Rio Grande do Sul, mais precisamente na região serrana, a produção vinícola começou a desenvolver-se de fato. Além da tradição de mais de dois mil anos no trato com uvas e vinhos, eles trouxeram ramos de videiras de suas regiões de origem e conferiram grande importância à atividade vinícola neste estado, produzindo, nove anos após sua instalação, 8.490.000 litros de vinho [9].

A partir de então, vários fatores contribuíram para a expansão da indústria vitivinícola, principalmente no século XX e início do século XXI, como a implementação de novas tecnologias no cultivo das videiras e no processo de vinificação. Além disto,

pequenos viticultores, que forneciam matéria prima para grandes empresas produtoras de vinho, passaram a investir na qualificação do cultivo de diferentes variedades e produção própria de vinhos.

1.3 VIDEIRAS E VARIETAIS

Dentre as espécies de videiras, destaca-se a *Vitis vinifera*, uma espécie de origem européia, especial para a produção de vinhos finos. Espécies de origem americana, geralmente híbridas, ou seja, originadas do cruzamento genético de duas espécies já existentes, são usadas para consumo *in natura*, elaboração de sucos e produção de geléias. Algumas poucas são usadas na produção de vinhos de mesa, como a *Vitis labrusca*, da qual se produz o vinho Concord.

Dentro de cada espécie, há várias *cepas* ou *castas* ou *variedades*, como a Cabernet Sauvignon, Merlot e Cabernet Franc, no caso da *Vitis vinifera*. Em termos de produção, quando uma variedade é usada como uva predominante na elaboração de um vinho (mínimo de 75%), tem-se um vinho considerado como sendo constituído de uma única variedade. Este tipo de vinho é conhecido como *varietal*.

Algumas das variedades de uvas brancas e tintas mais conhecidas no Brasil estão resumidamente listadas na tabela 1.1.

A videira, tal como outras plantas, passa por diferentes estágios ou ciclos ao longo do ano, tais como período de repouso, brotação, crescimento, floração, troca de cor (os ácidos dão lugar aos açúcares), amadurecimento e amolecimento da casca. Nesta fase, começam as análises de maturação fenólica. No sul do Brasil, o período de repouso ocorre entre os meses de abril e agosto. Nestes meses, a planta perde folhas e entra em estado de latência, período em que acumula substâncias de reserva para o ciclo seguinte. Realiza-se o plantio e a enxertia de plantas novas, e a adubação e poda de inverno (poda seca) dos ramos não produtivos.

Entre agosto e dezembro, tem-se o período de brotação e crescimento. As folhas brotam, ocorre a produção e circulação de seiva (*Lacrima vitis* ou *choro da videira*). É a época da capina. Depois dos rebentos e das folhas, a videira apresenta os botões de flor. É a

floração. A partir de então, ocorre a fecundação e os bagos iniciam o processo de *maturação*, que é um processo lento uma vez que o grão passa por diferentes estágios.

O período a seguir está compreendido entre dezembro e março. Os bagos crescem e alteram sua composição química e coloração. Após isto, passam para fase de amadurecimento, na qual atingem o grau ideal de açúcar e maturação fenólica para a produção de vinho. Inicia-se, então, a vindima, que consiste na colheita ou apanha da uva. Em um sentido mais amplo, é o período que compreende a colheita e o início da produção do vinho.

Tabela 1.1: Variedades de uvas brancas e tintas mais conhecidas no Brasil.

Uvas Tintas	Uvas Brancas
Cabernet Sauvignon: originária da região de Bordeaux, França. O cacho é pequeno e médio e as bagas são pequenas. É um dos vinhos nobres da vitivinicultura e combina com o envelhecimento em barrica de carvalho.	Chardonnay: de origem francesa, região de Borgonha. Seu vinho é rico em aromas e, no Brasil, é geralmente degustado quando jovem. É um vinho de grande aceitação no mercado.
Merlot: também originária de Bordeaux. O vinho pode ser um varietal ou ser cortado com outras uvas, como a Cabernet Sauvignon. Pode também ser degustado ainda jovem.	Moscato: há muitas variedades com esta denominação, originárias provavelmente do Oriente Médio. Destina-se especialmente à produção de vinho licoroso e do espumante moscatel.
Pinot Noir: a origem é francesa, da região de Borgonha. Tanto o cacho quanto a baga são pequenos.	Riesling Itálico: sua origem é desconhecida. No Brasil, foi a primeira casta nobre a ser utilizada na elaboração do vinho branco. Seu vinho é fino e delicado, com intensidade média.
Tannat: originária da região francesa Mediran. Atualmente, é a principal uva cultivada no Uruguai. Seu vinho é rico em compostos fenólicos e permite o envelhecimento prolongado.	Sauvignon Blanc: de origem francesa, esta uva possui cachos e bagas pequenos. Pode ser utilizada na elaboração de vinhos licorosos de ótima qualidade. Seu vinho é seco e fino.

1.4 PROCESSO DE ELABORAÇÃO DO VINHO

O processo de elaboração do vinho começa com a recepção das uvas na vinícola. Antes, porém, as uvas são colhidas manualmente (vindima), na maioria em cantinas e pequenas empresas familiares, e levadas até a vinícola por caminhões. Geralmente são colhidas no mesmo dia do processamento ou um dia antes, o que dispensa o uso de câmaras frias. A partir deste momento, vinhos tintos, brancos, rosés e espumantes são elaborados seguindo diferentes passos.

Nosso estudo foi realizado com amostras da variedade Cabernet Sauvignon. Portanto, um enfoque maior será dado à elaboração de vinhos tintos e menor ênfase nos demais.

1.4.1 ESQUEMA DE ELABORAÇÃO DE VINHOS

O processo de elaboração de vinhos tintos, rosés, e brancos, está esquematizado na figura 1.1.

Vinhos brancos são geralmente elaborados a partir de uvas brancas, mas também podem ser produzidos a partir de uvas tintas e rosadas, o que exige que a prensagem ocorra logo após o esmagamento.

Vinhos rosés são elaborados a partir de uvas tintas. A maceração a frio ocorre por algumas horas, somente para extração da cor desejada. A partir da *deburragem*, processo de decantação do mosto de um dia para outro para separação dos sólidos em suspensão, vinhos brancos e rosés seguem as mesmas etapas de vinificação.

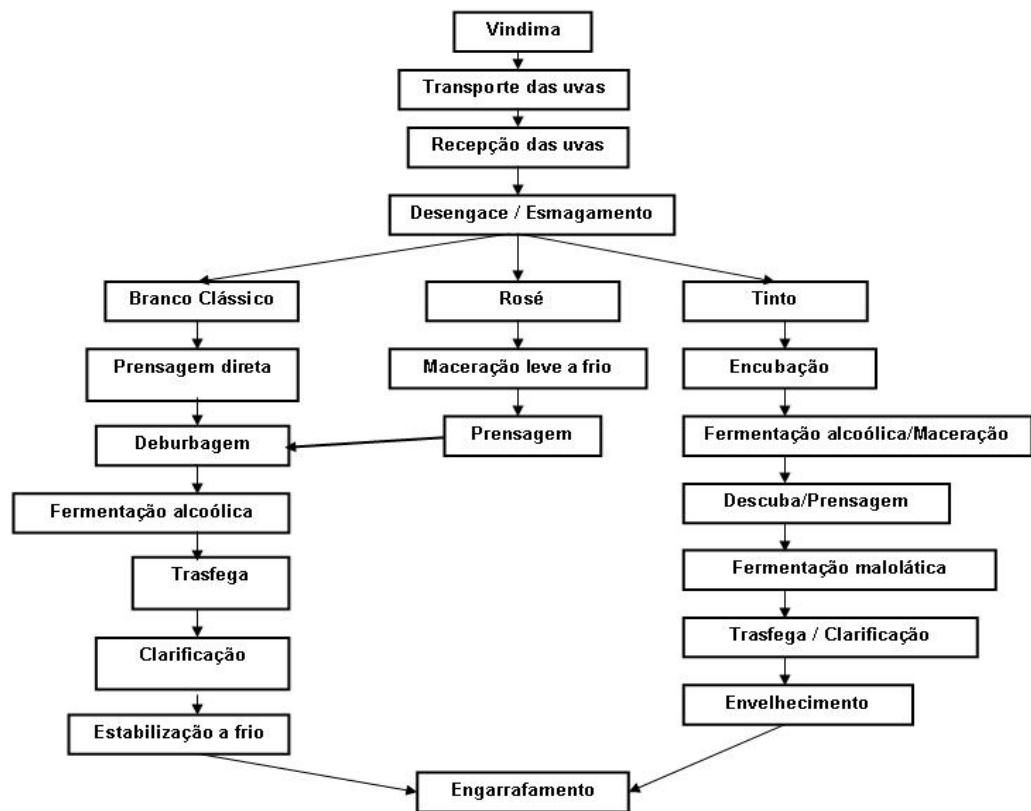


Figura 1.1: Esquema do processo de vinificação.

1.4.2 VINHOS TINTOS

Esta descrição do processo de elaboração é feita com base nas observações realizadas na Vinícola Villagio Larentis, Vale dos Vinhedos, colaboradora deste trabalho. Vale salientar que cada vinícola tem suas particularidades no processo de vinificação.

Após o recebimento da matéria-prima, a uva passa pelo *desengace* e *esmagamento*. Desengace é o processo de eliminação das partes lenhosas dos cachos das uvas. Durante o desengace, deve-se ter cuidado para não triturar a ráquis (componente do cacho), devido à possibilidade de sabores indesejáveis serem acrescentados ao vinho. O esmagamento é feito para que o mosto seja liberado. O mesmo é direcionado para tanques em inox (*encubação*),

onde ocorre a *fermentação alcoólica*. Para isto, é adicionado ao mosto metabissulfito de potássio e leveduras selecionadas. A fermentação, no caso de vinhos tintos, se dá juntamente com as cascas, pois simultaneamente ocorre a *maceração*, para extração dos antocianos, com dissolução dos pigmentos, e taninos. Para manter a massa homogeneizada são realizadas *remontagens*, que consiste na movimentação das partes líquidas e sólidas, uma vez que as partículas em suspensão sobem para a superfície pelo efeito da fermentação e do gás carbônico. As remontagens são necessárias para evitar doenças bacterianas que possam prejudicar as características do produto, como a cor. O período de fermentação se estende de seis a vinte dias (ou mais, dependendo da estrutura que o vinho irá adquirir).

Após esta etapa, ocorre a *descuba*, em que a parte líquida é separada da parte sólida. A parte sólida é então prensada para que o líquido contido nos bagos seja extraído.

A *fermentação malolática* é a fase a seguir, a partir da qual já pode-se falar em “vinho” (no caso, tem-se um vinho que é novo). O ácido málico é transformado naturalmente em ácido láctico pela ação de bactérias lácticas. O resultado é a diminuição da acidez e o aumento da complexidade pela formação e evolução temporal dos três distintos aromas do vinho: aromas varietais (primários), aromas de fermentação (aromas secundários) e de envelhecimento. Este último é a soma dos aromas primários e secundários. Com o tempo, as partículas em suspensão podem se depositar no fundo das pipas, ou tanques, que contém o vinho. É necessário que a *trasfega* seja realizada, ou seja, a transferência do vinho para uma pipa nova e limpa. Após a *trasfega*, talvez o vinho necessite ser clarificado, através do processo de *clarificação*. A clarificação é realizada se o vinho novo é turvo, não sendo um passo rotineiro do processo de elaboração, com o uso de bentonites (rochas vulcânicas), dióxido de Si, dentre outros. Durante estas últimas etapas, é importante tomar cuidado com a formação da acidez volátil (características de vinagre) no vinho.

A última fase é a de *evolução*. O vinho pode ser envelhecido em garrafas, em tanques ou barricas de carvalho, dependendo do varietal, da safra e do tipo de estrutura que se deseja agregar ao vinho. Durante o envelhecimento, o vinho adquire estrutura e aromas complexos.

Todas estas fases devem ser observadas e controladas pelo enólogo, que é o responsável pelo acompanhamento e definição do início e final de cada uma delas.

1.5 O TERROIR

Terroir é um termo de origem francesa, cujo conceito foi importante na busca das “denominações de origem” [8].

Literalmente, este termo designa o “terreno” onde um vinhedo está localizado. No entanto, seu significado é muito mais amplo. Designa as especificidades do solo, clima, variedades usadas, métodos de vinificação e demais fatores responsáveis pela qualidade do vinhedo e do respectivo vinho, uma vez que o vinho possui características organolépticas que são a expressão dos fatores naturais e humanos presentes no processo de produção e elaboração. Segundo Jorge Tonietto, “o termo *terroir* apresenta uma coerência geográfica, sócio-econômica e jurídica. Na verdade ele está na base do conceito das denominações de origem” [10].

Terroir é um grupo de vinhas ou vinhedos pertencentes a uma mesma região, de denominação específica, e compartilham o mesmo tipo de solo, condições climáticas e de produção de uvas e vinhos, que contribuem para dar uma personalidade específica ao vinho.

Os elementos do *terroir* podem ser resumidos em: solo, clima, videiras, condições de cultivo e de elaboração da bebida.

1.6 PRINCIPAIS REGIÕES BRASILEIRAS PRODUTORAS DE VINHO

As principais regiões produtoras de vinhos finos no Brasil estão localizadas nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e no Vale do São Francisco (estados de Pernambuco e Bahia). Há ainda outras regiões citadas como produtoras de vinhos, mas não necessariamente vinhos finos, como São Roque, no estado de São Paulo e a região Sul de Minas Gerais, que produzem vinhos de mesa.

No Rio Grande do Sul, a cultura vitivinícola está presente em três diferentes regiões. São elas: Serra Gaúcha, Serra do Sudoeste e Campanha Gaúcha (figura 1.2).

A Serra Gaúcha está localizada a nordeste do estado e é a região de destaque na vitivinicultura brasileira, pelo volume e qualidade dos vinhos que produz. Campos de Cima da Serra, Bento Gonçalves, Caxias do Sul, Flores da Cunha, Garibaldi, Vale dos Vinhedos,

Vinhedos de Monte Belo, dentre outras, estão entre as aproximadamente dezessete sub-regiões desta grande região produtora.

A Serra do Sudoeste está situada entre as cidades de Pinheiro Machado e Encruzilhada do Sul. As temperaturas médias baixas e o baixo índice pluviométrico favorecem a qualidade desta vinicultura.

A Campanha Gaúcha fica próxima à fronteira com o Uruguai. Apresenta boas condições climáticas para a vitivinicultura e vem despontando como importante região produtora de vinhos finos no Brasil.



Figura 1.2 :Mapa das regiões gaúchas produtoras de vinhos finos

Em Santa Catarina, o Planalto Catarinense caracteriza-se pelas condições especiais, como altitude relativamente elevada e temperaturas médias baixas, para uma vitivinicultura de qualidade. Está localizado entre as cidades de Lages, Bom Retiro e São Joaquim.

O Vale do São Francisco é a região brasileira da vitivinicultura tropical. Segundo a EMBRAPA, a produção de vinhos finos nesta região já está em torno de cinco milhões de litros por ano.



1.7 O VALE DOS VINHEDOS

“O aroma adocicado da uva. O sabor do vinho. Os segredos de um enólogo. Os mistérios da natureza. O Vale dos Vinhedos é um lugar consagrado ao lado bom da vida.” (Aprovale)

O Vale dos Vinhedos localiza-se na Serra Gaúcha, junto à cidade de Bento Gonçalves - a Capital Brasileira do Vinho - e entre os municípios de Garibaldi e Monte Belo do Sul.

É constituído por uma área de aproximadamente 81.123 km², cuja delimitação geográfica considera o perfil do solo e as características topográficas e topoclimáticas. A tabela 1.2 contém as principais informações do Vale dos Vinhedos.

Tabela 1.2: Características do Vale dos Vinhedos.

Perfil do Vale dos Vinhedos	
Altitude	742 m
Área total	81.123 m ²
Área com vinhedos	26%
Área para plantio	31%
Vinícolas associadas	32
Temperatura média anual	entre 16°C e 18°C

Segundo o INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial – a indicação geográfica, que é a indicação de procedência, confere ao produto uma identidade própria, estabelecendo uma ligação entre as características do produto e sua origem e criando assim um fator diferenciador entre aquele produto e os demais disponíveis no mercado, tornando-o mais confiável. Em outras palavras, a denominação de origem valoriza a originalidade do produto, com as suas peculiaridades de acordo com a região.

Em 1995, através da união de seis vinícolas foi criada a Aprovale (Associação dos Produtores de Vinhos Finos do Vale dos Vinhedos), visando a obtenção de uma

denominação de origem. O objetivo foi alcançado seis anos depois, após todos os passos necessários junto ao INPI para tal. Foi também necessária a criação de um Conselho Regulador, em 2001, responsável pela gestão e preservação da indicação geográfica. Surgia então o Selo de Controle Vale dos Vinhedos, exclusivo para vinhos e espumantes elaborados com uvas provenientes do Vale e engarrafados no mesmo. Além disso, para estar apto a receber o selo, o produto deve ser aprovado em rigorosos testes realizados por especialistas no assunto da Embrapa Uva e Vinho e da Aprovale.

Os selos têm número para controle. Ligam a cápsula à garrafa, como um lacre, distinguindo-as das demais.

Para ter o selo de Indicação de Procedência do Vale dos Vinhedos (I.P.V.V.), o produto deve satisfazer às seguintes condições:

1. Ter comprovada a origem da uva, da elaboração e engarrafamento do vinho;
2. Obter a aprovação em testes organolépticos e analíticos e de degustação, realizada por técnicos da Embrapa Uva e Vinho e da Aprovale;
3. A respectiva vinícola deve estar localizada no Vale e ser associada à Aprovale.

Os dados de 2006, de acordo com a Aprovale, mostram 32 vinícolas associadas à instituição e 24 associados não produtores de vinhos. Neste mesmo ano, 27 diferentes vinhos foram aprovados para a obtenção do selo I.P.V.V.

O Vale dos Vinhedos é a primeira região brasileira a obter a indicação geográfica na produção vitivinícola.

1.8 BREVE REVISÃO SOBRE O USO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS NO ESTUDO DE VINHOS

Diferentes técnicas de análise têm sido usadas na quantificação elementar dos vinhos e também de espumantes. O conteúdo elementar de vinhos brasileiros comercializados no estado do Rio de Janeiro foi analisado por SRTXRF (Total-Reflection X-Ray Fluorescence using Synchrotron Radiation). Como resultado, os autores verificaram a ocorrência de P, S, Cl, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr, em concentrações elementares inferiores às estabelecidas pela O.I.V. (Organização Internacional da Uva e do

Vinho) [11]. A investigação de elementos traço, em dois diferentes tipos de espumantes (cava e champagne) comercializados na Espanha, foi realizada com o uso de três métodos baseados em Espectrometria Atômica: ICP-AES (Inductively Couple Plasma Atomic-Emission Spectrometry), HG-AAS (Hydride Generation Atomic-Absorption Spectrometry) e GF-AAS (Graphite Furnace Atomic-Absorption Spectrometry) [12]. Os resultados mostram que K é o elemento mais abundante em todas as amostras analisadas e que os espumantes estudados podem ser diferenciados usando elementos traço como descritores. Os principais, neste caso, são Zn, Sr, Pb, Na, Cu, Ni, As, P e Cd.

Marengo e colaboradores analisaram sessenta e oito amostras de vinho tinto de origem italiana por Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) [13]. Neste estudo, sessenta e seis elementos foram determinados e, alguns deles como Si, Mg, Ti, Mn e Mo, mostraram-se como variáveis importantes para distinguir os vinhos de acordo com a área de produção, uma vez que são influenciadas pelas propriedades minerais do solo e pela capacidade de captação das mesmas pela videira.

Vinhos argentinos, brancos e tintos, tiveram suas composições elementares analisadas por Electrothermal Atomic Spectrometry (ETAAS) e Ultrasonic Nebulization acoplada com Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (USN-ICP-OES). Elementos como Al, Cd, Ca, Cl, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn foram detectados em concentrações comparáveis às registradas na literatura [14].

Cinco conjuntos de amostras de vinhos brancos, provenientes de cinco diferentes regiões germânicas, foram analisados por ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry). A análise mostrou a presença de sessenta e três elementos, incluindo não-metais e elementos de terras raras [15]. Além da determinação dos elementos constituintes do vinho, foi verificado que alguns elementos, como Be, Al, Zn, Ga, Y, Zr, Nb, La, Ce, Pr, Nd, Dy, Ho, Yb, Hf, Th, têm suas concentrações aumentadas por um fator >50% durante o processo de vinificação (após a clarificação com bentonites, um material de origem inorgânica).

Vinhos de três importantes regiões produtoras da África do Sul tiveram sua composição elementar avaliada por ICP-MS com o objetivo de classificá-los de acordo com a origem geográfica. Dos quarenta elementos identificados, vinte, dentre eles, Al, Rb, Si, Sr, mostraram diferenças relacionadas à área de produção [16].

Esta mesma técnica foi usada no estudo da composição multielementar do solo, sucos de uva, e amostras coletadas em todos os diferentes passos do processo de vinificação de vinhos de Douro, um distrito de produção vitivinícola de Portugal. Foram observadas alterações nas concentrações de Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, V e Zn, durante o processamento da uva e fermentação do vinho [17].

Ao contrário das técnicas de espectroscopia atômica, a técnica *Particle-Induced X-Ray Emission Spectrometry* (PIXE) não tem sido utilizada sistematicamente na análise de vinhos, apesar de já ter sido citada na literatura como técnica analítica usada na determinação de Pb em vinhos [18].

Porém, sendo um importante método de análise, PIXE tem sido largamente utilizado na análise de diferentes tipos de amostras e tem encontrado aplicações em áreas como Ciências dos Materiais [19] e Biotecnologia, bem como em outros campos da Biociências [20, 21]. Além disto, PIXE foi usado com sucesso no estudo elementar de alimentos [22], ervas medicinais [23] e, no nosso laboratório, na verificação dos níveis de Fe no cultivo de arroz [24], estudo de uma proteína do feijão [25] e na determinação da constituição elementar da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) [26]. Essa variabilidade de aplicações deve-se, principalmente, ao fato de ser uma técnica não-destrutiva, multi-elementar e de alta sensibilidade, com limites de detecção da ordem de partes por milhão (ppm).

Neste contexto, associar PIXE à investigação da composição elementar dos vinhos produzidos no estado do Rio Grande do Sul é, no nosso conhecimento, um trabalho pioneiro no Brasil, cuja motivação está relacionada a uma importante área de produção vitivinícola da Serra Gaúcha, o Vale dos Vinhedos, e que, como foi descrito anteriormente, é a primeira região brasileira a obter indicação geográfica na vitivinicultura.

CAPÍTULO II – ASPECTOS EXPERIMENTAIS: EQUIPAMENTO, AMOSTRAS E ANÁLISE

2.1 DETALHES DO EQUIPAMENTO PIXE

Neste trabalho foi usado um acelerador tipo Tandetron (figura 2.1) com tensão terminal de 3 MV. Todos os experimentos foram realizados com um feixe de prótons obtido de uma fonte de íons tipo *sputtering* (figura 2.1 A). Um sistema injetor composto por magnetos e fendas mecânicas ajustáveis (figura 2.1 B), seleciona os íons por suas massas e os direciona até o terminal de 1 MV positivo do acelerador. Neste ponto, há um *stripper* gasoso de N₂ (figura 2.1 C). Os íons, então positivos, são repelidos por este potencial positivo até o último terminal do acelerador (figura 2.1 D), e o feixe é direcionado por um sistema de magnetos (figura 2.1 E) até uma das linhas de aplicação de interesse, que no nosso laboratório são: NRA, IMPLANTAÇÃO IÔNICA, RBS e MICRO FEIXE (figura 2.1 F) ou PIXE (figura 2.1 G).

No caso de PIXE, o feixe de íons é dirigido à câmara de reações, que opera em vácuo da ordem de 10⁻⁶ milibar, através de uma bomba turbo-molecular. Conectada à câmara de reações, está a pré-câmara, onde o porta-amstras é montado. A pré-câmara é importante para realizar a troca do porta-amstras sem interromper o vácuo na câmara principal. O tempo de irradiação típico de amostras como as analisadas em nosso trabalho, é de 400 s, com uma corrente média em torno de 3.7 nA.

Há dois tipos de porta-amstras (suportes metálicos) utilizados em PIXE neste laboratório: um possui capacidade para 15 amostras com diâmetro de aproximadamente 13 mm; o segundo possui capacidade para 10 amostras de 25 mm de diâmetro.

Outra característica das nossas amostras é que as mesmas são isolantes. De acordo com um trabalho anterior do grupo [27, 28], nesta situação os resultados podem ser afetados devido à radiação de fundo (*bremstrahlung*) gerado pelo acúmulo de cargas. Assim sendo, foi necessária a instalação, junto ao porta-amstras e na posição frente ao feixe, de um filamento de tungstênio destinado a descarregar eletricamente as amostras.

As amostras são visualizadas dentro da câmara através de uma “webcam”. Isto permite o posicionamento correto do feixe de prótons sobre as mesmas.

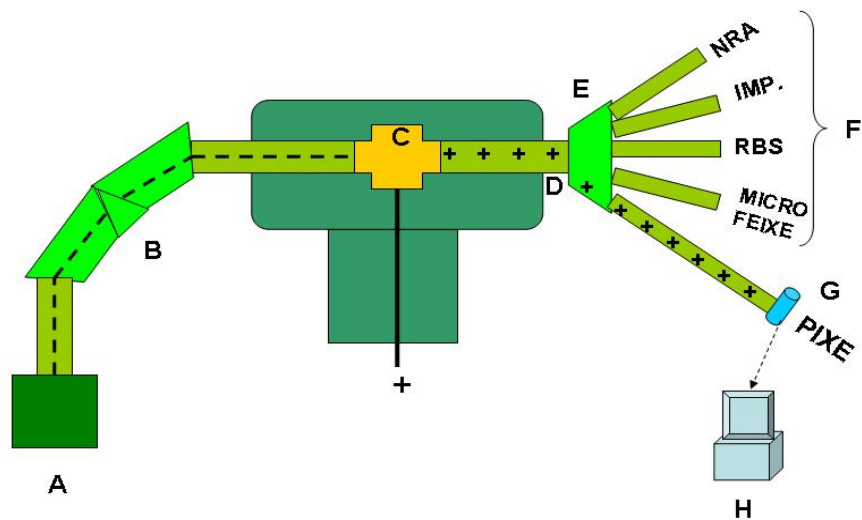


Figura 2.1: Ilustração do acelerador com suas linhas de aplicação.

O sistema PIXE se completa com: dois detectores, um HPGe (germânio hiperpuro) e outro de Si(Li) (silício dopado com lítio), e sistema eletrônico de aquisição de dados (figura 2.1 H).

Dentre os dois detectores, apenas o segundo foi utilizado no presente trabalho. Este detector possui um cristal de diâmetro ativo de 6 mm e profundidade de 5.7 mm. Sua resolução é 155 eV em 5.9 keV, detectando em uma faixa de energia de 1 a 15.5 keV.

2.2 AMOSTRAS

Os vinhos que constituíram este estudo foram adquiridos no mercado local de Porto Alegre. Detalhando a descrição da figura 1.2 temos, na figura 2.2, as regiões de procedência desses vinhos. Como mencionado anteriormente, também estudamos um vinho argentino, da região de Mendonza, e um chileno, de Santiago del Chile.



Figura 2.2: Regiões gaúchas de procedência dos vinhos estudados

Na tabela 2.1, mostramos o código que será então utilizado para indicar estas procedências geográficas. Amostras de garrafa, amostras de solo, galho e folhas de videira, uva e mosto, foram analisadas neste trabalho e estão descritas na tabela 2.2. Na tabela 2.3, descrevemos as denominações que serão usadas ao longo da dissertação para cada amostra considerando o vinho em questão, safra e região de procedência. No caso dos vinhos procedentes do Vale dos Vinhedos foram feitas médias de amostras de diferentes vinhos de uma mesma safra. Estes casos estão indicados na tabela. Além destas, fizeram parte deste estudo outras amostras, como: suco de uva (tabela 2.4) e rolhas (tabela 2.5). A tabela 2.2 faz referência a um particular grupo de amostras, procedentes da Vinícola Villagio Larentis, durante a colheita 2006/2007. No caso do vinho, diferentemente das demais amostras de vinho, não foi, portanto, comprado no comércio, mas fornecido pela própria vinícola.

Tabela 2.1: Nomenclatura das regiões de procedência das amostras de vinho.

Região	Nomenclatura
Argentina	Ar
Campanha Gaúcha	Camp
Centro	Cen
Chile	Ch
Serra Gaúcha	Serra
Vale dos Vinhedos	Vale

Tabela 2.2: Descrição das amostras coletada na Vinícola Villagio Larentis, durante a colheita 2006/2007. Varietal Cabernet Sauvignon.

Código	Descrição
S	Solo
G	Partes da videira – galho
F	Partes da videira – folhas
U	Uva
P	Polpa da uva
C	Casca da uva
M	Mosto
V	Vinho tinto fino Cabernet Sauvignon, safra 2002
GA	Garrafa

Tabela 2.3: Descrição das amostras de vinho

Código	Descrição
ARG	Vinho tinto fino Cabernet Sauvignon, safra 2002. Procedência: Ar (média de 4 amostras)
CA	Vinhos tintos finos Cabernet Sauvignon, safra 2002. Procedência: Camp (média de 8 amostras)
CE	Vinho tinto fino Cabernet Sauvignon, safra 2002. Procedência: Cen (média de 4 amostras)
CF	Vinho tinto fino Cabernet Franc, safra 2002. Procedência: Vale (média de 2 amostras)
CHAR	Vinho branco fino Chardonnay, safra 2002. Procedência: Vale (média de 2 amostras)
CHI	Vinho tinto fino Cabernet Sauvignon, safra 2002. Procedência: Ch (média de 4 amostras)
SE	Vinhos tintos finos Cabernet Sauvignon, safra 2002. Procedência: Serra (média 8 amostras)
EV	Média das amostras CA, CE, e SE (média de 20 amostras, no total)
VV	Vinhos tintos finos Cabernet Sauvignon, safra 2002. Procedência: Vale (vinícolas diversas, média de 32 amostras)
ESP	Vinho Fino Branco Espumante Natural – Método Charmat (ESP), safra 2006. Procedência: Serra (média de 2 amostras)
VTF	Vinho tinto fino Cabernet Sauvignon armazenado em “caixa”. Safra 2005. Procedência: Vale
VS	Vinho fino tinto Tempranillo/ Malbec, com rolha sintética. Procedência: Ar (média de 2 amostras)

Tabela 2.4 Descrição da amostra suco

Código	Descrição
SUCO	Suco de uva light

Tabela 2.5: Descrição das amostras de rolha.

Código	Descrição
RN	Rolha natural
RNI	Parte interna da rolha natural
RNE	Parte externa da rolha natural
RNVNI	Parte interna da rolha natural de vinhos que não os analisados por nós
RNVNE	Parte externa da rolha natural de vinhos que não os analisados por nós
RS	Rolha sintética
RSI	Parte interna da rolha sintética
RSE	Parte externa da rolha sintética
ESPI	Parte interna da rolha natural de ESP
ESPE	Parte externa da rolha natural de ESP

2.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras de vinho:

Diferentes métodos para preparação de amostras de vinhos capazes de serem levadas à câmara de PIXE que, como mencionamos, deve estar num vácuo de aproximadamente 10^{-6} milibar, foram testados. Por exemplo, a liofilização bastante citada na literatura em estudos de materiais de origem orgânica, não foi satisfatória. Ao final do processo de liofilização, provavelmente devido ao teor de açúcares presentes, a amostra adquiria uma consistência semelhante à de uma geléia, a qual seria incompatível com o sistema de vácuo. Outro método foi depositar o material através de filtros de papel, que também foi pouco satisfatório.

Finalmente, o método que se mostrou mais adequado foi o de secagem, que consistiu de tratamento térmico a temperatura de aproximadamente 150 °C e posterior pastilhamento. Partíamos de 500 ml de uma garrafa da bebida que eram igualmente divididos em dois recipientes e colocados em um forno elétrico. O tempo de secagem das

amostras era de 7 horas, em média. Após isto, o resíduo na forma de pó ou pequenos aglomerados era prensado em *pellets*, com o auxílio de uma prensa hidráulica e de um pastilhador de aço temperado. Então, na forma final as amostras eram *pellets* de aproximadamente, 25 mm de diâmetro, 2 mm de espessura e com massa variando entre 1.6 e 2 g .

Amostras de solo, folha, uva e mosto:

As amostras de solo foram simplesmente prensadas em pellets; amostras de galho e folhas foram secadas naturalmente, maceradas e pastilhadas; amostras de uva, casca e polpa de uva e mosto foram preparadas da mesma forma que o vinho, com tempo variado de permanência no forno.

Amostra de suco:

A amostra de suco de uva foi obtida por tratamento térmico, tal como as amostras de vinho.

Amostras de rolha:

As rolhas foram divididas em duas partes, denominadas: rolha interna e rolha externa. A parte interna da rolha foi considerada aquela que manteve contato com o vinho enquanto o mesmo estava armazenado. Como parte externa da rolha, foi considerada a parte oposta, ou seja, aquela que não manteve contato com o líquido em nenhum momento. As amostras foram obtidas através de um corte transversal, como mostra a figura 2.3 A.

Amostras de vidro da garrafa:

Amostras da garrafa foram feitas cortando-se uma área de 25 mm de diâmetro da mesma, como indicado na figura 2.3 B. Depois de cortada, a amostra foi limpa com água e etanol e colocada no porta-amostras.

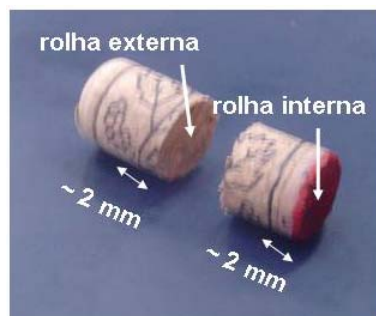


Figura 2.3 A: Amostra de rolha



Figura 2.3 B: Amostra de garrafa

Amostras de vinho e rolhas para RBS foram preparadas da mesma maneira como preparadas para PIXE.

Cabe finalmente mencionar que as amostras de vinho, rolhas, embalagens, solos, folhas, uva e mosto, acima descritas, são na análise PIXE o que se denomina alvos grossos e traz implicações nas medidas. No anexo 1 está detalhada a sistemática adotada para considerar este aspecto.

2.4 ANÁLISE DOS DADOS E PADRONIZAÇÃO

A análise quantitativa dos dados é realizada com o programa GUPIXWIN, um software desenvolvido por um grupo da Universidade de Guelph, Canadá. No anexo 1, descrevemos este programa de análise de dados .

Como outras técnicas espectroscópicas, a análise e conseqüente quantificação por PIXE, podem ser realizadas independentemente de padrões, desde que se mantenha rigoroso controle de todos os parâmetros experimentais, como corrente do feixe e fatores geométricos como a posição dos detectores e de ângulo sólido, o que é bastante difícil em geral. O procedimento alternativo comumente usado é a padronização, realizada a partir de alvos-padrões.

Como em nosso laboratório é bastante recente o uso de amostras das áreas biológicas e de alimentos, utilizamos vários padrões de modo a adquirir experiência e confiabilidade de todo o nosso procedimento experimental. Na tabela 2.6, descrevemos os padrões.

Tabela 2.6: Descrição dos padrões

Padrão	Procedência
1 – Folhas de maçã (Apple Leaves)	National Institute of Standards e Technology (NIST). Standart Reference Material 1515
2 – Sedimento (Buffalo River Sediment)	National Institute of Standards e Technology (NIST). Standart Reference Material 8704
3 – Fígado de Boi (Bovine Liver)	National Institute of Standards e Technology (NIST). Standart Reference Material 1577b
4 – Músculo de Peixe (Dogfish Muscle)	National Research Council Canadá (NRC – CNRC). Certified Reference Material DORM-2

No caso das amostras analisadas neste trabalho, os padrões preferencialmente utilizados foram 1 e 2 . Detalhes dos resultados da padronização podem ser encontrados no anexo 2.

CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 RESULTADOS DE RBS

O vinho e as rolhas naturais (de cortiça) são amostras orgânicas, compostas, principalmente, por elementos de baixo número atômico, como carbono, oxigênio e nitrogênio. Rolhas sintéticas são produzidas a partir de um plástico especial e contêm, portanto, como elemento predominante em sua composição, o carbono.

Para determinação das matrizes de V, RN, RS, do padrão de folhas de maçã e de sedimento, foi usada a técnica de RBS. Os resultados foram ajustados pelo software SIMNRA (versão 6.03). A figura 3.1 ilustra um exemplo típico de espectro de RBS com ajuste simulado por SIMNRA.

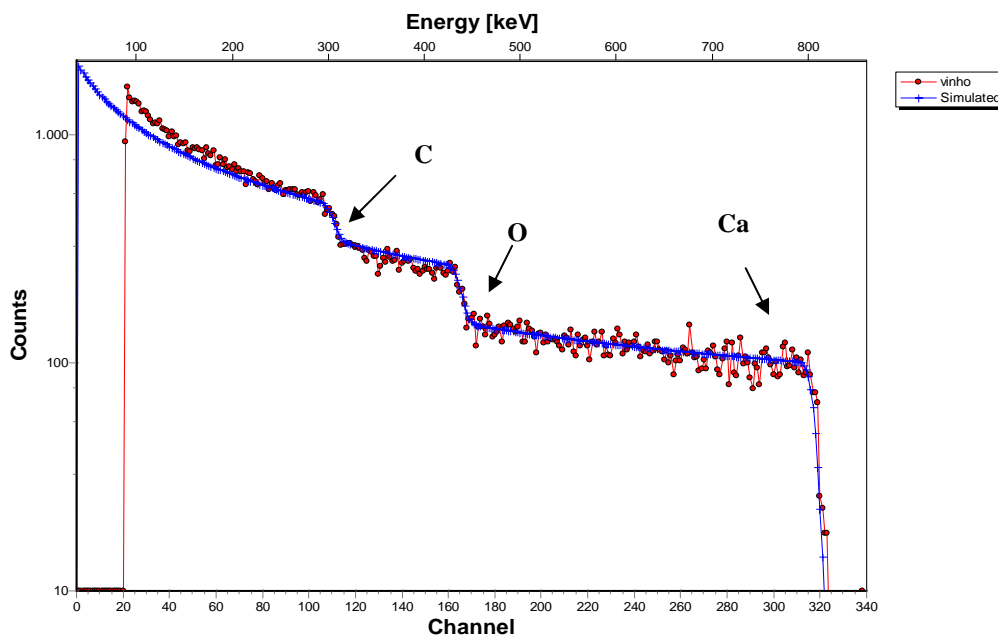


Figura 3.1: Exemplo típico de ajuste obtido com SIMNRA. Em azul, estão representados os dados simulados e em vermelho, os dados experimentais para uma amostra de vinho.

A tabela 3.1 contém as matrizes das amostras citadas anteriormente. O valor correspondente a cada elemento, é dado em porcentagem da massa total da amostra. Neste caso, não são levados em conta os demais componentes, que correspondem a aproximadamente 2% da massa total.

Tabela 3.1: Composição das matrizes do padrão de folhas de maçã, sedimento, vinho (V), rolha natural (RN) e rolha sintética (RS).

	Padrão: Folhas de maçã	Padrão: sedimento	V	RN	RS
C	0.8	0.19	0.68	0.83	1.00
O	0.2	0.36	0.32	0.13	-
N	-	0.01	-	0.04	-
F	-	0.44	-	-	-

3.2 RESULTADOS DE PIXE: COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DO VINHO DE ACORDO COM A REGIÃO DE PRODUÇÃO

A figura 3.2 mostra um espectro típico de PIXE, no caso para a amostra de vinho do Vale dos Vinhedos (amostra VV). Esse espectro representa a média de todas as 32 amostras dos vinhos do Vale dos Vinhedos. Os espectros foram normalizados pela carga de irradiação antes da realização da média.

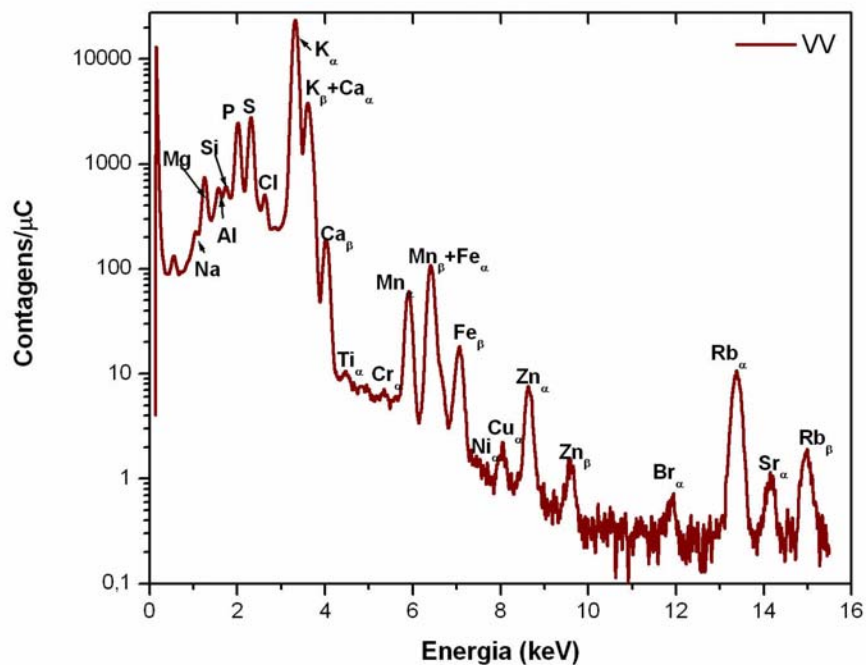


Figura 3.2: Espectro de PIXE representativo dos vinhos produzidos no Vale dos Vinhedos (amostra VV)

Como pode ser visto qualitativamente, o espectro PIXE de vinho contém vários elementos, como Mg, K, Ca, Fe, Zn e Rb.

Um espectro comparativo entre vinhos do Vale dos Vinhedos (amostra VV) e de outras regiões gaúchas (amostra EV) é mostrado na figura 3.3.

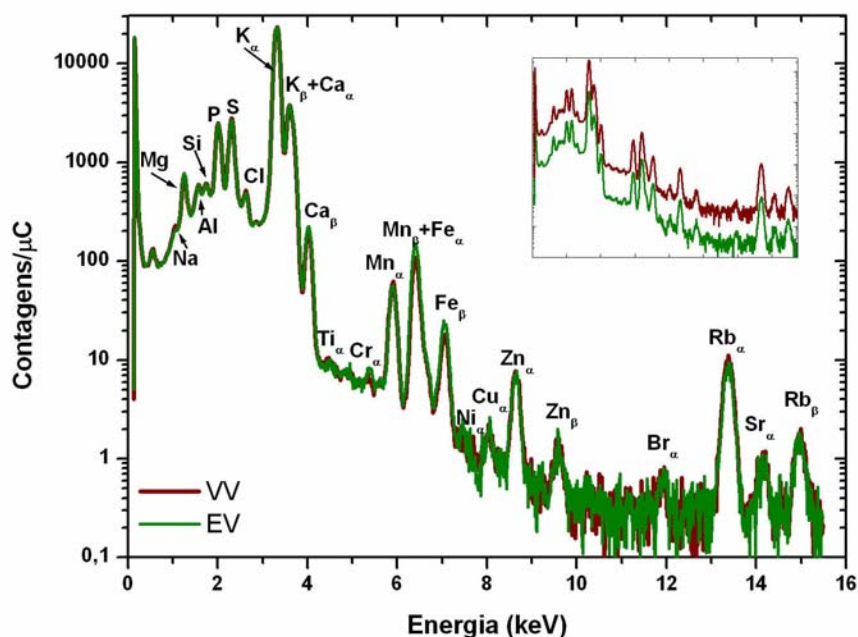


Figura 3.3: Comparativo entre amostras VV (vinhos do Vale) e EV (média de 20 amostras procedentes da Campanha, Centro do estado e Serra).

Em termos qualitativos, não há diferenças entre vinhos produzidos no Vale e em outras regiões do estado. O espectro elementar é praticamente igual para ambas as amostras. Como pode ser visto na figura 3.3, os espectros praticamente coincidem e a sobreposição dos espectros é tal que dificilmente pode ser notada na figura, razão pela qual no “*insert*” deslocamos um espectro em relação ao outro apenas para melhor visualização.

A análise quantitativa, realizada com GUPIXWIN (ver anexo 1), fornece as concentrações elementares em partes por milhão (ppm) de VV e EV, que podem ser vistas na tabela 3.2.

Esta tabela fornece, então, que os elementos mais abundantes são o Na, Mg, K, P, S e Ca, e os de menor concentração são o Cr, Ni, Ti e Br.

Tabela 3.2: Concentração elementar das amostras de vinhos do Vale e de outras regiões do estado (amostras VV e EV).

Elemento	VV (ppm)	EV (ppm)
Na	92643 ± 6640	65595 ± 11746
Mg	2985 ± 108	3337 ± 228
Al	105 ± 17	105 ± 16
Si	219 ± 8	229 ± 15
P	4866 ± 205	4906 ± 319
S	4563 ± 197	4508 ± 295
Cl	751 ± 34	680 ± 39
K	55483 ± 1704	55466 ± 2825
Ca	2130 ± 106	2381 ± 142
Ti	3 ± 1	2 ± 0.5
Cr	0.6 ± 0.2	4 ± 2
Mn	93 ± 4	87 ± 5
Fe	168 ± 38	242 ± 86
Ni	1 ± 0.3	3 ± 1
Cu	4 ± 0.4	4 ± 1
Zn	30 ± 3	28 ± 2
Br	5 ± 1	6 ± 2
Rb	214 ± 12	175 ± 16
Sr	19 ± 4	15 ± 4

As concentrações elementares dos vinhos para cada uma das regiões de procedência, Campanha, Centro, Serra e Vale, foram determinadas e estão representadas nos histogramas das figuras 3.4A , 3.4B, 3.4 C e 3.4 D.

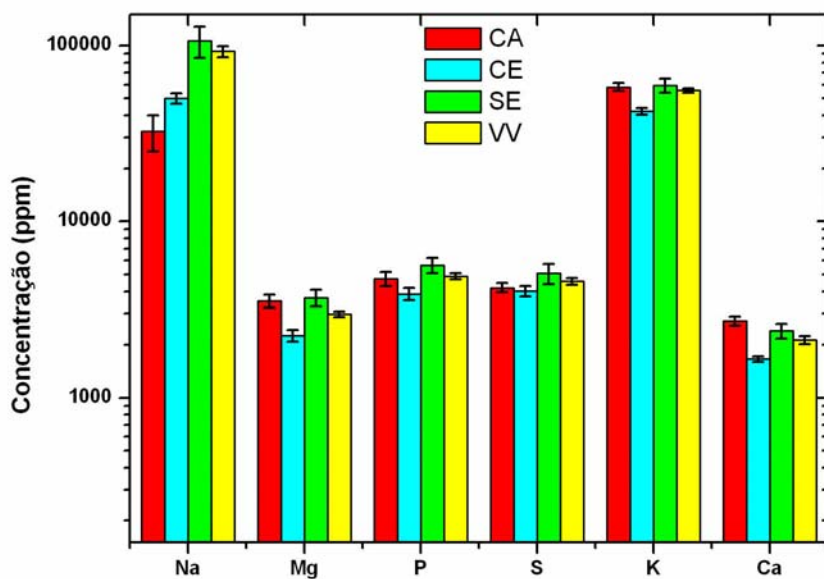


Figura 3.4A: Concentrações elementares de vinhos da Campanha (amostra CA), Centro (amostra CE), Serra (amostra SE) e do Vale (amostra VV).

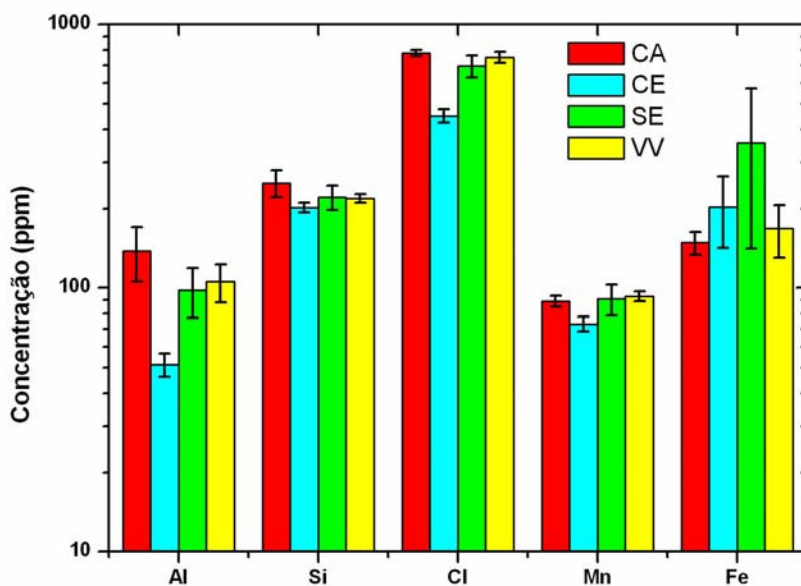


Figura 3.4B: Concentrações elementares de vinhos da Campanha (amostra CA), Centro (amostra CE), Serra (amostra SE) e do Vale (amostra VV).

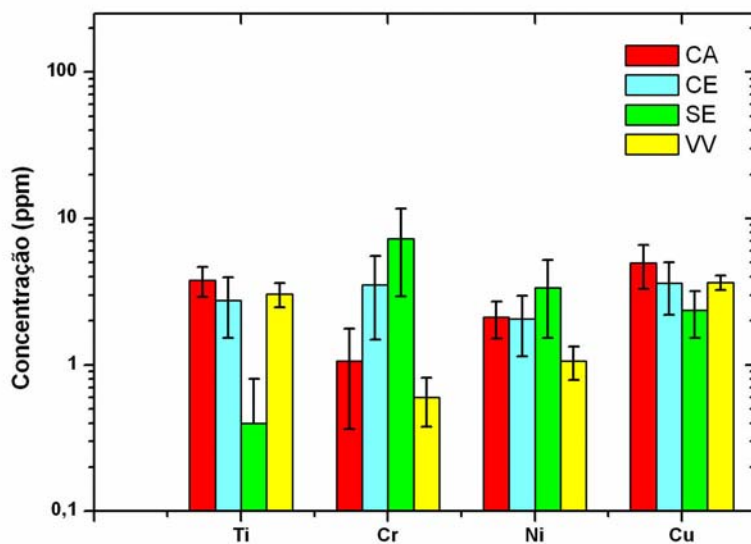


Figura 3.4C: Concentrações elementares de vinhos da Campanha (amostra CA), Centro (amostra CE), Serra (amostra SE) e do Vale (amostra VV).

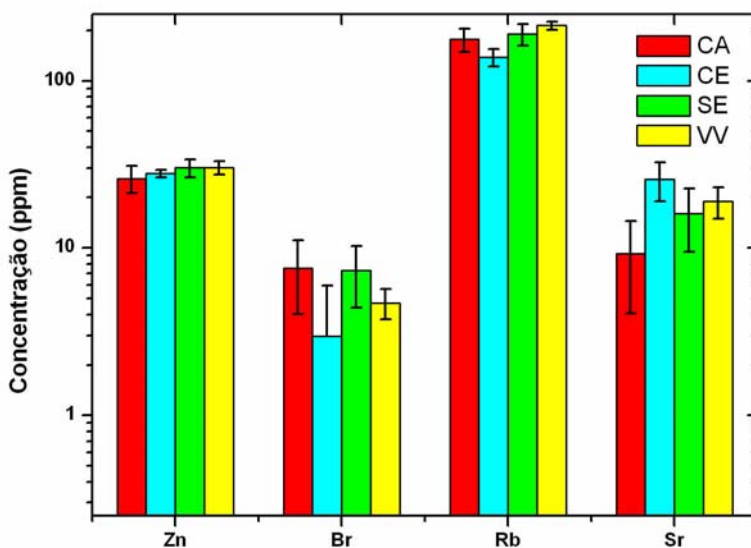


Figura 3.4D: Concentrações elementares de vinhos da Campanha (amostra CA), Centro (amostra CE), Serra (amostra SE) e do Vale (amostra VV).

A análise quantitativa do vinho argentino (amostra ARG) e do vinho chileno (amostra CHI) é mostrada no histograma da figura 3.5, juntamente com VV.

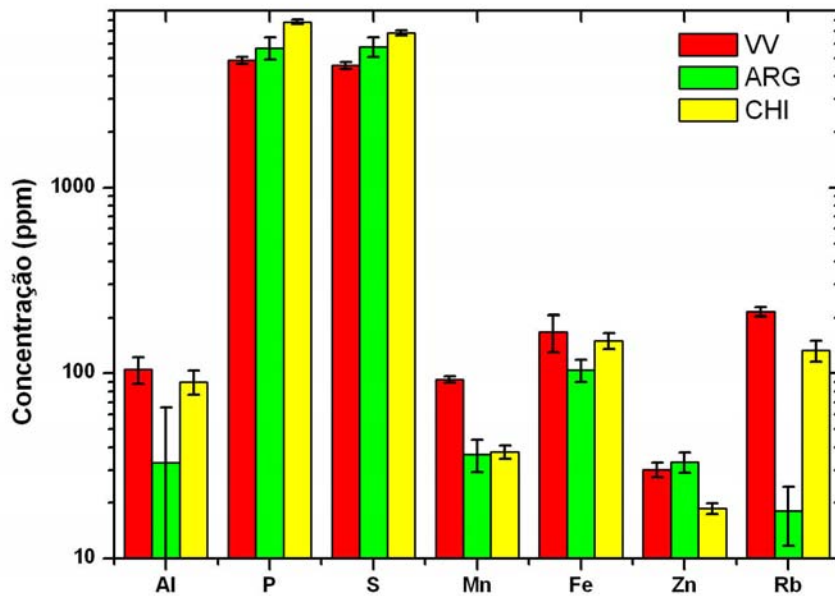


Figura 3.5: Concentrações elementares dos vinhos do Vale (amostra VV), do vinho argentino (amostra ARG) e do vinho chileno (amostra CHI).

Observamos que, enquanto as quantidades são praticamente iguais no que se refere ao Al e Fe, existem diferenças nas concentrações do Mn e Rb e do S, que estão em maior e menor concentração, respectivamente, nos vinhos do Vale dos Vinhedos.

3.3 PROCESSO DE ELABORAÇÃO

O processo de colheita – safra 2006/2007 – e elaboração do varietal Cabernet Sauvignon foi parcialmente acompanhado junto à vinícola Villagio Larentis, Vale dos Vinhedos. Amostras de solo, galhos e folhas de videira, uva e mosto, foram coletadas. Os espectros de PIXE destas amostras, bem como de V e GA, são mostrados nas figuras 3.6A e 3.6B.

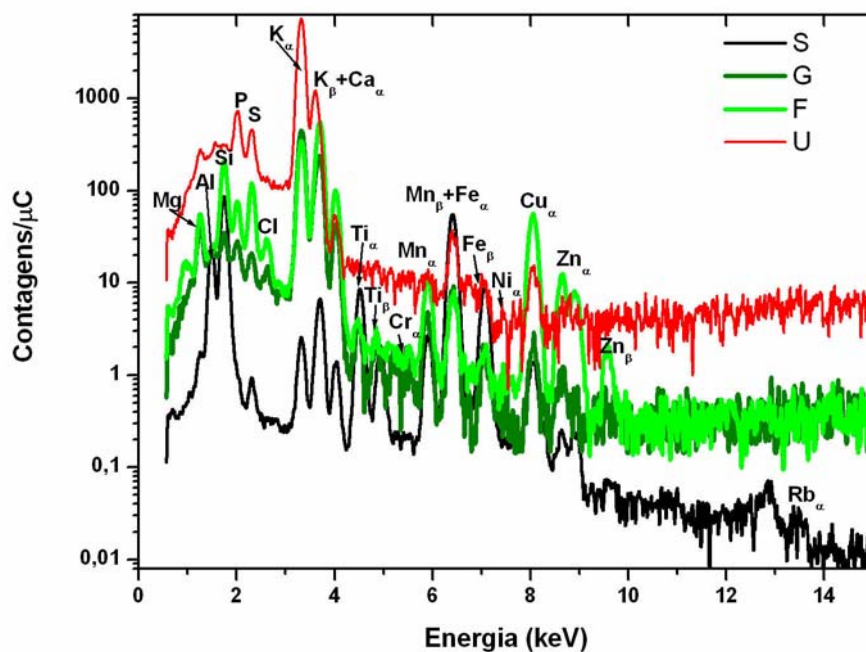


Figura 3.6A: Espectro PIXE referente ao processo de cultivo: solo (amostra S), galho (amostra G), folha (amostra F) e uva (amostra U). Escalas alteradas, para melhor visualização (S/200; G/20; F/20).

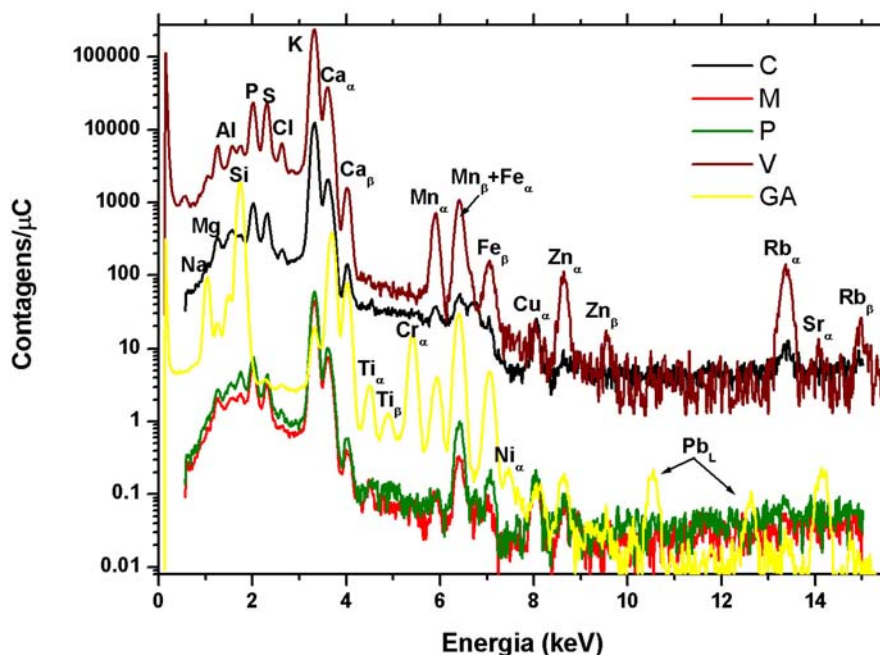


Figura 3.6B: Espectro PIXE referente ao processo de cultivo: casca da uva (amostra C), mosto (amostra M), polpa da uva (amostra P), vinho (amostra V) e vidro da garrafa (amostra GA). Escalas alteradas, para melhor visualização (M/100; P/100; V*10; GA/50).

Durante o processo de cultivo e elaboração do vinho, variações elementares ocorrem, o que é natural, pois tal processo engloba todo o ciclo de crescimento da videira e de produção da uva, aplicação de inseticidas e outras técnicas de cultivo. O Zn, por exemplo, presente no solo e nas folhas, é pouco observado na uva. Já o Cu, como será discutido no final deste capítulo, apresenta pronunciada variação desde o solo até o vinho.

Estes resultados, dentre outros, podem ser vistos nos gráficos de concentrações elementares nas figuras 3.7A, 3.7B, 3.7C e 3.7D.

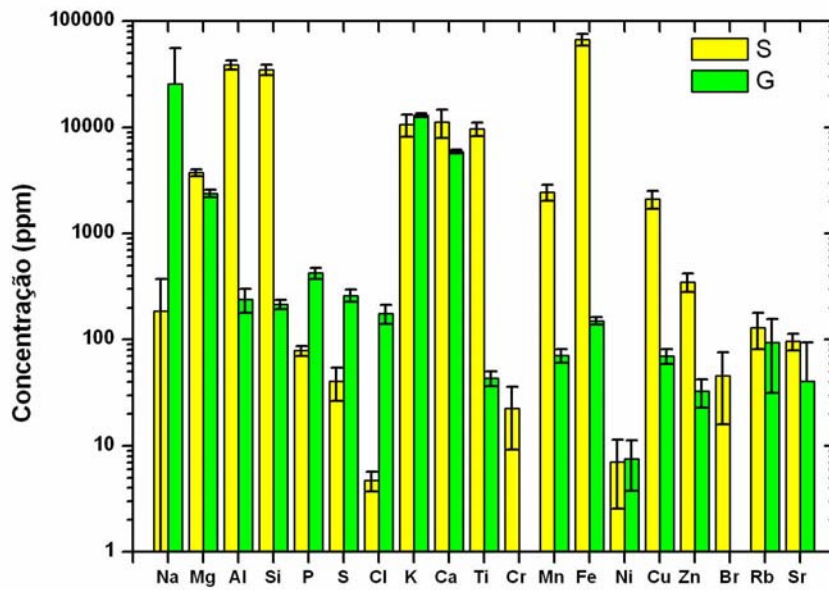


Figura 3.7A: Concentração elementar (em ppm) de amostras de solo e galho.

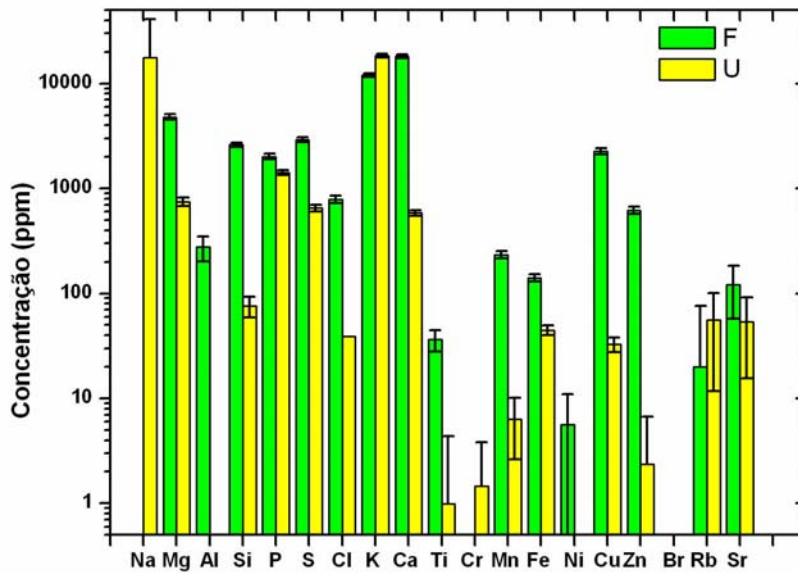


Figura 3.7B: Concentração elementar (em ppm) de amostras de folha e uva.

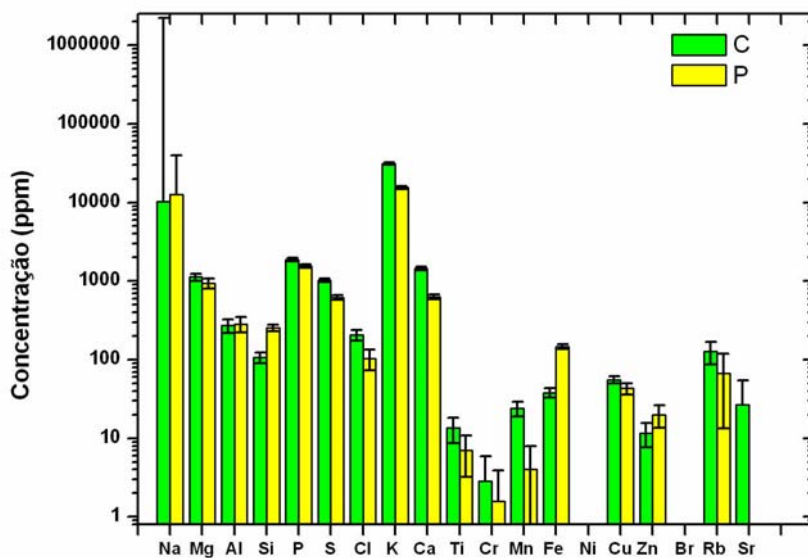


Figura 3.7C: Concentração elementar (em ppm) de amostras de casca e polpa.

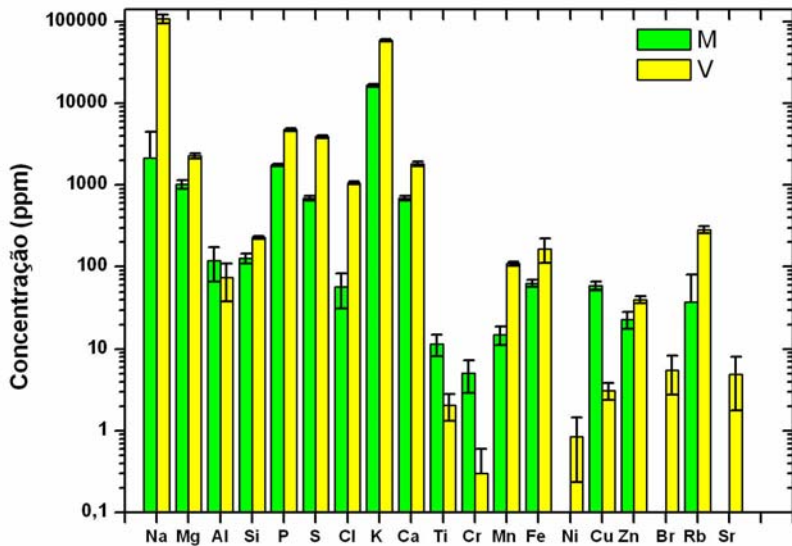


Figura 3.7D: Concentração elementar (em ppm) de amostras de mosto e vinho.

Na tabela 3.3, citamos as concentrações elementares medidas na amostra proveniente da parede da garrafa (GA), em que foi detectada a presença de Pb e Sn. Tais

elementos não foram detectados no vinho. Portanto, se estão presentes no mesmo, podemos afirmar que ocorrem em níveis menores que ppm, ou seja, abaixo do limite de detecção do sistema PIXE.

Tabela 3.3: Composição elementar da garrafa (amostra GA).

Elemento	GA (ppm)
Na	111340 ± 2795
Mg	4203 ± 91
Al	6543 ± 268
Si	83573 ± 967
P	0.9 ± 0.8
S	1 ± 1
Cl	6 ± 1
K	4717 ± 85
Ca	96433 ± 2390
Ti	390 ± 17
Cr	1615 ± 23
Mn	140 ± 0.2
Fe	4000 ± 78
Ni	23 ± 2
Cu	12 ± 2
Zn	46 ± 4
Br	0
Rb	32 ± 7
Sr	579 ± 5
Sn	17 ± 7
Pb	273 ± 35

3.4 ROLHAS

Diversas rolhas, tanto naturais quanto sintéticas, foram analisadas neste trabalho. A análise inicial da rolha tinha apenas como objetivo verificar a composição elementar da mesma. No entanto, como pode ser qualitativamente visto na figura 3.8, o espectro da parte interna da rolha (amostra RNI) se mostra diferente do espectro da parte externa da rolha (amostra RNE), com respeito a alguns elementos, apresentando uma maior presença principalmente do Si, Ti e do Fe.

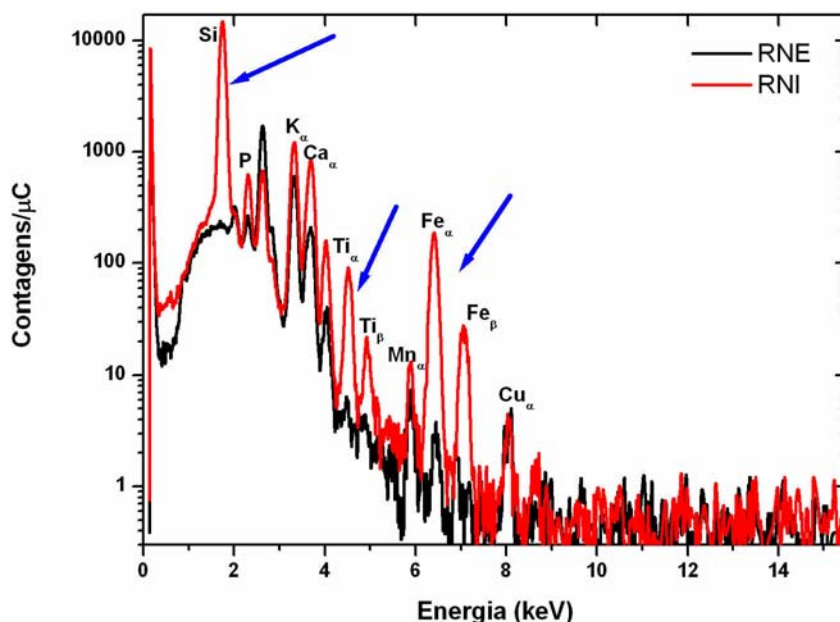


Figura 3.8: Espectro da parte externa e da parte interna da rolha natural, amostras RNE e RNI respectivamente.

Este resultado nos levou então a analisar quantitativamente as rolhas, naturais e sintéticas, uma vez que este último tipo de rolhas mostrou o mesmo efeito observado em rolhas naturais com respeito a alguns elementos. Nas figuras 3.9 e 3.10 mostramos, respectivamente, as concentrações daqueles elementos que são diferentes entre as partes interna e externa em ambas as rolhas.

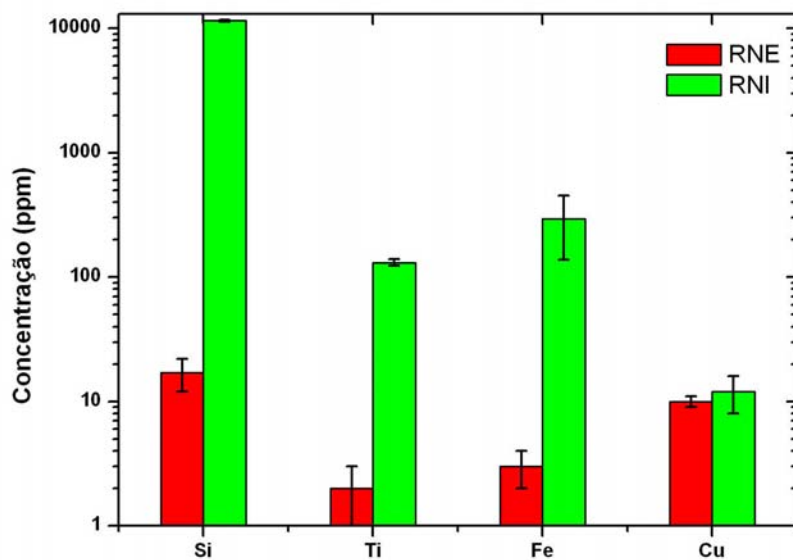


Figura 3.9: Concentração elementar da parte externa (RNE) e interna (RNI) da rolha natural.

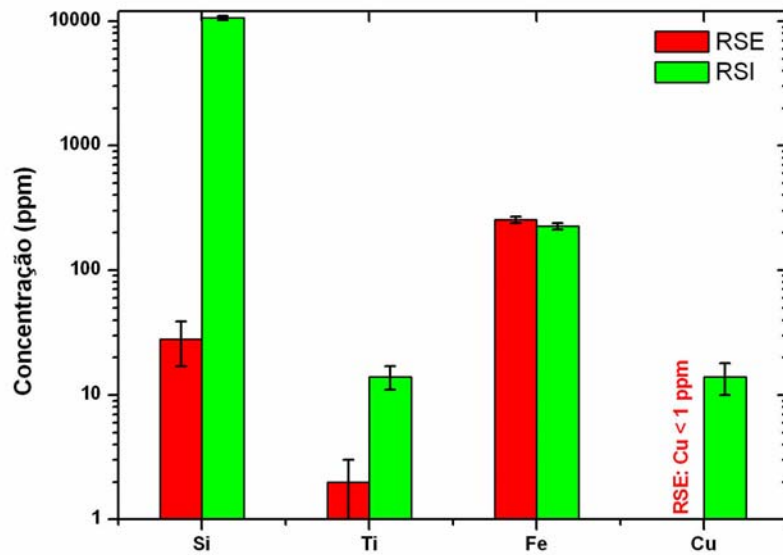


Figura 3.10: Concentração elementar da parte externa (RSE) e interna (RSI) da rolha sintética.

Estes resultados não de todo esperados, indicando que alguns dos elementos presentes no vinho atravessam as rolhas enquanto outros não, nos levaram então a analisar outras rolhas, que não aquelas próprias do nosso estudo (descritas na tabela 3.2). Para tal, coletamos cinco diferentes rolhas de outros vinhos e das medidas realizadas na parte interna e externa das mesmas, foi feita uma média que está apresentada na figura 3.11. Verificamos novamente, que existem diferenças, principalmente no que se refere ao Si, Fe e ao Ti.

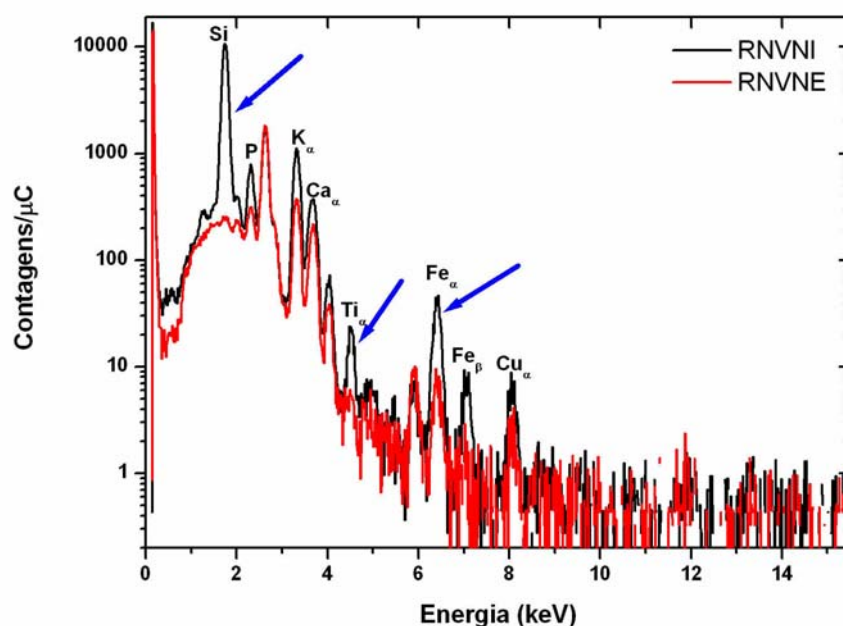


Figura 3.11: Rolhas naturais de outros vinhos que não os de nosso estudo: parte interna (RNVNI) e parte externa (RNVNE)

Como os resultados das rolhas até aqui apresentados referiam-se a vinhos tintos, investigamos posteriormente o caso de vinho branco fino, tipo espumante. Os resultados mostram um comportamento semelhante ao que ocorre nos casos anteriores, como pode ser visto na figura 3.12.

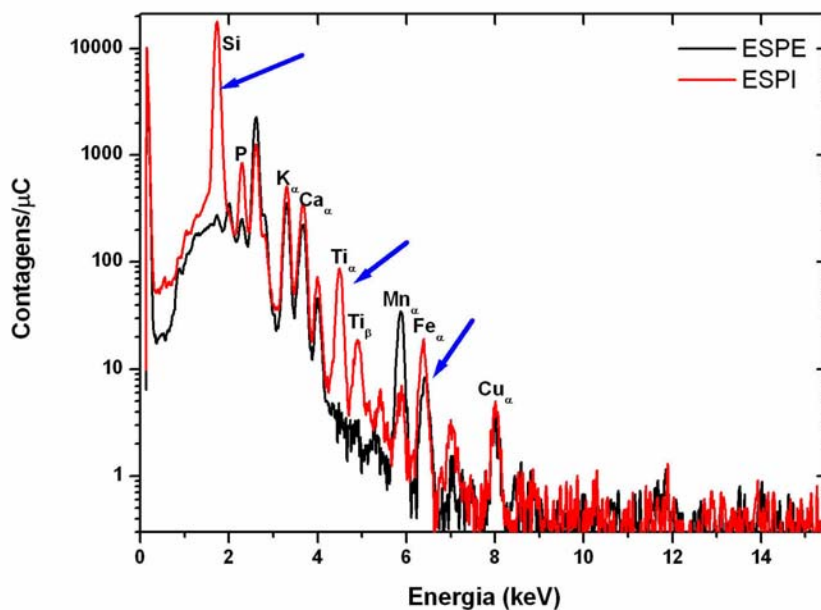


Figura 3.12: Análise qualitativa da rolha de espumante, parte externa (ESPE) e parte interna (ESPI).

Em resumo, no caso de vinhos tintos e brancos, observamos que, enquanto a parte interna das rolhas (amostra RNI) possui, por exemplo, aproximadamente a mesma quantidade de Cu do que a parte que não esteve em contacto com o vinho (amostra RNE), relativamente ocorre retenção de Si, Fe e Ti e, em menor proporção de P, K e Ca, sendo que dentre todos estes elementos, o que se apresenta em maior quantidade é o Si. Comportamento semelhante foi observado para as amostras RNVNI, RNVNE, ESPI e ESPE.

Ainda na tentativa de evidenciar a origem e eventuais razões deste efeito de maior concentração de alguns elementos na parte interna da rolha, procuramos averiguar qual é a quantidade destes elementos em outras situações, quais sejam, o suco de uva (outro derivado da uva) e o mosto. Na figura 3.13 mostramos o espectro do suco (amostra SUCO), juntamente com o espectro de M (amostra de mosto). Como pode ser visto nesta figura, o Si, o Ti e o Fe estão presentes tanto em SUCO como em M e qualitativamente em quantidades parecidas.

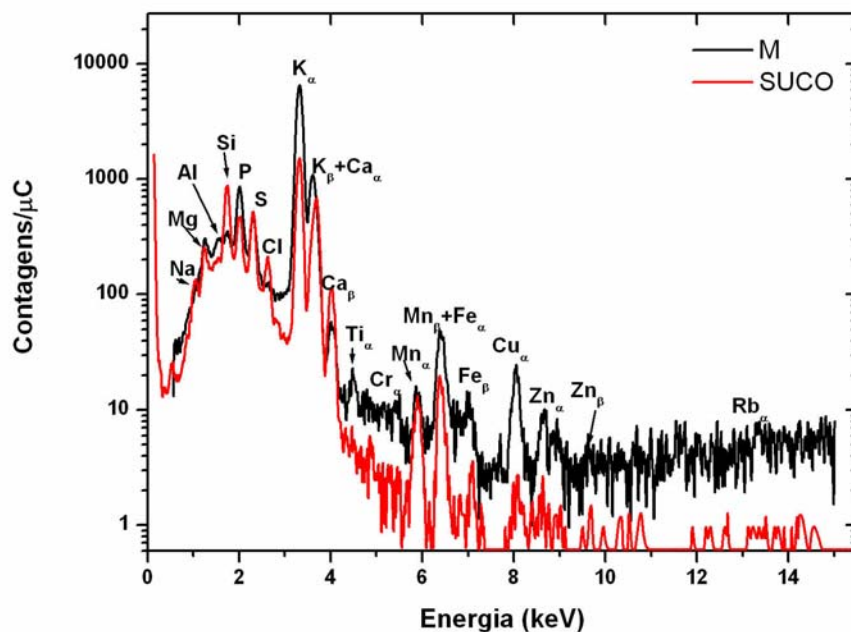


Figura 3.13: Análise qualitativa do suco de uva (SUCO) e mosto (M).

Considerando então que o Si é o elemento que, uma vez presente no suco, no mosto, vinho branco e vinho tinto, apresenta uma maior quantidade relativa de retenção na rolha, indagamos se parte do mesmo não poderia vir das paredes das garrafas já que o vidro contém largamente óxido de silício. Neste sentido analisamos uma amostra de vinho atualmente comercializado em “caixa” (amostra VTF) na qual, portanto, a bebida tem contato somente com as paredes que são de material plástico. Os resultados quantitativos mostraram que na amostra VTF temos uma concentração para o Si de 309 ± 50 ppm enquanto que em V (amostra de vinho citada na tabela 2.2) medimos 228 ± 11 ppm.

Na figura 3.14, ao colocarmos no mesmo gráfico os espectros das rolhas e dos vinhos em diferentes embalagens, podemos visualizar que P, K, Ca, Ti e Fe, originários do vinho, ficam retidos na parte interna das rolhas e, de modo especial, este efeito de retenção é relativamente bem mais evidente para o elemento Si.

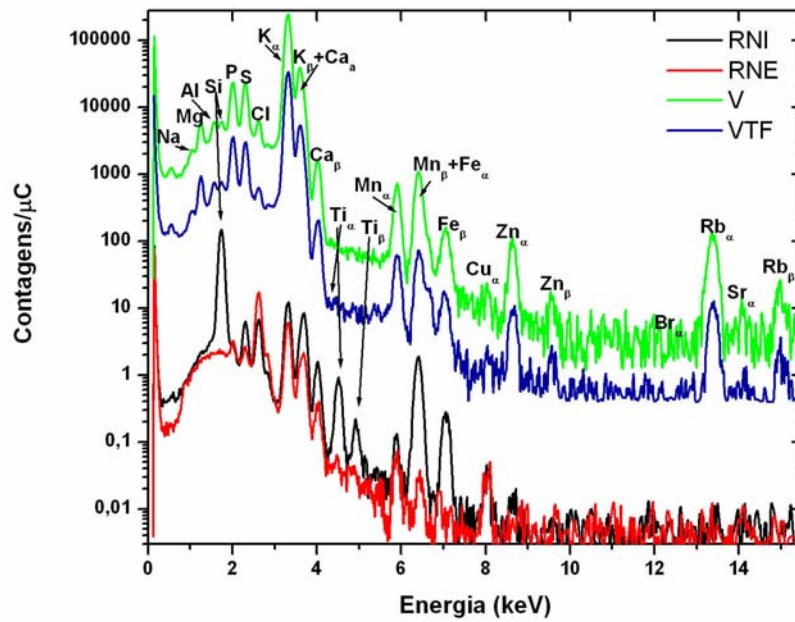


Figura 3.14: Comparativo entre vinho fino engarrafado (V) e sua rolha (RNI e RNE) e vinho tinto fino contido em “caixa” (VTF).

3.5 CABERNET SAUVIGNON, CABERNET FRANC E CHARDONNAY

Como já citado, foram analisados outros dois varietais: Cabernet Franc e Chardonnay. As concentrações elementares destes dois vinhos estão representadas nas figuras 3.15A e 3.15B, juntamente com as concentrações do varietal Cabernet Sauvignon.

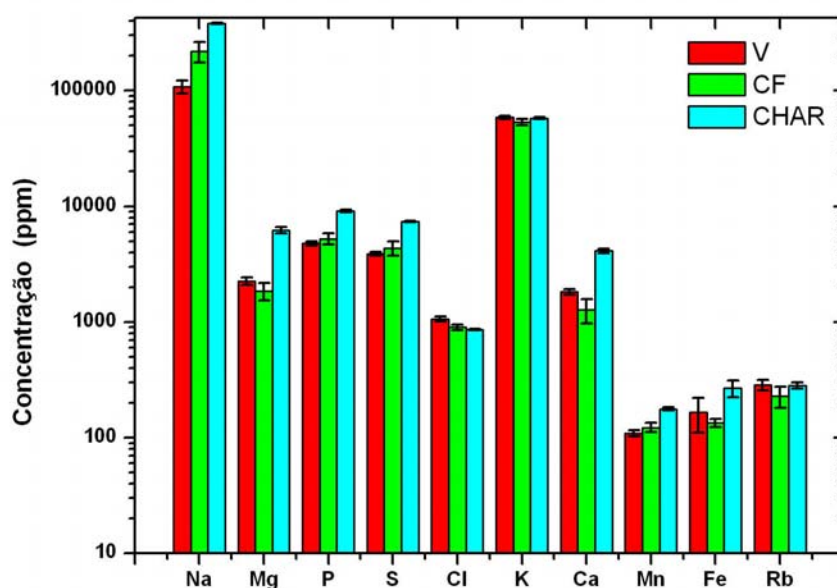


Fig. 3.15A: Concentrações elementares dos vinhos Cabernet Sauvignon (V), Cabernet Franc (CF) e Chardonnay (CHAR).

Importantes diferenças elementares podem ser observadas entre os varietais. O Ca e o Ti, por exemplo, apresentam maior concentração no varietal Chardonnay que nos demais, sendo que Cabernet Franc não contém Ti.

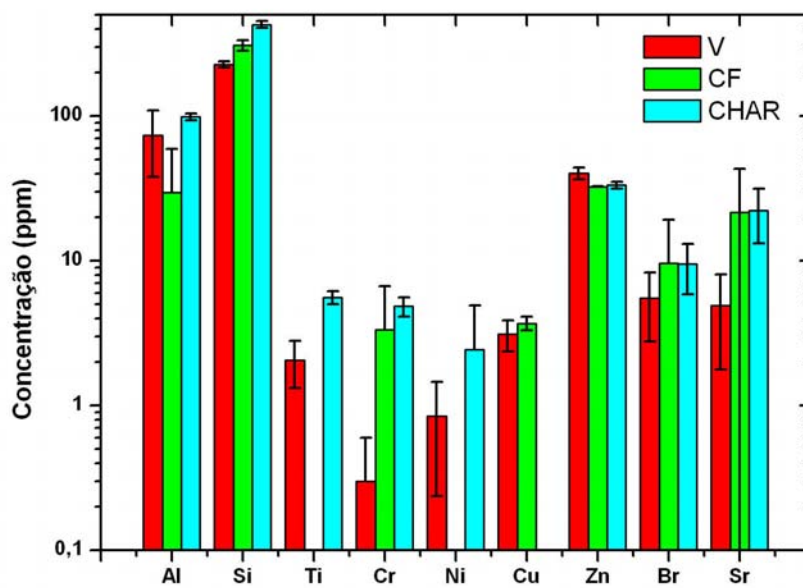


Fig. 3.15B: Concentrações elementares dos vinhos Cabernet Sauvignon (V), Cabernet Franc (CF) e Chardonnay (CHAR).

3.6 DISCUSSÕES

3.6.1 RESULTADOS DE PIXE: COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DO VINHO DE ACORDO COM A REGIÃO DE PRODUÇÃO

Dos resultados para o vinho, verifica-se que, em geral, ocorrem os elementos com $11 \leq Z \leq 38$, como K, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb e Sr. Este resultado é semelhante ao encontrado por Anjos et al [11] para vinhos brasileiros procedentes da região Sul disponíveis no mercado do Rio de Janeiro, exceto que, através da técnica PIXE, foi possível identificar seis elementos adicionais além dos que foram identificados naquele trabalho (Na, Mg, Al, Si, K, Br).

No entanto, a análise quantitativa mostrou que os vinhos produzidos no Vale (amostra VV) possuem maior quantidade de Na e Rb que os vinhos das demais regiões do estado (amostra EV). Estes últimos, por sua vez, possuem maior quantidade de Cr e Ni.

Comparando os resultados de acordo com a região de procedência, observa-se que há variabilidade nas concentrações de alguns elementos. VV possui maior concentração de Ti que SE, e de Na com relação a CA e CE, e menor concentração de Mg, Cr e Ni que SE.

As concentrações de alguns elementos, como Fe, Cu, Zn e Sr, são iguais, independentemente da região de procedência.

Comparando vinhos do Vale (amostra VV) com vinhos estrangeiros (procedentes de Arg e Ch), observamos algumas diferenças elementares, basicamente no caso do Mn, Rb e Ti, sendo que Mn e Rb estão em maior quantidade em VV.

Como mencionado na seção 1.8, o estudo de Marengo et al [13] sugere que, alguns elementos, como Si, Mg, Ti e Mn, podem ser considerados como importantes variáveis para distinguir os vinhos de acordo com a região de procedência. Também no trabalho de Coetzee et al [16] foi proposto que a presença de Rb está relacionada à região produtora. No nosso caso, apesar das diferenças que estamos discutindo, não as consideramos suficientes para estabelecer com certeza afirmações como fizeram estes autores. Para tal, seria necessário um número muito maior de amostras e medições e conhecimento e controle das muitas variáveis que determinam o produto final, ou seja, o vinho comercializado.

No caso dos diferentes varietais, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc e Chardonnay, algumas diferenças elementares são observadas. O varietal Chardonnay apresenta maior quantidade de Ca, Mg, Mn, Na, P e S, e menor quantidade de Cl, sendo nula a concentração de Cu em relação aos outros dois.

Entre os dois varietais tintos, verifica-se que Cabernet Franc possui maior concentração de Si e Na, menor de Zn, igual de Cu, Mn e Rb. Para este mesmo varietal, as concentrações de Ti e Ni são nulas.

3.6.2 PROCESSO DE ELABORAÇÃO

O espectro de solo (amostra S) obtido é semelhante ao obtido por Raquel [29], com elementos de número atômico compreendidos entre 11 e 38.

A videira, representada pelas amostras de galho (G) e folha (F) na fig. 3.6A, é constituída por elementos traço, ou micronutrientes, que são ou não essenciais ao seu desenvolvimento, como Al, Ca, Cl, Cu, Fe, K, Mn, Ni, P, S e Zn [30]. É natural, portanto, que estes elementos estejam também presentes no vinho como, de fato, estão.

O Ni também apresenta variações em sua concentração (figura 16): presente nas amostras de solo, videira e vinho, não se faz presente nas amostras de uva, polpa, casca e mosto. É um elemento que, de acordo com a literatura [30], faz parte da composição elementar de plantas e solo. Sua presença no vinho pode estar relacionada a efeitos de contaminação por tanques e outros equipamentos utilizados no processo de vinificação [31].

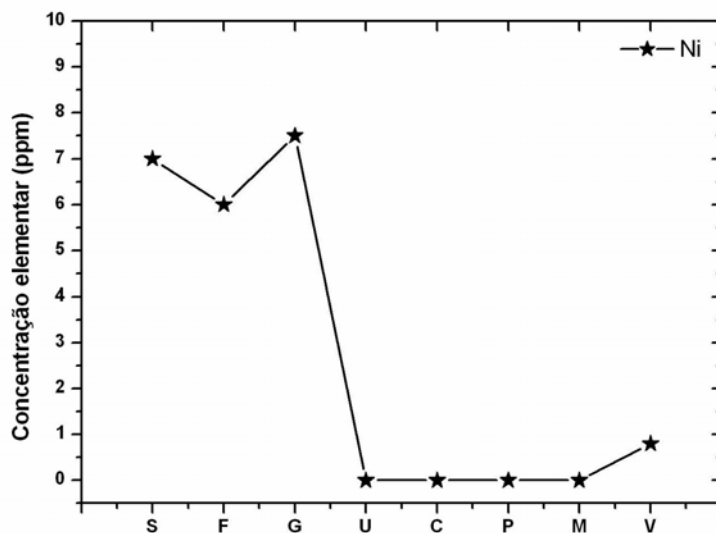


Fig. 3.16: Variação da concentração de Ni devido, possivelmente, a fatores de contaminação com equipamentos utilizados no processo de vinificação.

Observa-se que o Cu é um elemento abundante no solo e na folha. Nas demais amostras, sua concentração decresce em torno de 2000 ppm (figura 3.17). Este fato pode estar associado à aplicação de sulfato de cobre como fungicida para proteção das videiras. Este produto é pulverizado sobre as plantas, após a floração. Logo, é de se esperar que o produto esteja em maior concentração nas folhas e no próprio solo, devido ao método de aplicação.

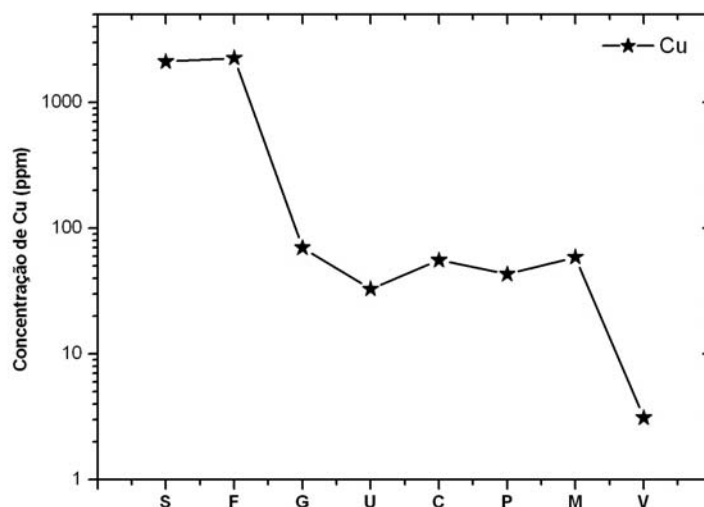


Fig. 3.17: Variação da concentração de Cu devido, possivelmente, à adição de sulfato de Cu como fungicida.

O vinho apresenta a menor concentração de Cu dentre todas as amostras estudadas, referentes ao ciclo de cultivo e elaboração. Esta variação deve ocorrer a partir da fermentação, devido a reações pelo contato com as paredes dos tanques de aço inoxidável ou com a garrafa, e pelo próprio processo de amadurecimento/envelhecimento da bebida. Este é um resultado satisfatório e esperado pelos responsáveis pela produção e elaboração da bebida, pois determinados níveis de Cu conferem ao vinho características indesejáveis (como aspecto “leitoso”).

O Br, presente no solo e no vinho, não é encontrado em nenhuma das outras amostras. Apesar de ser um elemento encontrado em plantas [30], neste estudo não foi detectado em amostras de videira. Provavelmente sua concentração é muito baixa, de forma que não pode ser detectado por PIXE. No caso do Rb presente no vinho, sua concentração pode ser atribuída a diferentes fatores. Noble et al [32], descrevem que os níveis de Rb no vinho estão relacionados ao contato da bebida com a casca. Logo, vinhos com maior tempo de contato com a casca tendem a possuir maior concentração deste elemento. A presença de Sr pode estar associada ao contato com os tanques de inox. Para Anjos et al [11], a presença de Rb no vinho se deve ao fato de sua afinidade química com o K, mesma situação descrita para o Sr, que tem afinidade com o Ca.

Durante a clarificação, uma das etapas do processo de elaboração do vinho, como pode ser visto no capítulo 1 (Processo de Elaboração/Vinhos Tintos), ocorre alteração na quantidade de alguns elementos, principalmente se a mesma é realizada com bentonites, conforme observado por Gómez et al [15]. Vários elementos, incluindo o Al, tiveram um aumento maior que 50% em suas concentrações. Na e Ca também podem ter suas concentrações aumentadas, enquanto que a de K diminui [33], pelo uso de bentonites. Nossos resultados mostraram haver um acréscimo de mais de 100% nas concentrações de Na e Ca quando comparamos as amostras de mosto (amostra M) e de vinho (amostra V). Tal resultado pode ser atribuído ao método utilizado na clarificação. Sabemos, no entanto, que nem todos os vinhos passam por tal etapa, a menos que o mesmo seja turvo.

Com relação à composição elementar da garrafa, que possui Sn e Pb, não foi detectada a presença destes elementos no vinho, possivelmente por estarem em concentrações inferiores ao limite de detecção para estes elementos ou porque realmente não se fazem presentes no vinho.

3.6.3 ROLHAS

Alguns elementos presentes no vinho, tanto o que foi engarrafado quanto o que foi embalado em caixa, e no suco de uva, foram também identificados na parte interna das rolhas, não sendo encontrados na parte externa das mesmas. São eles: Si, P, K, Ca, Ti e Fe. Alguns destes estão em maior concentração com relação aos outros, como é o caso do Si e do Ti.

A rolha é um objeto usado para retenção de líquidos e gases. Em nosso trabalho, vemos que elementos contidos no vinho, ficam retidos na parte interna da rolha.

Por outro lado, a alta concentração de Si e demais elementos pode ocorrer, por exemplo, devido a uma questão de proporção, pois enquanto está uniformemente distribuído no vinho, encontra na rolha uma pequena área em que possa se depositar. Além disso, é provável que ocorra a formação de pequenos cristais de Si na rolha, devido a propriedades químicas e físicas deste material.

Dependendo do tempo e das condições de armazenamento, o vinho pode ou não perder o contato com a rolha. Desta forma, podemos questionar o fato de que elementos

que ficam retidos na rolha possam retornar à bebida, após algum intervalo de tempo em que a garrafa permaneceu em posição vertical, causando, portanto, alterações no produto.

CONCLUSÕES

Vinhos procedentes do Vale dos Vinhedos apresentam, em geral, composição elementar que inclui elementos com $11 \leq Z \leq 38$: Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb e Sr. As concentrações destes elementos variam desde 0.6 ppm, no caso do Cr, até aproximadamente 90000 ppm, para o Na. O Na é o elemento mais abundante, seguido do K (em torno de 55000 ppm), do P e do S (ambos com concentrações entre 4600 e 4800 ppm).

Vinhos de outras regiões do estado, da Argentina e do Chile possuem composição elementar bastante parecida àquela dos vinhos do Vale dos Vinhedos e algumas pequenas diferenças são observadas nas concentrações elementares do vinho de acordo com a região de produção.

Vinhos do Vale possuem menos Cr que os vinhos produzidos em regiões vizinhas da Serra. Em contrapartida, estes possuem maior conteúdo de Mn e Rb em comparação com vinho do Centro, Argentina e do Chile.

Fe, Ni, Cu, Zn e Br apresentam a mesma concentração nos vinhos procedentes das quatro distintas regiões do estado que foram estudadas.

O varietal Cabernet Sauvignon apresenta diferenças elementares com relação aos outros dois varietais analisados, Cabernet Franc e Chardonnay, em elementos como Ca, Mg, Mn, Na, P, Zn, Ti e Zn. Estas diferenças devem primordialmente estar relacionadas ao próprio varietal e respectivo método de elaboração.

Ocorre alteração nos níveis de alguns elementos durante o processo de cultivo e elaboração do vinho, como é o caso do Ni, Cu, Rb e Sr.

As rolhas têm importante papel na retenção de alguns elementos presentes no vinho, como Si, P, K, Ca, Ti e Fe, sendo que o Si, com relação aos demais, é que se encontra em maior concentração, mais de 10000 ppm.

Apesar das diferenças apresentadas, é do nosso entendimento, que elas não são suficientes para assegurar que a caracterização elementar possa univocamente indicar a procedência dos vinhos, ao menos até onde os nossos resultados foram obtidos. Em outras palavras, como mostram os resultados, não seria adequado afirmar que a análise elementar pela técnica PIXE, como realizada por nós, possa fornecer uma resposta absoluta sobre *terroir*.

Diferentemente de alguns dos trabalhos, citados na revisão inicial e que na nossa apreciação talvez tenham sido mais otimistas ao relacionar diretamente procedência geográfica à análise elementar, é nossa conclusão que um estudo bem mais amplo deve ser realizado, levando em conta as múltiplas variáveis relacionadas às características finais do produto disponibilizado ao consumidor.

PERSPECTIVAS

Os resultados apresentados neste trabalho podem ser expandidos, em um projeto futuro, de forma que vinhos procedentes de outras regiões do Brasil possam ser analisados, como do Vale de São Francisco, bem como um número maior de vinhos de países vizinhos.

Com relação ao Vale dos Vinhedos, seria importante um acompanhamento temporal do cultivo e elaboração do vinho, com a finalidade de constatar possíveis variações em termos elementares de acordo com mudanças (áreas de cultivo, processos de elaboração, clima, entre outros) que podem ocorrer entre diferentes safras de um mesmo varietal, além de verificar a influência do contato do líquido com a casca da uva durante a fermentação alcoólica. Outro aspecto importante diz respeito à análise temporal do Si e outros elementos presentes na parte interna da rolha.

Outra perspectiva é o estudo da existência de uma correlação entre a constituição elementar do vinho e outras características importantes da bebida, como acidez e composição fenólica.

ANEXO I – PIXE, DETECTORES, PADRONIZAÇÃO, AMOSTRAS, GUPIXWIN E RBS

I.A PARTICLE-INDUCED X-RAY EMISSION

Princípios básicos que descrevem a interação dos íons com a matéria, através de suas colisões elásticas e inelásticas, como espalhamento Rutherford e a produção de raios-x, têm possibilitado o aparecimento de eficientes técnicas de análise empregadas no estudo de diversos tipos de materiais. PIXE (*Particle-Induced X-Ray Emission*) e RBS (*Rutherford Backscattering Spectrometry*) são exemplos destas técnicas.

No caso de PIXE, Moseley [34] foi o pioneiro, em 1914, no estudo das energias características dos raios-x emitidos por diferentes elementos da tabela periódica. Posteriormente, novos aportes aconteceram, principalmente com o avanço das pesquisas em física nuclear e o desenvolvimento da tecnologia de detectores de estado sólido.

Finalmente no início dos anos 70, Johansson [35] e colaboradores mostraram que a análise multielementar de elementos traço quando constituído pela combinação de um detector de Si(Li) e um feixe de prótons de energia de 2 MeV era importante técnica de análise. A partir de então, PIXE, como método de análise multielementar, passou a ser utilizado em vários laboratórios de aceleradores de partículas.

Esta técnica [34] consiste na emissão de raios-x característicos induzidos por feixe de partículas carregadas eletricamente. Usualmente, um feixe de prótons emergente de um acelerador incide na amostra a ser analisada com uma energia tipicamente entre 2 a 3 MeV. Os prótons excitam os elétrons das camadas mais internas dos átomos constituintes da amostra, ionizando-os. Como os elétrons são ejetados gera-se então uma vacância que é preenchida por um elétron proveniente de uma outra camada eletrônica mais externa. Na transição deste elétron, pode ocorrer a emissão de raios-x característicos.

A nomenclatura adotada para as linhas de emissão de raio-x é feita de acordo com as transições eletrônicas entre as camadas. Por exemplo, se a vacância a ser preenchida pertencer à camada K, os raios-x emitidos são denotados por *raios-x K* e podem ser de dois tipos: raios-x K_{α} (linhas K_{α} , para as quais existem duas possibilidades, $K_{\alpha 1}$ e $K_{\alpha 2}$, dependendo da subcamada), referentes à transição de um elétron da camada L para a K e raios-x K_{β} (linhas K_{β} , também com duas possibilidades, $K_{\beta 1}$ e $K_{\beta 2}$), devido à transição do

elétron da camada M para a K. Quando a vacância está na camada L e é preenchida por um elétron da camada M, tem-se a emissão de um *raio-x L*. As linhas de emissão componentes do raio-x L são em maior número que as do raio-x K, devido ao maior número de subcamadas eletrônicas. Em vista disso, um espectro de PIXE, que é determinado pelos níveis de energia dos elétrons no átomo, seguindo as regras quânticas de seleção, pode se tornar bastante complexo, pois alguns componentes possuem a mesma energia e os picos se sobrepõem, como pode ser visto na figura II.

Para exemplificar, destacamos nesta figura, na região I, o pico referente à linha K_{β} do Mn e o pico K_{α} do Fe se sobrepõem, enquanto que na região II, os picos K_{α} e K_{β} estão bem definidos. Neste exemplo, as linhas L do Pb podem ser vistas com clareza, na região III.

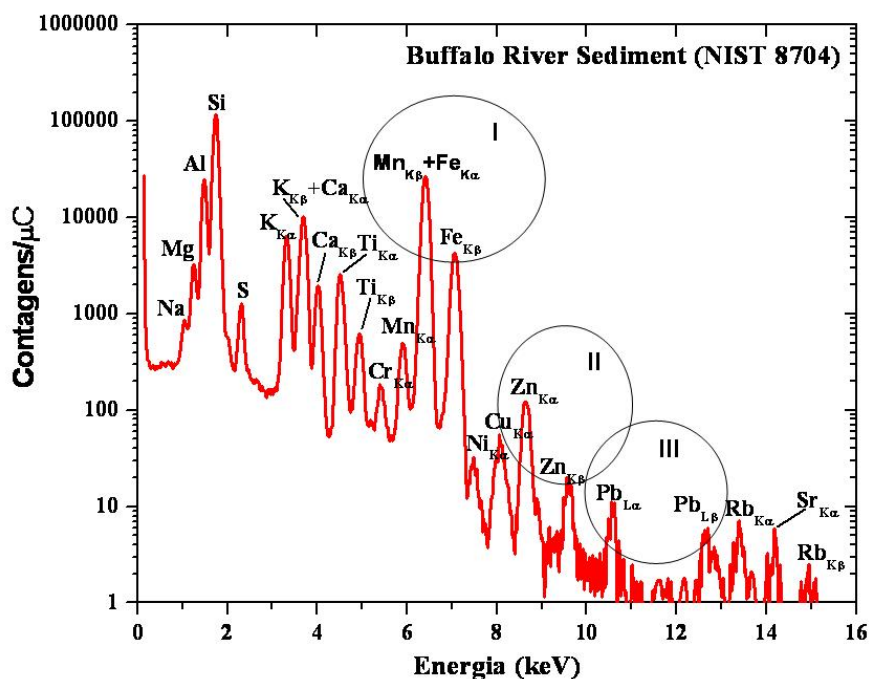


Figura II: Exemplo de um espectro de PIXE de um padrão de sedimento.

Além da emissão de raio-x, a desexcitação do átomo pode também ocorrer com a emissão de um elétron, que é chamado de *elétron Auger*. Este processo ocorre com maior probabilidade para elementos de número atômico baixo.

I.A.A CONCEITOS BÁSICOS DE INTERAÇÃO DE ÍONS COM A MATÉRIA

As colisões ou interações entre duas partículas são geralmente descritas em termos da seção de choque, σ . Esta quantidade está relacionada à probabilidade de ocorrência da reação, ou seja, é a fração média de partículas espalhadas em um ângulo sólido $d\Omega$ por unidade de tempo e de fluxo (número de partículas incidentes por unidade de área e de tempo). Matematicamente, para qualquer espalhamento a uma energia E , σ é dada pela equação I.1 [36]:

$$\sigma(E) = \int d\Omega \frac{d\sigma}{d\Omega} \quad (\text{I.1})$$

Durante a passagem pela amostra, o feixe de prótons perde energia devido às interações eletromagnéticas, caracterizadas, principalmente, pelas colisões inelásticas com os elétrons dos átomos constituintes da mesma. Colisões elásticas com os núcleos atômicos também podem ocorrer, mas com menor frequência com relação às inelásticas. Neste caso, a perda de energia pelos prótons também é menor, uma vez que a massa do núcleo é grande comparada a do elétron. As colisões inelásticas seguem uma probabilidade de ocorrência regida quanticamente, e as flutuações na perda de energia são pequenas, de maneira que é possível considerar a perda de energia média por unidade de comprimento. Esta quantidade é denominada “*poder de freamento*” (dE/dx), e depende da energia cinética dos prótons: a velocidade dos prótons muda a medida que interagem com a matéria e a perda de energia também muda de acordo com as variações de sua energia cinética.

O poder de freamento está relacionado a um limite de penetração do próton na matéria, ou seja, ao *alcance*. A distância percorrida pela partícula carregada dentro do material é definida e depende basicamente do tipo de material e da energia inicial do próton. A trajetória de um próton do feixe de energia inicial E_0 pode ser considerada, com boa aproximação, uma linha reta, uma vez que os efeitos das interações deste com os átomos são muito pequenos [34].

Um outro fator importante a ser considerado quando as interações das partículas com a matéria são estudadas, é o *bremstrahlung* (radiação de frenagem ou desaceleração). Em se tratando de PIXE, o *bremstrahlung* devido aos elétrons ejetados nas colisões

inelásticas é o principal responsável pelo background (radiação de fundo) associado ao espectro dos raios-x, observado principalmente na região de energias menores que 10 keV. Neste caso, os elétrons ejetados são espalhados pelo campo elétrico dos núcleos atômicos da amostra. A energia que o elétron perde quando é desacelerado por tal interação, aparece na forma de radiação eletromagnética, que constitui um espectro contínuo juntamente com os picos dos raios-x característicos dos elementos presentes na amostra. O background é o principal fator determinante do *limite de detecção*.

I.A.B INTENSIDADE DOS RAIOS-X E CONCENTRÇÕES ELEMENTARES

A trajetória dos prótons no interior da amostra pode ser considerada praticamente retilínea, como já citada anteriormente, pois a perda de energia destes em cada colisão inelástica, conhecida através do poder de freamento da matriz (S_M), é pequena (a matriz de certa amostra designa os elementos presentes em maior quantidade na mesma. A soma das massas destes elementos deve representar quase 100% da massa total da amostra). No decorrer de um elemento dx desta trajetória, o número de vacâncias produzidas é denotado por dN .

Para um constituinte de número atômico Z , distribuído homogeneamente na amostra, cuja concentração é C_Z e massa atômica é A_Z , dN na camada K é dado por:

$$dN_K = \frac{N_p N_{av} C_Z \sigma_Z(E) dE}{A_Z S_M(E)} \quad (I.2)$$

Nesta equação, tem-se que:

N_p : número de prótons;

N_{av} : número de Avogrado;

$\sigma_Z(E)$: seção de choque de ionização da camada K para prótons com energia E correspondendo a uma trajetória x ;

ρ : densidade da amostra;

$S_M(E)$: poder de freamento da matriz, dado por:

$$S_M = \rho^{-1} \frac{dE}{dx} \quad (I.3)$$

Através de I.3, da fluorescência ω_{KZ} e da fração de intensidade b_{KZ} , pode-se determinar o número de raios-x em uma linha espectral particular. No entanto, a intensidade dos raios -x é parcialmente absorvida pela matriz da amostra, uma vez que a trajetória em direção ao detector segue a geometria da figura I2.

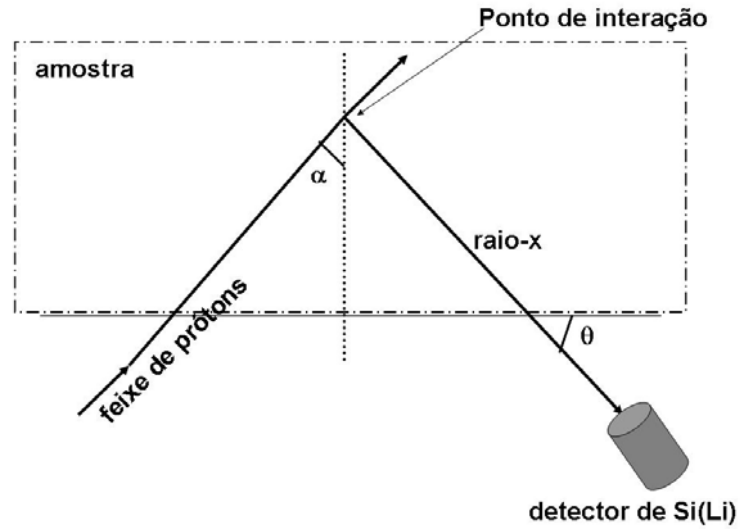


Figura I2: Geometria generalizada para PIXE.

A integração sobre todos os segmentos da trajetória do próton, fornece a intensidade total do raio-x, ou contagem, $Y(Z)$, de cada raio-x característico, como resultado da passagem de N_p prótons através da amostra:

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

Nesta equação, temos que:

- $\Omega/4\pi$: fração do ângulo sólido subtendida pelo detector;
- ε_z^i : eficiência intrínseca do detector, que depende da geometria do sistema e da eficiência intrínseca do cristal;
- $t_{K,Z}$: transmissão através de qualquer absorvedor interposto entre a amostra e o detector;

- E_0 e E_f : energias de entrada e saída do próton.

A integral ($I_Z(M)$) em I.4 representa os “efeitos de matriz”, como a atenuação dos raios-x produzidos e o freamento dos prótons.

No caso das camadas L e M, $Y(Z)$ torna-se substancialmente mais complicada, devido à existência de três e cinco subcamadas respectivamente. Porém, a equação I.4 pode ser facilmente generalizada para esses casos.

A análise para amostras consideradas *grossas*, como as usadas neste estudo, é feita considerando que o feixe perde toda a energia no interior das mesmas. Desta forma, E_f é igual a zero na equação I.4 e todos os efeitos de matriz devem ser levados em conta em $I_Z(M)$.

A equação I.4 pode ser reescrita a partir da definição de $Y_I(Z)$ como o número teórico de contagens de raios-x por unidade de ângulo sólido, por unidade de carga dos prótons (em μC) e por unidade de concentração:

$$Y(Z) = Qf_Q \Omega \varepsilon^i z t_z C_z Y_I(Z) \quad (\text{I.5})$$

Q é a medida experimental da carga do feixe e f_Q é um fator de conversão para carga absoluta. Combinando estes dois fatores com o ângulo sólido Ω , define-se uma única constante experimental que descreve o sistema, H (fatores de padronização), cujo procedimento para obtenção será descrito no decorrer deste anexo, em PADRONIZAÇÃO.

$$Y(Z) = H \varepsilon^i z t_z C_z Y_I(Z) \quad (\text{I.6})$$

A análise dos espectros de PIXE e a conseqüente obtenção das concentrações elementares, são baseadas nas equações I.4, I.5 e I.6.

I.B PADRONIZAÇÃO

As áreas dos picos podem ser convertidas em concentrações elementares de forma absoluta, sem o uso de padrões, se todos os parâmetros experimentais, como geometria de detecção, são bem conhecidos. Isto exige um rigoroso controle dos mesmos, tornando o trabalho bastante difícil. Logo, não é o procedimento comumente usado para análises PIXE.

Em geral, o procedimento é realizar uma padronização do sistema, através da comparação do espectro medido com o espectro obtido de um padrão, previamente

selecionado e que, preferencialmente, possui matriz a mais semelhante possível àquela da amostra a ser analisada.

Desta forma, todos os fatores geométricos envolvidos no experimento são incluídos em uma única quantidade que descreve o sistema, H (também chamada de “*fatores de padronização*”), tornando-se desnecessário a obtenção dos valores absolutos dos mesmos.

Para obter H (equação I.6), usamos uma amostra padrão, em que as concentrações elementares são prévia e independentemente bem conhecidas e as chamamos de C_V . Esta amostra é colocada na nossa montagem experimental e um espectro é obtido. Este espectro é analisado com o software GUPIXWIN, tomando-se o valor inicial de H como sendo 1.

A concentração então obtida do ajuste, denominada C_M , quando comparada com a concentração tabelada C_V determina o valor correto de H através da expressão I.7.

$$H = \frac{C_M}{C_V} \quad (I.7)$$

Assim, para todos os demais espectros medidos, sem que haja alterações no arranjo experimental, as concentrações serão normalizadas com este valor de H. Naturalmente entre diferentes épocas, ou mesmo no caso de variações de energia numa mesma rodada de medidas, teremos diferentes valores de H, que são parâmetro de entrada do GUPIXWIN.

I.C DETECTORES USADOS EM PIXE

Os detectores usados em PIXE são basicamente de dois tipos: HPGe e Si(Li). Embora ambos os tipos estejam presentes em nosso laboratório, apenas o de Si(Li) foi usado neste trabalho. Este detector pertence à série SLP da EG&G ORETC e, como já citado no capítulo 3, sua resolução é 155 eV em 5.9 keV, detectando em uma faixa de energias de 1 a 15.5 keV. O cristal possui diâmetro ativo de 6 mm e profundidade de 5.7 mm.

A interação dos raios-x provenientes da amostras com o cristal ocorre, principalmente, através do efeito fotoelétrico. Os elétrons produzidos são atraídos por uma diferença de potencial de -1 kV aplicada ao cristal. Um pulso de tensão é gerado e pré-amplificado e, posteriormente, processado por um amplificador modelo 672 da Ortec, que dá ao pulso uma forma aproximadamente gaussiana. A amplitude do pulso é proporcional à

energia do raio-x incidente. Então, os pulsos são digitalizados e processados por uma placa de aquisição de dados Genie 2000 (Camberra).

I.C.A CALIBRAÇÃO DOS DETECTORES

Cada linha de raio-x resulta em um pico (representado pelos pontos na figura I3) no espectro do detector, centrado em um canal relacionado linearmente com a energia. Com boa aproximação, a função resposta aos raios-x de energia bem definida E , é uma distribuição Gaussiana (linha cheia na figura I3). Assim, como esquematizado na figura I3, um pico cujos raios-x possuem energia E_1 está centrado em um canal c_1 :

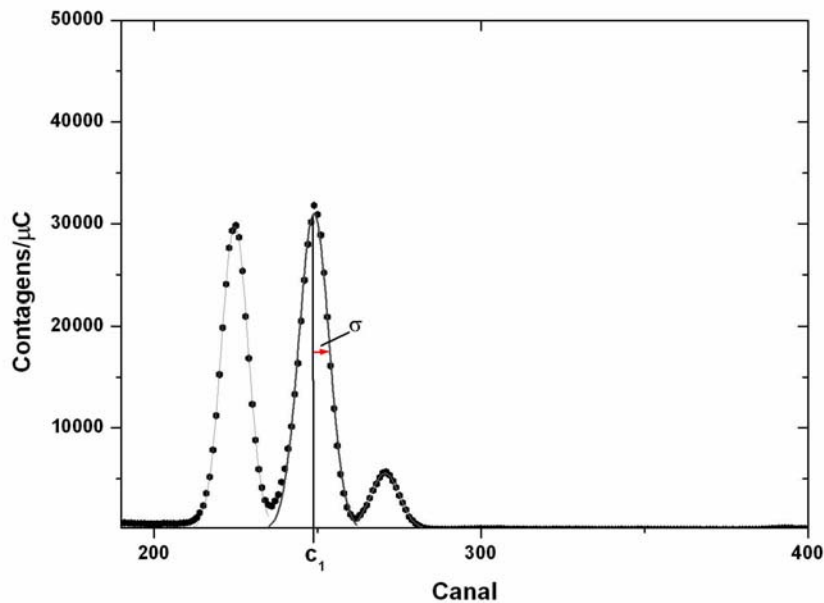


Figura I3: Ajuste gaussiano (linha cheia) para determinação do centro e da largura do pico.

O ajuste gaussiano é feito para todos os picos do espectro, de forma que para cada valor de energia, possamos ter o valor do centro do pico correspondente (centróide).

Estes valores de energia e dos centróides são então graficados (figura I4) e ajustados pela melhor linha possível de acordo com a equação linear I.8 (equação de calibração de energia). Através deste último ajuste é possível obter os parâmetros A_1 e A_2 .

$$c = A_1 + A_2 E \quad (I.8)$$

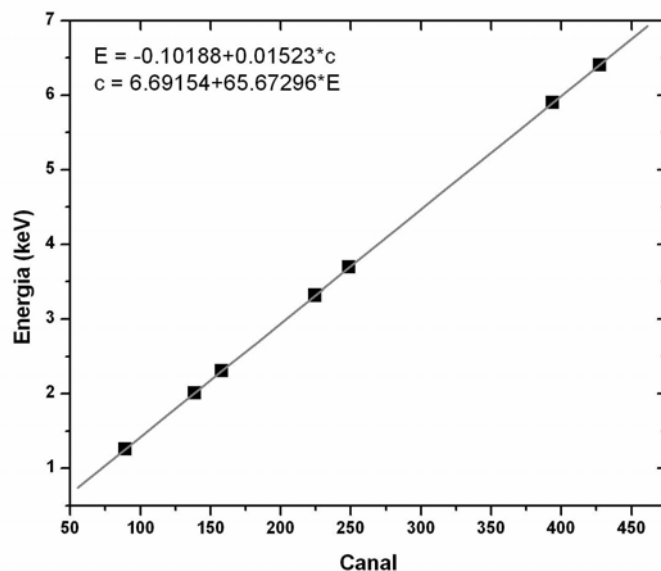


Figura I4: Calibração de energia obtida pelo padrão de folhas de maçã. As incertezas são menores que os pontos graficados.

Além da dependência da energia com o canal, podemos obter a relação da energia com a largura da Gaussiana ou desvio-padrão da distribuição, σ . Cada pico do espectro tem uma largura definida, em função do ruído eletrônico (do detector e do amplificador) e da natureza estatística da formação de cargas. Os valores das energias (referentes aos centróides) e respectivas distribuições estão graficados na figura I5. A linha cheia na figura é o melhor ajuste obtido usando-se a função descrita na equação I.9, que fornece os valores dos parâmetros A_4 e A_5 . Estes parâmetros, juntamente com A_1 e A_2 , são fundamentais para a determinação das concentrações elementares.

$$\sigma = \left(A_4 + A_5 E \right)^{\frac{1}{2}} \quad (I.9)$$

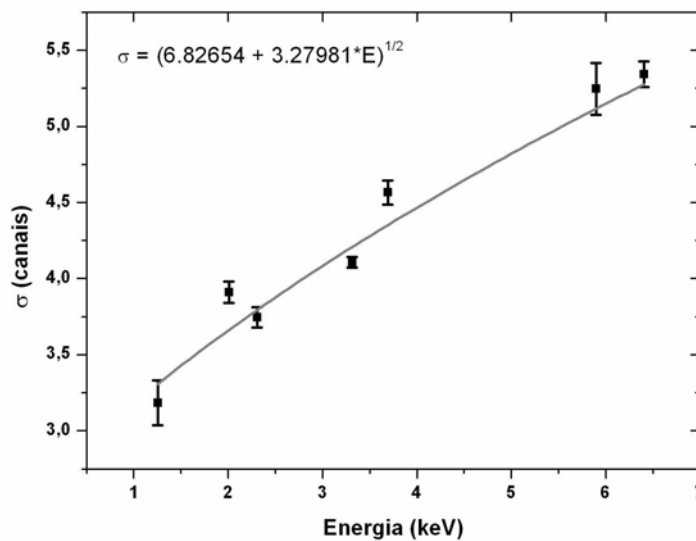


Figura 15: Calibração de largura obtida pelo padrão de folhas de maçã.

I.C.B FUNÇÃO RESPOSTA DO DETECTOR (*LINESHAPE*)

O conhecimento da função resposta do detector é importante para modelar os espectros de PIXE. A técnica possibilita uma muito boa definição do pico de raios-X, apresentando uma alta razão pico/background quando comparada com outras espectroscopias de raios-X [37]. Também, na prática, os detectores apresentam imperfeições que podem eventualmente distorcer a forma do pico, idealmente tomada como uma gaussiana. Como resultado estes fatores produzem um efeito de cauda no lado de menor energia (esquerda). Estes efeitos por sua vez podem, então, ser adicionalmente computados na concentração de um outro elemento. O software GUPPIXWIN prevê, quando for o caso, que correções sejam feitas para eliminar tais efeitos.

I.C.C PILE-UP

Para contagens altas, quando dois fótons chegam simultaneamente ao detector, os correspondentes pulsos podem ser somados, produzindo um aparente e único pico, à direita

dos picos característicos de certo elemento, com energia igual à soma das energias individuais de cada pico. Este fenômeno é conhecido como *pile-up*.

Como o detector de Si(Li) requer um tempo finito para processar os pulsos, a chegada simultânea de fótons pode gerar distorções significantes no espectro, causando perdas nos picos primários, elevando a radiação de fundo e, portanto, prejudicando o limite de detecção e aumentando as incertezas nas medidas.

Existem redutores de *pile-up*, que podem ser acoplados ao sistema de deflexão do feixe, mas o problema nem sempre é completamente resolvido e, por isso, GUPIXWIN possibilita que o efeito seja levado em conta e corrigido na análise.

I.C.D ABSORVEDORES DE RAIOS-X

Uma boa acurácia nas análises PIXE exige a melhor estatística de contagens possível e isto significa crescente tempo de feixe. Desta forma, a capacidade limitada da taxa de contagens do sistema do detector de Si(Li) não deve ser desperdiçada com regiões do espectro que contém informações que não sejam de interesse. Para tal pode-se adotar alguns procedimentos, entre eles por exemplo, absorvedores de radiação. Na nossa experiência foi usado filtro de mylar, para atenuar a contribuição da radiação de bremsstrahlung em energias inferiores a 4 keV e minimizar os picos de *pile-up*. Nos casos em que os próprios picos de interesse sejam indesejadamente diminuídos pela presença do absorvedor, faz-se orifício no centro do filtro para permitir a passagem de uma fração dos raios-x de menor energia.

I.C.E LIMITE DE DETECÇÃO

O limite de detecção (LOD) é uma importante característica para qualquer técnica de análise. Os fatores determinantes do LOD são o próprio sistema e a amostra analisada.

Na figura I6, por exemplo, identificamos dois picos diferentes. O pico da direita está em região de pouca radiação de fundo, enquanto o da esquerda está completamente levantado por ela. Adota-se, na espectroscopia PIXE, que o valor de LOD é obtido a partir de três desvios-padrão da área de radiação de fundo na região do pico de um determinado

elemento. Seria, na figura I6, a relação entre as áreas A e B no pico da esquerda e entre C e D no pico da direita.

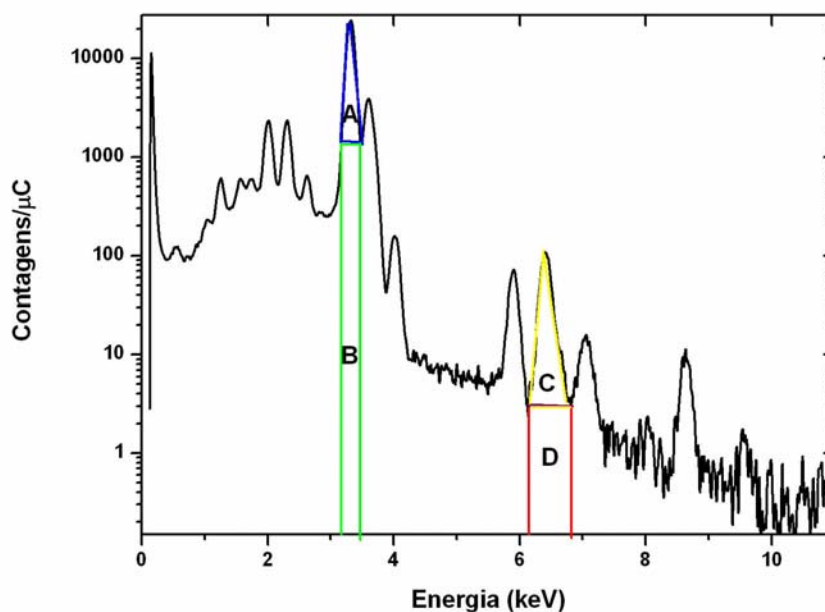


Figura I6: Obtenção do valor de LOD a partir da área de radiação de fundo do pico de um certo elemento.

Assim, cada elemento apresenta diferente valor de LOD. Dos nossos ajustes, tomando-se uma média de todas as amostras de vinho que foram medidas, obtivemos os valores de LOD, como está mostrado no gráfico da figura I7 (a linha pontilhada é apenas uma ajuda para visualizar a seqüência dos pontos).

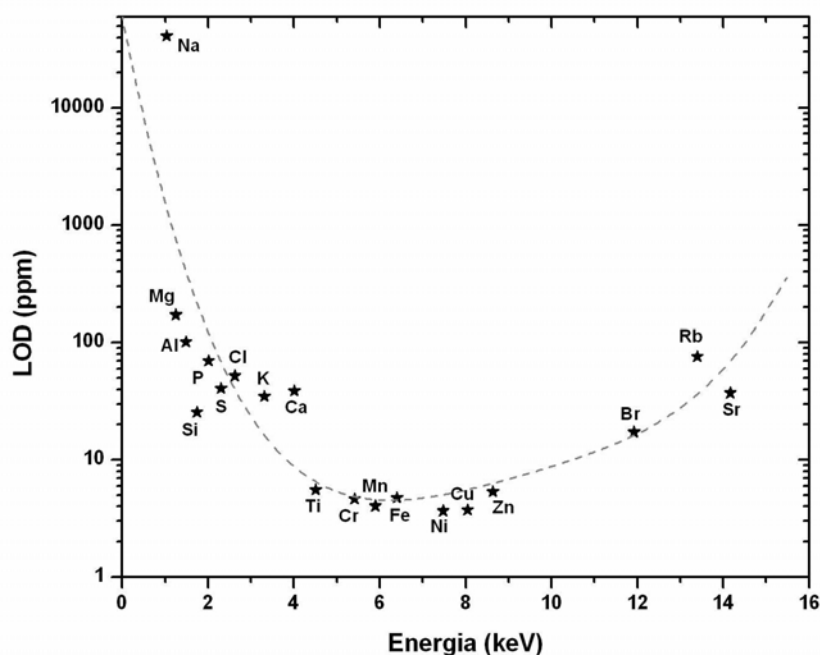


Figura I8: Limite de detecção para amostras de vinho. As barras de erro são menores que os pontos graficados

Os limites de detecção variam da ordem de 3 ppm para o Ni, por exemplo, até aproximadamente 200 ppm para o Na.

I.D TIPOS DE AMOSTRAS

As amostras (ou alvos) para análise com PIXE devem seguir algumas exigências, tais como:

- 1) Devem ser sólidas, devido ao sistema de vácuo da câmara de análise;
- 2) Devem ser homogêneas, de maneira que um determinado ponto no qual o feixe incida, represente igualmente a amostra em sua totalidade;
- 3) A superfície não deve apresentar irregularidades, para não ocasionar variações nas distâncias e nos ângulos entre o feixe e a normal à superfície e entre esta e o detector.

As amostras podem ser divididas em duas categorias: finas e grossas.

Amostras grossas são, geralmente, as de mais fácil preparação, por serem de material pulverizado que é transformado em *pellets*. Caracterizam-se pela perda total da energia do feixe que as atravessa. Exemplos deste tipo de amostras são as de solo, rochas, e alguns tipos de amostras orgânicas e biológicas, que podem passar pelo processo de liofilização (ou tratamento térmico) e serem transformadas em *pellets*, como sangue.

As amostras finas são normalmente preparadas pelo depósito de uma pequena e representativa quantidade do material a ser irradiado em um substrato. Nestas, o feixe perde somente uma fração desprezível de sua energia inicial. Exemplos de alvos finos são os de poluição atmosférica, depositados em substratos tipo filtros de policarbonato.

I.E GUIXWIN

GUIXWIN foi desenvolvido a partir do GUIX, um software usado desde a década de 90 para determinação das concentrações elementares em um espectro de PIXE.

É um programa em C++, e designado especificamente para uso em Windows XP. Através do ajuste simultâneo dos picos de um espectro pelo método de mínimos quadrados não-linear, tem-se o cálculo das áreas dos picos e, com a padronização, a subsequente conversão das áreas em concentrações elementares.

A contabilização das concentrações é feita usando-se uma completa base de dados existente, que contém informações sobre as energias das linhas de raios-x e intensidades relativas; seção de choque de produção de raios-x; largura das lorentzianas; poder de freamento e fatores de atenuação para todos os materiais; densidade e peso atômico dos elementos e seção de choque fotoelétrica.

Tal base de dados, juntamente com outros parâmetros numéricos, como os de calibração, possibilita estimar as áreas dos picos do espectro obtido experimentalmente e converte-las em concentrações elementares através da padronização do sistema.

I.E.A PARÂMETROS IMPORTANTES PARA USO DO GUPIXWIN

Inicialmente, o usuário deve selecionar a opção *New Project (File)*, e abrir o espectro PIXE no formato de arquivo “asc”. Então, algumas informações experimentais devem ser fornecidas, como as citadas a seguir, para que GUPIXWIN possa calcular as concentrações elementares.

As informações de 1 a 7 são fornecidas ao programa em *Setup*.

1. O usuário deve informar que deseja obter as concentrações dos elementos traços a partir de uma matriz conhecida (caso mais geral e simples) (*Trace or Matrix/Trace Element Solution in a Known Matrix*).
2. O tipo de íon que constitui o feixe e sua energia em keV. No nosso caso, o feixe é constituído por prótons e possui energia de aproximadamente 2 MeV (*Experimental Setup Options*).
3. Geometria do sistema, especificada pelo ângulo entre o feixe de prótons e a normal da amostra (*beam normal*) e pelo ângulo entre o raio-x emitido e a normal da amostra (*x-ray normal*). Para os experimentos de PIXE em nosso laboratório, estes ângulos são, respectivamente, 0° e 45° (*Experimental Setup Options*).
4. O número total de partículas que incide na amostra, medido como carga (em μC) (*Experimental Setup Options*).
5. O fator de padronização H, que é usado para converter as áreas dos picos do espectro em concentrações elementares (*Experimental Setup Options*). H é, geralmente, dependente da energia. Os valores de H, com respectivas energias, devem ser fornecidos ao GUPIXWIN em um arquivo próprio para esta finalidade (arquivos “txt” com a extensão HED). Arquivos .HED devem ser criados para cada uma das linhas de emissão de raio-x (K, L e M) de forma independente, ou seja, deve existir um arquivo .HED para linhas K, outro para linhas L e outro para linhas M.

6. Materiais absorvedores – filtros – entre a amostra e o detector. A composição e a espessura destes materiais responsáveis pela atenuação do raio-x em sua trajetória até o detector devem ser informadas. Alguns filtros possuem um orifício, cuja dimensão deve ser informada. Os filtros usados em nossos experimentos estão tabelados no ANEXO II, p. 3 (*Experimental Setup Options*):

7. Informações sobre o detector, como composição e espessura do cristal (estas informações estão contidas em arquivos próprios para GUPIXWIN, que podem ser selecionados de acordo com o detector em uso) (*Experimental Setup Options*).

As informações de 8 a 10 são fornecidas ao programa em *Sample*.

8. Estrutura da amostra (*Sample Structure*).

9. Composição da matriz, no caso de amostras grossas (*Trace Element Solution/Define Matrix*).

10. Elementos presentes no espectro, identificando as opções de linhas de raio-x para cada elemento (*Trace Element Solution/Define Fit Elements*).

As informações de 11 a 14 são fornecidas ao programa em *Fi/Spectrum Details*.

11. Parâmetros A_1 , A_2 , A_3 , A_4 e A_5 . Estes são os parâmetros de calibração e geralmente são previamente obtidos através da calibração de energia e de largura (ver calibração dos detectores). A_3 deve ser nulo, uma vez que a relação canal/energia é linear. Além disso, A_3 e A_5 devem ser fixados. Estes parâmetros, tais como foram usados neste trabalho, estão tabelados no ANEXO II, p. 2.

12. Região do ajuste (*start channel* e *stop channel*).

13. Informação do número de picos de pile-up ou optar por *peak and continuum pile-up*.

14. Selecionar a opção *Variable UW,LW* para *Filters Options*.

15. A última informação deve ser fornecida em *Run/Options Run*. O usuário tem a opção de salvar ou não o arquivo PAR gerado por GUPIXWIN, informando o diretório onde deseja salvar. Uma vez criado o arquivo PAR, não há necessidade de fornecer as informações de 1 a 14. Basta, ao iniciar o programa, optar por *File/Open Old Project* e substituir o espectro existente pelo que deve ser analisado, em *Replace Spectrum*.

Os resultados do fit (saída do programa) podem ser vistos em *View Stats*, que fornece a descrição do arquivo, as concentrações elementares, limites de detecção (LOD), decisões do programa e incertezas associadas ao fit, dentre outras informações. Há também a opção de criar arquivos “csv” e “txt” para os resultados obtidos, em *Output Manager*.

Os arquivos criados são: PIXCON (tabela de concentrações), PIXERR (tabela dos erros do fit, expressos em porcentagens), PIXLOD (tabela dos valores do LOD) e PIXDEC (tabela das decisões).

No caso de a matriz não ser conhecida, a opção a ser escolhida em *Setup/ Trace or Matrix* deve ser *Iterative Matrix Element Solution*. GUPIXWIN realiza iterações para determinação das concentrações elementares. Informações sobre os elementos leves e não observados no espectro devem ser fornecidas.

Um caso especial refere-se ao uso do *Batch Mode*. Com esta opção, GUPIXWIN faz o ajuste de vários espectros, previamente definidos, sequencialmente, criando arquivos “csv” para concentrações elementares, incertezas, LOD e decisões. É importante para análise de várias amostras de mesmo tipo.

I.F Rutherford Backscattering Spectrometry

Rutherford Backscattering Spectrometry (RBS) é uma técnica analítica cujo experimento é simples [38] e de grande aplicação na determinação de impurezas de materiais, na medida de espessura de filmes, dentre outras. Aliada a PIXE, esta técnica é uma importante ferramenta na caracterização elementar de diferentes tipos de amostras, pois através de seu uso é possível determinar a matriz constituinte da amostra.

Experimentalmente, um feixe de partículas α (núcleos de ^4He), monoenergético (~ 1 MeV) e colimado, gerado em uma fonte de íons, incide sobre o alvo (amostra de interesse), de forma que as mesmas são retroespalhadas pelos átomos do alvo. A probabilidade de colisão das partículas do feixe com átomos do alvo é muito baixa, devido às dimensões dos núcleos atômicos.

Se o alvo é considerado fino, as partículas α atravessam o mesmo geralmente sofrendo mudanças na energia e direção. Em se tratando de alvos espessos, somente partículas espalhadas em ângulos superiores a 90° em relação à direção de incidência podem ser detectadas. A detecção depende da área definida pelo ângulo sólido do detector.

RBS é descrita fisicamente por alguns princípios básicos, relacionados aos fatores que caracterizam a técnica. São eles:

1. A transferência de energia da partícula incidente (projétil) para o núcleo atômico do alvo em uma colisão elástica entre dois corpos. Este processo, em que energia e momentum linear se conservam, determina o *coeficiente cinemático*, K , e permite a diferenciação das massas das partículas envolvidas. É definida resumidamente por:

$$K \equiv \frac{E_1}{E_0} \quad (\text{I.10})$$

K , de acordo com a conservação de energia e momentum, é dado por:

$$K(M_1, M_2, \theta) = \left[\frac{M_1 \cos \theta + (M_2^2 \sin^2 \theta)^{1/2}}{M_1 + M_2} \right]^2 \quad (\text{I.11})$$

Em I.11, M_1 é a massa do íon incidente com energia E_0 , retroespalhado a um ângulo θ com relação a sua trajetória inicial e M_2 é a massa do átomo responsável pelo retroespalhamento do íon.

Para uma correta descrição deste processo, é necessário que duas condições sejam consideradas: a energia E_0 do projétil deve ser muito maior que a energia de ligação dos átomos do alvo ($E_0 \gg 10$ eV), e não devem existir reações nucleares, o que pode alterar substancialmente a energia dos íons incidentes..

A probabilidade de ocorrência da colisão, que leva ao conceito de *seção de choque diferencial de espalhamento*, $\frac{d\alpha}{d\Omega}$, e a possibilidade de análise quantitativa da composição

atômica. $\frac{d\alpha}{d\Omega}$ é:

1. inversamente proporcional ao quadrado da energia do projétil. O número de partículas espalhadas aumenta com o decréscimo da energia incidente;
2. proporcional ao quadrado do número atômico das partículas do feixe: a detecção de um elemento do alvo é quatro vezes maior em um experimento com um feixe de He ($Z_1 = 2$) que para um feixe de prótons ($Z_1 = 1$).
3. proporcional ao quadrado do número atômico do alvo, (Z_2), ou seja, a eficiência do experimento é maior para um alvo constituído por elementos pesados em comparação com um cujos elementos são mais leves.

Com base nestas informações, verifica-se que o número de contagens em um determinado canal em um espectro de RBS, ou a altura H, está relacionado ao número de colisões na espessura dx do alvo e, portanto, ao número de retroespalhamentos ocorridos. Sendo Q o número de partículas α incidentes, Ω o ângulo sólido do detector, σ a seção de choque de espalhamento e N_{M_2} a densidade volumétrica de átomos no alvo, pode-se calcular H através da seguinte equação:

$$H_{M_2} = Q\Omega\sigma N_{M_2} \Delta x \quad (I.12)$$

Através de I.12 pode-se determinar o número de átomos de uma certa amostra por unidade de área.

Em RBS, existem amostras que contêm um único elemento. Este é o caso mais simples para cálculo de H. No caso de amostras que contêm mais de um elemento, existe superposição dos sinais correspondentes aos diferentes elementos, A e B, por exemplo, como mostra a figura I9, em que o elemento A possui número atômico maior que B.

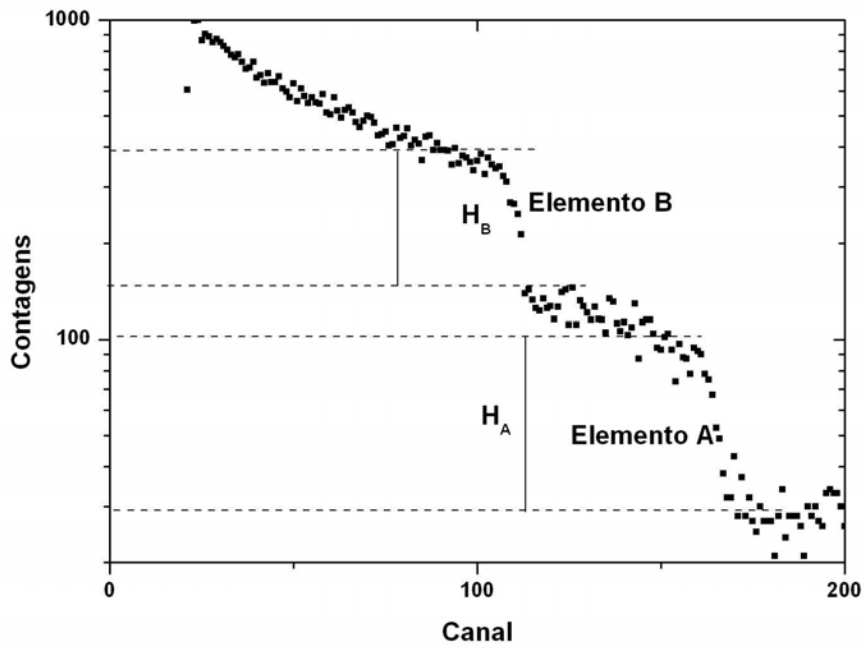


Figura I9: Espectro típico de RBS contendo dois elementos.

Em tal situação, a borda de cada sinal é definida por K de cada elemento. Pode-se obter uma relação (I.13) entre as concentrações de A e B, considerando-se que estes elementos obedeçam à fórmula estequiométrica A_mB_n , em que m indica o número de átomos em A e n , o número de átomos em B.

$$\frac{m}{n} = \frac{H_A}{\sigma_A(E_0)} \frac{\sigma_B(E_0)}{H_B} \quad (\text{I.13})$$

ANEXO II – PADRONIZAÇÃO DO SISTEMA PIXE DO IF – UFRGS

A padronização do sistema PIXE contou com quatro diferentes padrões: 1) folhas de maçã (*Apple Leaves*), 2) fígado de boi (*Bovine Liver*) e 3) sedimento (*Buffalo River Sediment*), do National Institute of Standards e Technology, e 4) músculo de peixe (*Dogfish Muscle - DORM-2*), do National Research Council Canada.

Conforme citado em 3.1, há dois tipos de porta-amostras utilizados para realização de medidas em PIXE neste laboratório: um pequeno (PA13), com capacidade para 15 amostras de aproximadamente 13 mm, e dois grandes (PA25), cada um com capacidade para 10 amostras de 25 mm.

Para aumentar a confiabilidade das nossas medidas, eliminando variações involuntárias, e proceder na padronização de nosso sistema, amostras de padrões foram intercaladas nas diferentes posições do porta-amostras.

Por outro lado, dado que as dimensões de PA13 e PA25 são diferentes, isto poderia produzir variações geométricas da área de medida e ângulo sólido entre amostra e detector. Para evitar estas diferenças, as amostras foram medidas independentemente, posicionando-as alternadamente nos porta-amostras e irradiando-se cada uma com 900s e com uma corrente média de 6 nA. Os resultados das diferentes medidas em diferentes posições no porta-amostras, em que uma amostra pode ser irradiada, foram então ajustados para produzir uma função erro experimental com respectiva incerteza. Esta incerteza deve ser somada quadraticamente àquela gerada pelo GUPIXWIN, resultando na incerteza final da medida.

Abaixo listamos, na forma de tabelas e equações os valores e resultados dos padrões. A razão pela qual estes resultados são apresentados detalhadamente é que, a partir de agora, sirvam como referência aos demais trabalhos do grupo, constituindo-se assim numa tabela de rápida consulta.

II A PARÂMETROS REFERENTES À CALIBRAÇÃO DE ENERGIA/CANAL E DE LARGURA/ENERGIA (MONTAGEM EXPERIMENTAL ATUAL) PARA USO DO GUPIXWIN E FILTRO UTILIZADO NO DETECTOR DE Si(Li)

Tabela II 1

Parâmetros GUPIXWIN	Si(Li)
A ₁	9.679903
A ₂	67.542781
A ₃	0
A ₄	9.52134
A ₅	1.88816

Detector de Si(Li): $E = -0.143312 + 0.014805 * C$

Filtro utilizado no detector Si(Li)

Tabela II 2

	Thickness (µm)	% Hole área
Mylar	364.9	3.3003

II B PADRÃO DE FOLHAS DE MAÇÃ (SRM1515-NIST)

Matriz do padrão:

Tabela II 3

Elemento	%
C	0.80
O	0.20

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA13

Tabela II 4

Elemento	Energia (linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Mg	1.254	7.94476	Rb	1.694	6.26054
Al	1.487	0.74622	Sr	1.806	0.49879
P	2.01	0.05668	Ba	4.466	0.00663
Cl	2.622	0.02408			
K	3.314	0.01829			
Ca	3.692	0.01409			
Mn	5.899	0.00939			
Fé	6.405	0.01076			
Cu	8.048	0.01026			
Zn	8.639	0.01058			
Rb	13.395	0.00628			
Sr	14.165	0.00944			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 3.59068 \quad B = -0.83456 \quad C = 0.17444$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = 28.41586 \quad B = -2.40566$

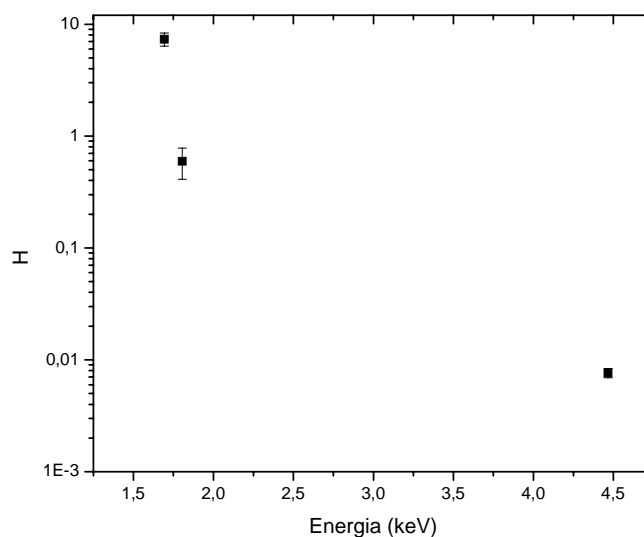


Figura II 1: H para PA13 – linhas L – detector de Si (Li)

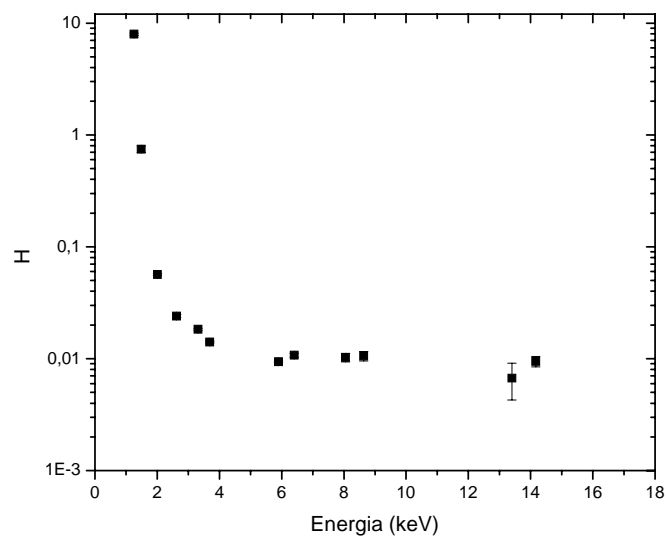


Figura II 2: H para PA13 – linhas K – detector de Si (Li)

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA25

Tabela II 5

Elemento	Energia (linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Mg	1.254	8.07655	Rb l	1.694	6.37157
Al	1.487	0.80294	Sr l	1.806	0.3424
P	2.01	0.05956	Ba l	4.466	0.00801
Cl	2.622	0.02563			
K a	3.314	0.01915			
Ca a	3.692	0.01468			
Mn a	5.899	0.01009			
Fe a	6.405	0.01101			
Cu a	8.048	0.01101			
Zn a	8.639	0.01042			
Rb a	13.395	0.00899			
Sr a	14.165	0.01074			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 3.78392 \quad B = -0.45625 \quad C = 0.09351$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = 20.3055 \quad B = -3.20008$

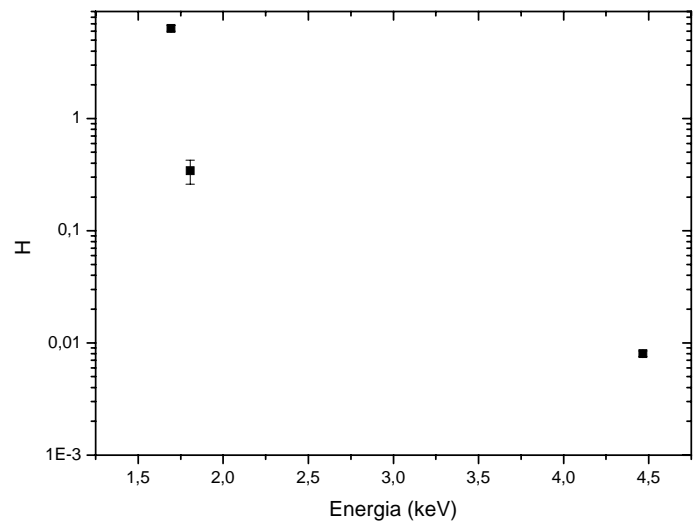


Figura II 3: H para PA25 – linhas L – detector de Si (Li)

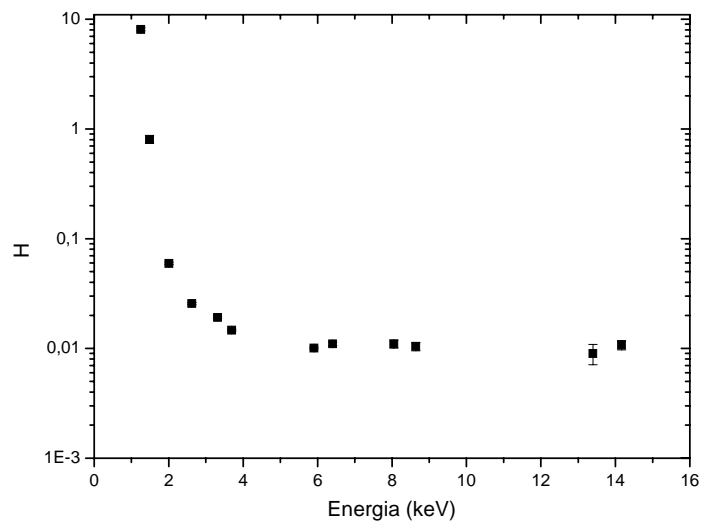


Figura II 4: H para PA25 – linhas K – detector de Si (Li)

II C PADRÃO DE FÍGADO DE BOI (SRM1577b-NIST)

Matriz do padrão:

Tabela II 6

Elemento	%
C	0.70
N	0.15
O	0.15

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA13

Tabela II 7

Elemento	Energia (linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Na	1.041	862.21273	Br l	1.481	12.84124
Mg	1.254	7.37314	Rb l	1.694	1.71241
P	2.01	0.06509	Pb l	10.551	0.09008
S	2.308	0.03021			
Cl	2.622	0.0236			
K a	3.314	0.0172			
Ca a	3.692	0.02466			
Mn a	5.899	0.00726			
Fe a	6.405	0.01033			
Cu a	8.048	0.01013			
Zn a	8.639	0.00992			
Br a	11.924	0.00934			
Rb a	13.395	0.00592			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 4.01198 \quad B = -1.35379 \quad C = 0.22321$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = -3.20735 \quad B = 9.78076$

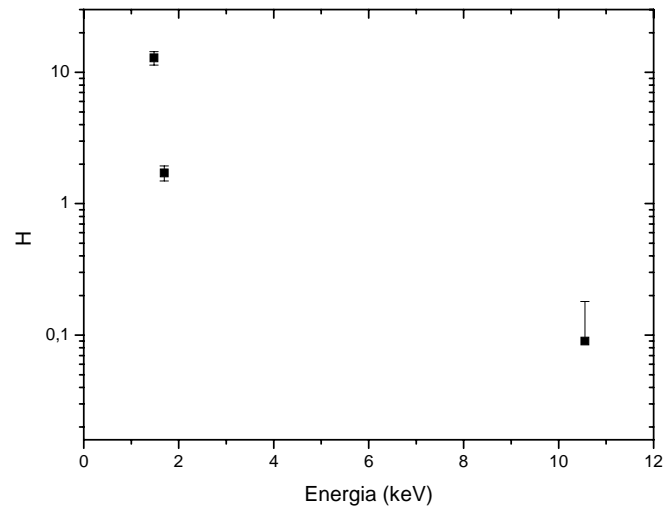


Figura II 5: H para PA13 – linhas L – detector de Si (Li)

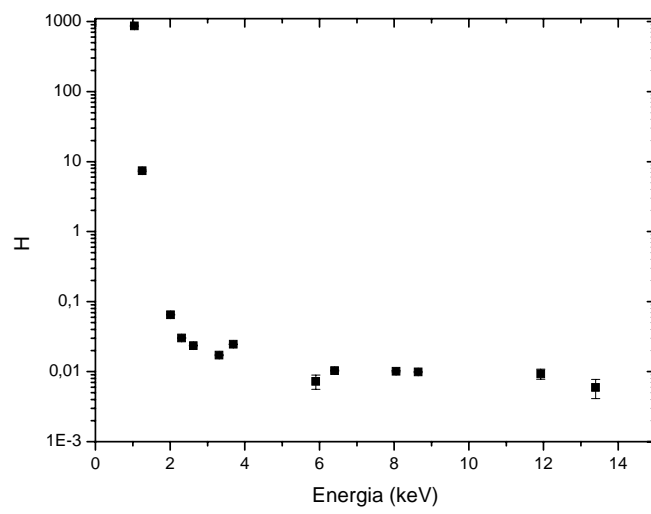


Figura II 6: H para PA13 – linhas K – detector de Si (Li)

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA25

Tabela II 8

Elemento	Energia (linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Na	1.041	918.94573	Br l	1.481	7.31157
Mg	1.254	7.8956	Rb l	1.694	3.32928
P	2.01	0.06784	Pb l	10.551	0.09811
S	2.308	0.03231			
Cl	2.622	0.0249			
K a	3.314	0.01782			
Ca a	3.692	0.02385			
Mn a	5.899	0.00905			
Fe a	6.405	0.01087			
Cu a	8.048	0.01035			
Zn a	8.639	0.01006			
Br a	11.924	0.0083			
Rb a	13.395	0.00726			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 6.19987 \quad B = -2.84348 \quad C = 0.30006$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = 7.36927 \quad B = 5.70271$

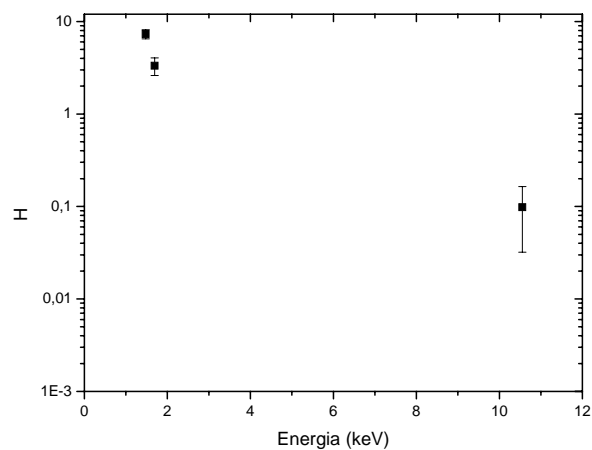


Figura II 7: H para PA25 – linhas L – detector de Si (Li)

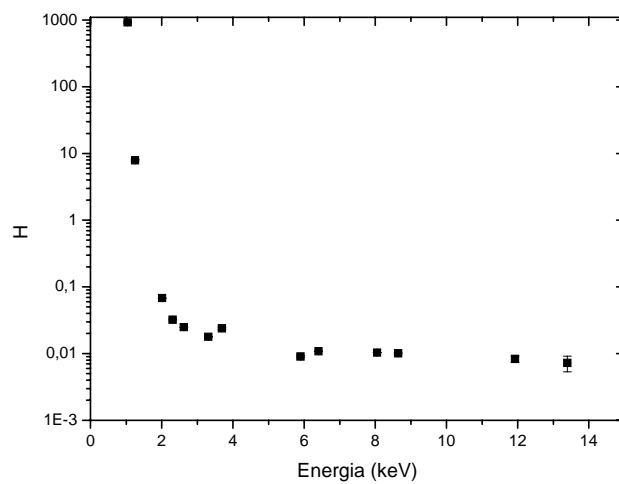


Figura II 8: H para PA25 – linhas K – detector de Si (Li)

II D PADRÃO BUFFALO RIVER - SEDIMENTO (RM8704-NIST)

Matriz do padrão:

Tabela II 9

Elemento	%
C	0.19
N	0.01
O	0.36
F	0.44

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA13

Tabela II 10

Elemento	Energia(linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Na	1.041	1199.61025	Cd l	3.134	6.70068
Mg	1.254	12.58319	Ba l	4.466	0.00809
Al	1.487	1.07978	Pb l	10.551	0.01387
K a	3.314	0.01228			
Ca a	3.692	0.00951			
Mn a	5.899	0.00805			
Fe a	6.405	0.00852			
Ni a	7.478	0.00739			
Zn a	8.639	0.0102			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 8.80721 \quad B = -0.73707 \quad C = 0.17377$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = 30.0951 \quad B = -1.4751$

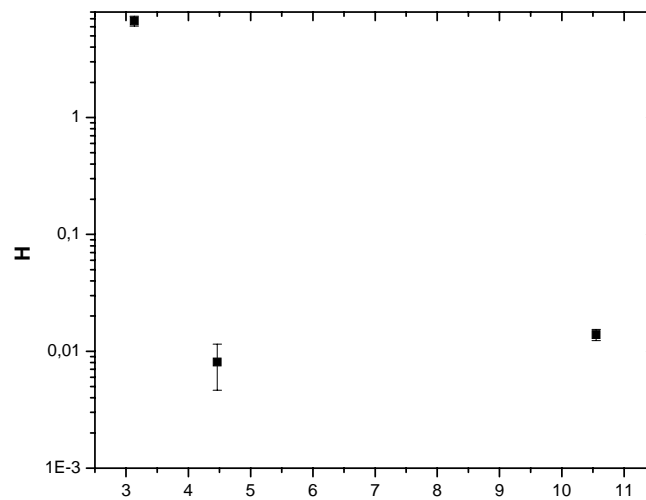


Figura II 9: H para PA13 – linhas L – detector de Si (Li)

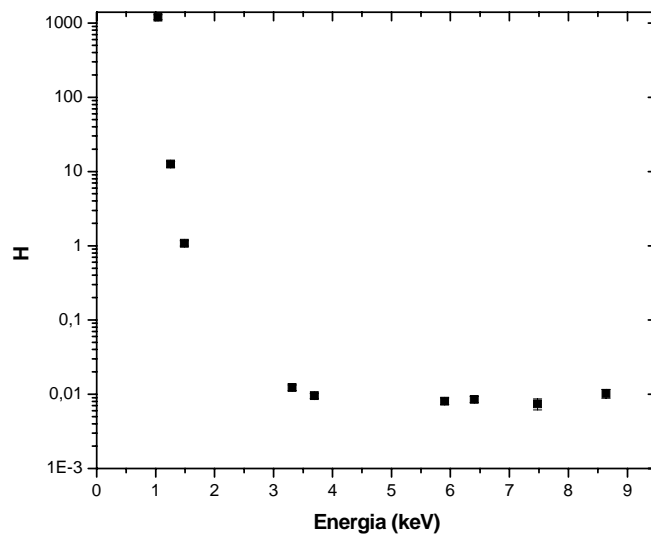


Figura II 10: H para PA13 – linhas K – detector de Si (Li)

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA25

Tabela II 11

Elemento	Energia(linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Na	1.041	922.49604	Cd l	3.134	4.36224
Mg	1.254	8.43589	Cs l	4.286	1.20926
Al	1.487	0.86882	Pb l	10.551	0.01058
K a	3.314	0.00947			
Ca a	3.692	0.00774			
Mn a	5.899	0.00687			
Fe a	6.405	0.0066			
Ni a	7.478	0.00749			
Zn a	8.639	0.00757			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 12.89833 \quad B = -1.11466 \quad C = 0.15357$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = 11.493 \quad B = -0.26631$

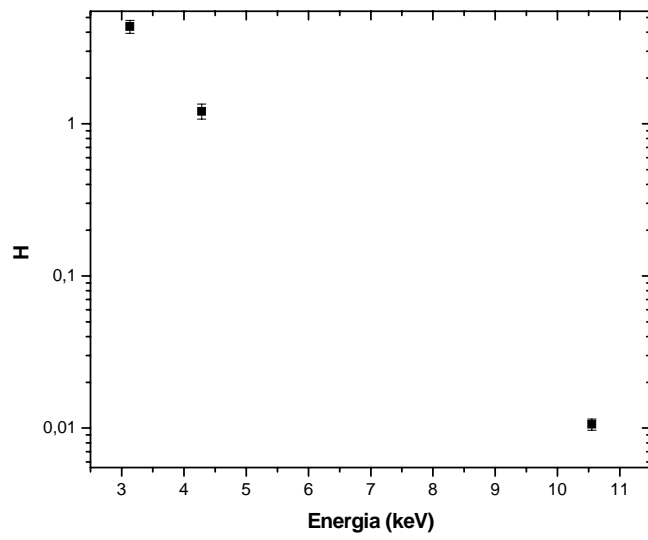


Figura II 11: H para PA25 – linhas L – detector de Si (Li)

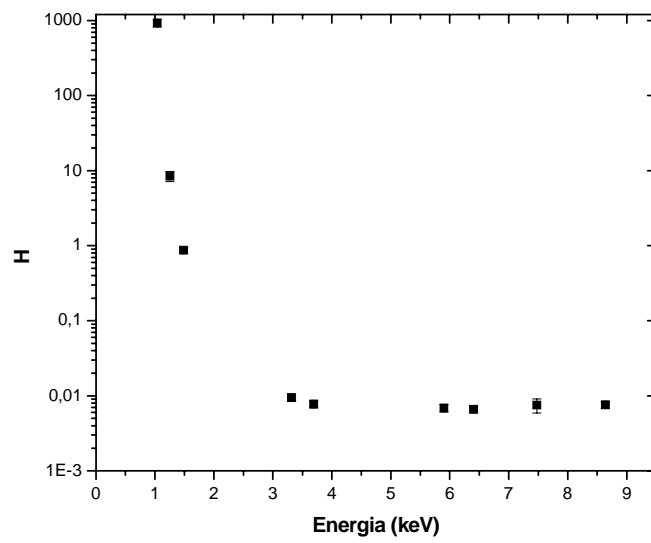


Figura II 12: H para PA25 – linhas K – detector de Si (Li)

II E PADRÃO MÚSCULO DE PEIXE – DORM (CRM DORM-2-NRCC)

Matriz do padrão:

Tabela II 12

Elemento	%
C	0.64
O	0.24
N	0.12

Constante de padronização H – Detector de Si (Li) – PA25

Tabela II 13

Elemento	Energia(linhas K)	H (linhas K)	Elemento	Energia (linhas L)	H (linhas L)
Al	1.487	4.63201	Ag l	2.984	168.02168
Cr a	5.415	0.00951	Cd l	3.134	262.5323
Mn a	5.899	0.00681	Hg l	9.989	0.01618
Fe a	6.405	0.01025			
Ni a	7.478	0.00732			
Cu a	8.048	0.00819			
Zn a	8.639	0.01017			
As a	10.544	0.01005			
Se a	11.222	0.01163			

Função para linhas K: $Y = A + BX + CX^2 \rightarrow A = 41.63476 \quad B = -9.60478 \quad C = 0.72715$

Função para linhas L: $Y = A + BX \rightarrow A = 5.75313 \quad B = 1.37316$

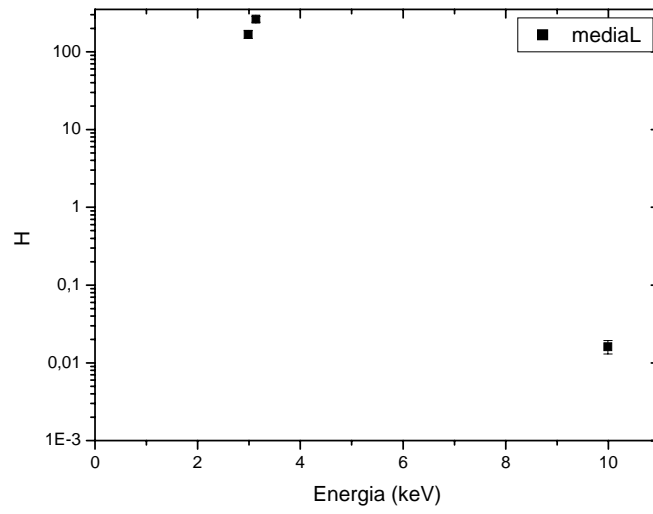


Figura II 13: H para PA25 – linhas K – detector de Si (Li)

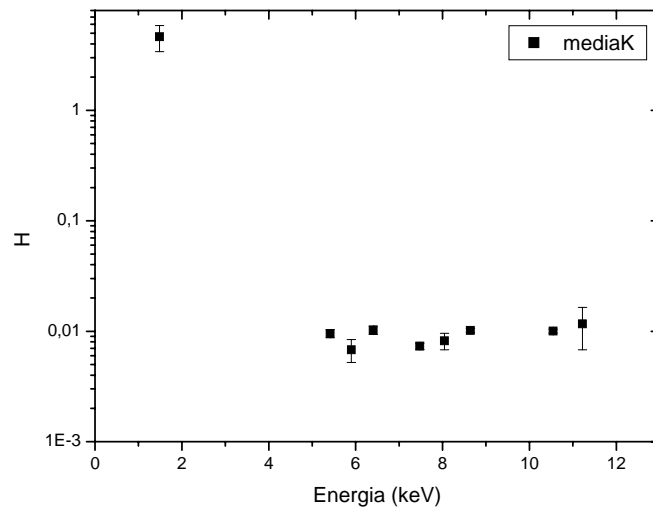


Figura II 13: H para PA25 – linhas K – detector de Si (Li)

REFERÊNCIAS

- [1] MOURA, R. S.; MIRANDA, D. Z.; PINTO, A. C. A.; SICCA, R. F.; SOUZA, M. A. V.; RUBENICH, L. M. S.; CARVALHO, L. C. R. M.; RANGEL, B. M.; TANO, T.; MALDEIRA, S. V. F.; RESENDE, A. C. Mechanism of the endothelium-dependent vasodilation and the antihypertensive effect of brazilian red wine. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v. 44, n. 3, p. 302-309, Sep. 2004.
- [2] CHARTERS, S.; PETTIGREW, S. The dimensions of quality wine. *Food Quality and Preference*, Oxford, v. 18, p. 997-1007, Apr. 2007.
- [3] GUERRA, C. C. Visita aos mistérios do vinho. *Associação Brasileira de Enologia*. Disponível em: < <http://www.enologia.org.br>>. Acesso em: 27 ago. 2007.
- [4] MARZAROTTO, V. Maturação fenólica. *Associação Brasileira de Enologia*. Disponível em: < <http://www.enologia.org.br>>. Acesso em: 25 ago. 2007.
- [5] WANG, J.; HO, L.; ZHAO, Z.; SEROR, I.; HUMALA, N.; DICKSTEIN, D. L.; THIYAGARAJAN, M.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T.; PASINETTI, G. M. Moderate consumption of Cabernet Sauvignon attenuates A β neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*, Bethesda, v. 20, p. 2313-2320, Nov. 2006.
- [6] VALENZANO, D. R.; TERZIBASI, E.; GENADE, A. C.; DOMENICO, L.; CELLERINO, A. Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Current Biology*, v. 16, n. 7, p. 296-300, Feb. 2006.
- [7] ALMEIDA, C. M. R.; VASCONCELOS, M. T. S. D. Lead contamination in portuguese red wines from the Douro region: from the vineyard to the final product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 10, p. 3012-3023, 2003.
- [8] ALVES, M. M. *Vinhos*. São Paulo: DBA, 2000. 173 p.

- [9] INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (Ibravin). *Imigrantes italianos impulsionaram a vitivinicultura brasileira*. Disponível em: < <http://www.ibravin.org.br>> . Acesso em: 21 nov. 2007.
- [10] TONIETTO, J. Afinal, o que é terroir? *Bon Vivant*, Flores da Cunha, v. 8, n. 98, p. 8, abr. 2007.
- [11] ANJOS, M. J.; LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O. de; MOREIRA, S.; BARROSO, R. C.; CASTRO, C. R. F. Trace elements determination in red and white wines using Total-Reflection X-Ray Fluorescence. *Spectrochimica Acta B*, Amsterdam, v. 58, p. 2227-2232, Nov. 2003.
- [12] JOS, A.; MORENO, I.; GONZÁLEZ, A. G.; REPETTO, G.; CAMEÁN, A. M. Differentiation of sparkling wines (Cava and Champagne) according to their mineral content. *Talanta*, Amsterdam, v. 63, p. 377-382, 2004.
- [13] MARENGO, E.; ACETO, M. Statistical investigation of the differences in the distribution of metals in Nebbiolo-Based wines. *Food Chemistry*, New York, v. 81, p. 621-630, 2003.
- [14] LARA, R.; CERUTTI, S.; SALONIA, J. A.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food Chemical Toxicology*, Elmsford, v. 43, p. 293-297, 2005.
- [15] GOMÉZ, M. M. C.; BRANDT, R.; JAKUBOWSKI, N.; ANDERSSON, J. T. Changes of the metal composition in german white wines through the winemaking process. A study of 63 elements by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 52, p. 2953-2961, 2004.
- [16] COETZEE, P. P.; STEFFENS, F. E.; EISELEN, R. J.; AUGUSTYN, O. P.; BALCAEN, L.; VANHAECKE, F. Multi-element analysis of South African wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 53, n. 13, p. 5060-5066, Apr. 2005.

- [17] ALMEIDA, C. M. R.; VASCONCELOS, M. T. D. Multielement composition of wines and their potentialities as fingerprints of wine origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 16, p. 4788-4798, June 2003.
- [18] KOCSONYA, A.; GUGUIANU, O.; DEMETER, I.; HOLLÓS-NAGY, K.; KOVÁCS, I.; SZÖKEFALVI-NAGY, Z. PIXE determination of Pb in wine. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 189, p. 511-515, Apr. 2002.
- [19] NAAB, F. U.; HOLLAND, O. W.; DUGGAN, J. L.; McDANIEL, F. D. Ion beam analyses of carbon nanotubes. *The Journal of Physical Chemistry B*, Washington, v. 109, p. 1415-1419, July 2005.
- [20] FRANKE, S. I. R.; PRÁ, D.; GIULIAN, R.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L.; SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Influence of orange in the levels and in the genotoxicity of iron and cooper. *Food and Chemical Toxicology*, Elmsford, v. 44, n. 3, p. 425-435, Mar. 2006.
- [21] KERN, A. L.; BONATTO, D.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L.; BRENDEL, M.; HNRIQUES, J. A. P. The function of Alr1p of *Saccharomyces cerevisiae* in cadmium detoxification: insights from phylogenetic studies and Particle-Induced X-Ray Emission. *Biometals*, v. 18, p. 31-41, 2005.
- [22] ROMERO-DÁVILA, E.; MIRANDA, J. Trace element determination in tomato puree using Particle-Induced X-Ray Emission and Rutherford Backsttering. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry Applied Radiation and Isotopes*, Oxford, v. 262, n. 2, p. 355-362, 2004.
- [23] RAJU, G. J. N.; SARITA, P.; MURTY, G. A. V. R.; KUMAR, M. R.; REDDY, S. B.; CHARLES, M. J.; LAKSHMINARAYANA, S.; REDDY, T. S.; REDDY, S. B.; VIJAYA, V. Estimation of trace elements in some anti-diabetic medicinal plants using PIXE technique. *Applied Radiation and Isotopes*, Oxford, v. 64, p. 893-900, 2006.

- [24] SILVEIRA, V. C.; OLIVEIRA, A. P. de.; SPEROTTO, R. A.; ESPINDOLA, L. da S.; AMARAL, L.; DIAS, J. F.; CUNHA, J. B. da.; FETT, J. P. Distinct impact of iron stress on mineral status of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Londrina, v. 19, n. 2, p 127-139, Apr./June 2007.
- [25] FOLLMER, C. ; CARLINI, C. ; YONEAMA, M. L. ; DIAS, J. F. PIXE analysis of urease isoenzymes isolated from *Canavalia ensiformis* (jack bean) seeds. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 189, p. 482-486, Apr. 2002.
- [26] GIULIAN, R.; SANTOS, C. E. I.; SHUBEITA, S. M.; SILVA, L. M.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. Elemental characterization of commercial mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) before and after hot water infusion using Ion Beam Techniques. *Journal Food and Chemistry*, v. 55, n. 3, p 741-746, Apr. 2007.
- [27] DIAS, J. F.; BULLA, A.; YONEAMA, M. L. Charging effects in thick insulating samples. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 189, p. 72-76, Apr. 2002.
- [28] SHUBEITA, S. de M.; SANTOS, C. E. I. dos; RYBARCZYK FILHO, J.L.; GIULIAN, R.; MEIRA, L.; SILVA, P. R.; AMARAL, L.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. Residual activity induced by ion bombardment on insulating samples. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 240, n. ½, p. 297-302, Oct. 2005.
- [29] GIULIAN, R. *Estudo da composição elementar da erva-mate (ilex paraguariensis)*. , 2005. 109 f. *Dissertação* (Mestrado em Física) - Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- [30] PAIS, I.; JONES Jr., J. B. *The handbook of trace elements*. Boca Raton: St. Lucie Press, 1997. 223 p.

- [31] VASCONCELOS, M. T. S. D.; ALMEIDA, C. M. R. Multielement composition of wines and their precursors including provenance soil and their potentialities as fingerprints of wine origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 16, p. 4788-4798, 2003.
- [32] NOBLE, A. C.; ORR, B. H.; COOK, W. B.; CAMPBELL, J. L. Trace element analysis of wine by Proton-Induced X-Ray Fluorescence Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 24, n. 3, p. 532-535, 1976.
- [33] CATARINO, S.; SOARES, J.; CURVELO-GARCIA, A. S.; SOUZA, R. B. Implicações da utilização de bentonites sobre a fração mineral de vinhos: potássio, sódio, cálcio, alumínio e chumbo. Efeito do pH. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, Dois Portos, v. 19, n.1, p. 29-45, 2004.
- [34] JOHANSSON, S. A. E.; CAMPBELL, J. L.; MALMQVIST, K. G. (Eds.). *Particle-induced x-ray emission spectrometry (PIXE)*. New York: John Wiley, 1995.
- [35] JOHANSSON, T. B.; AXELSSON, K. R.; JOHANSSON, S. A. E. X-Ray analysis: elemental trace analysis at the 10^{-12} g level. *Nuclear Instruments and Methods in Physics*, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 141-143, July 1970.
- [36] LEO, W. R. *Techniques for nuclear and particles physics experiments*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1987.
- [37] CAMPBELL, J. L. Si(Li) detector response and PIXE spectrum fitting. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Amsterdam, v. 109/110, p. 71-78, Apr. 1996.
- [38] CHU, W. K. *Backscattering spectrometry*. New York: Academic Press, 1978. 384 p.

