

DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ VOLÁTIL EM VINHOS, POR FLUXO CONTÍNUO SEGMENTADO. VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL DO MÉTODO

DÉTERMINATION DE L'ACIDITÉ VOLATILE DES VINS PAR FLUX CONTINU SEGMENTÉ. VALIDATION INTRALABORATOIRE DE LA MÉTHODE

S. RODRIGUES, I. CALDEIRA e E. C. CARVALHO

Estação Vitivinícola Nacional. INIA - 2560 DOIS PORTOS. Portugal.
Email: Inia.evn@mail.telepac.pt

RESUMO

Neste trabalho é apresentada a caracterização intralaboratorial do método de determinação da acidez volátil por análise automatizada, em fluxo contínuo segmentado. O método apresentou uma resposta não linear, em solução aquosa e em vinhos, para uma gama de concentrações de 0.24 a 1.10 g/dm³. No estudo da repetibilidade, em vinhos branco e tinto, encontraram-se valores entre 0.02 e 0.11 g/dm³. A exactidão do método, avaliada pela % de recuperação, apresentou valores de 100.45±0.82%.

Palavras chave: Acidez volátil, determinação, fluxo contínuo.

Mots clés: Acidité volatyle, determination, flux continu segmenté.

INTRODUÇÃO

A acidez volátil é constituída pelo conjunto de ácidos gordos da série acética presente nos vinhos, quer no estado livre quer no estado salificado (OIV, 1990; CEE, 1990).

O teor de acidez volátil dos vinhos encontra-se regulamentado, por forma a evitar a comercialização de vinhos alterados e impróprios para consumo. Pelo Regulamento CEE 822/87 (art.º 66) foi fixado o limite de 18 meq/dm³ para mostos de uvas parcialmente fermentados, vinhos brancos e rosados, e de 20 meq/dm³ para vinhos tintos.

O método oficial português (NP-2140) e método oficial da CEE

(Reg. CEE n.º 2676/90) que se baseia na titulação dos ácidos voláteis, separados do vinho, por arrastamento com vapor de água e rectificação dos vapores apresenta uma repetibilidade de 0.04 g ácido acético/dm³ e reprodutibilidade de 0.08 g/dm³.

Dado o interesse crescente pelos métodos automatizados foram realizados alguns trabalhos visando a determinação da acidez volátil por análise automatizada (Sarris *et al.*, 1970; Dubernet, 1976).

Neste trabalho pretende-se apresentar o estudo do método de determinação da acidez volátil, por fluxo contínuo segmentado. Para o efeito foram seguidas as metodologias de validação de métodos, recentemente propostas, ao OIV, por Bouvier (1994) e Monteiro e Bertrand (1994). Assim de acordo com estes autores a validação de um método compreende 3 partes: a descrição do método, a caracterização intralaboratorial e ainda a avaliação interlaboratorial.

A caracterização intralaboratorial do método engloba de acordo com Monteiro e Bertrand (1994) e Bouvier (1994) os seguintes aspectos: praticabilidade, especificidade, linearidade, exactidão, fidelidade, limiares de detecção, quantificação e sensibilidade e robustez.

Neste trabalho são apresentados resultados relativos à descrição do método e à sua caracterização intralaboratorial. Não se efectuou a determinação dos limiares por se considerar sem interesse para esta determinação analítica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Descrição do Método

Princípio

A acidez volátil é constituída pelos ácidos que pertencem à série acética. Os ácidos láctico, succínico, carbónico, assim como o dióxido de enxofre são excluídos da acidez volátil.

O método baseia-se na separação dos ácidos da série acética dos restantes constituintes do vinho, por microdestilação a 96°C sob corrente de azoto. O ácido láctico é rectificado na destilação. O dióxido de enxofre é oxidado em ácido sulfúrico pela água oxigenada. A interferência do gás carbónico é eliminada pela operação de descarbonização realizada na preparação prévia da amostra. O destilado obtido é então colocado em

presença da fenolftaleína cujas variações de intensidade corante são proporcionais ao valor de acidez volátil.

Preparação da amostra

Eliminação do dióxido de carbono, por ultrasonificação da amostra durante 5 minutos.

Equipamento

Equipamento de fluxo contínuo segmentado SKALAR.

Reagentes e Soluções

A - Solução de ácido tartárico a 25% m/v em água destilada

B - Solução de peróxido de hidrogénio(30%) a 10% v/v em água destilada

C - Solução tampão

carbonato de sódio	26.5 gr
hidrogeno carbonato de sódio (NaHCO ₃)	21.0 gr
água destilada q.b.	1000 ml

D - Reagente corado

solução tampão	3 ml
solução de fenolftaleína a 1% em etanol	2 ml
água destilada q.b.	1000 ml
triton X - 100 (10%)	2 ml

E - Solução de purificação do ar-solução de hidróxido de sódio a 40% m/v em água destilada.

F- Soluções de calibração

Solução mãe - solução de ácido acético a 10% m/v em água destilada

Soluções de trabalho

A partir da solução mãe a 10 g de ácido acético/dm³ preparam-se soluções de concentração de 0.24, 0.48, 0.72, 0.96, 1.1 g de ácido acético/dm³.

Modo operatório

O diagrama de fluxo é apresentado na figura 1.

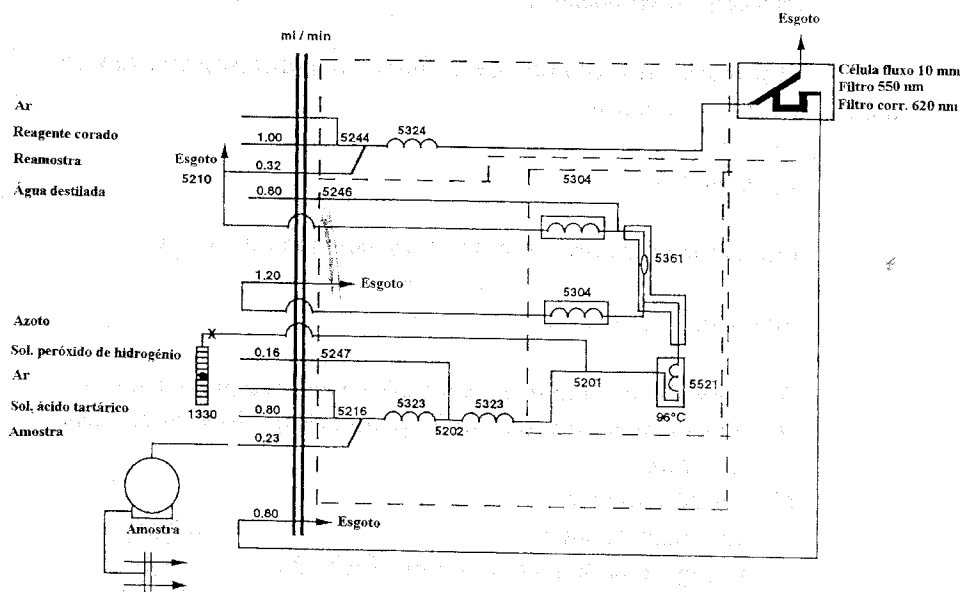


Fig. 1 - Diagrama de fluxo utilizado para a determinação da acidez volátil.
Diagramme de flux utilisé pour la détermination de l'acidité volatile.

Cadência de análise - 30 amostras por hora.

Caracterização intralaboratorial do método

Para a caracterização intralaboratorial seguiu-se de perto as metodologias propostas por Monteiro e Bertrand (1994) e Bouvier (1994).

Praticabilidade

De acordo com Monteiro e Bertrand (1994) esta é uma característica não típica de um método de análise. Em geral, é suficiente que os reagentes e o equipamento necessários se encontrem disponíveis comercialmente.

Especificidade

Pode-se exprimir de acordo com Bouvier (1994) como o grau de interferência da matriz da amostra sobre o resultado analítico.

Os estudos de linearidade e de robustez permitem estimar esta especificidade (Bouvier, 1994).

Quantificação - Linearidade da curva de calibração

A linearidade de um método é a sua capacidade de, no interior de um certo intervalo, obter resultados directamente proporcionais à concentração da substância a dosear (Bouvier, 1994).

Protocolo experimental

Neste trabalho seguiu-se o protocolo de Monteiro e Bertrand (1994) tendo-se no entanto realizado cerca de 7 curvas de calibração, embora por limitações instrumentais, apenas com 5 pontos cada e não incluindo o branco. As soluções de trabalho de ácido acético apresentaram os valores de 0.24, 0.48, 0.72, 0.96 e 1.10 g.dm⁻³.

Ajustamento de um modelo matemático à curva de calibração - estudo estatístico

Para o estudo da linearidade procedeu-se ao ajustamento inicial de um modelo linear aos resultados das análises das soluções de trabalho.

O estudo estatístico do modelo (Bouvier, 1994; Monteiro e Bertand, 1994) consistiu no estudo do coeficiente de correlação do modelo adoptado, na realização do teste de comparação da ordenada na origem com zero e na análise de variância ao modelo adoptado o que inclui o teste de homogeneidade das variâncias (teste de Cochran), teste de existência de um declive significativo e o teste de validação da recta de regressão.

Aplicabilidade ou linearidade sobre uma matriz

Bouvier (1994) refere que o ajustamento de um modelo a uma curva de calibração deve ser feito em solução sintética e sobre uma matriz.

Este ajustamento de modelo sobre uma matriz corresponde ao que Monteiro e Bertrand (1994) chamam de avaliação da aplicabilidade do método.

Neste caso devido a dificuldades de interpretação das duas metodologias entendeu-se por matriz o próprio vinho, tendo-se estudado a curva de calibração realizada sobre um vinho branco e sobre um vinho tinto.

Para o efeito procedeu-se a adições de 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 e 0.6 g de ácido acético/dm³ a um vinho tinto, repetindo a análise ao longo de 3 dias e procedendo a análises em duplicado. Procedeu-se de modo idêntico para um vinho branco procedendo a adições de 0, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 e 0.8 g de ácido acético/dm³.

Exactidão

A exactidão corresponde à concordância entre o valor do resultado de análise e o valor verdadeiro da grandeza medida.

Esta é avaliada pela percentagem de recuperação entre a quantidade (ou concentração) verificada e a quantidade introduzida. Para a sua avaliação procedeu-se à análise de soluções aquosas de 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 e 0.8 g de ac. acético/dm³. A análise foi realizada ao longo de três dias e em cada dia realizou-se a análise em duplicado. Para a análise de resultados procedeu-se, conforme Bouvier (1994), ao estudo da homogeneidade das variâncias, teste de validação das médias e ao cálculo do intervalo de confiança da recuperação média.

Fidelidade

Uma outra característica no estudo de um método é a fidelidade, entendida como um termo geral aplicado à variabilidade entre ensaios repetidos. Consideram-se duas medidas extremas desta variabilidade nomeadamente a repetibilidade e a reprodutibilidade (Olschimke, 1979).

Existem vários protocolos experimentais para o cálculo da repetibilidade (Monteiro e Bertrand, 1994; Bouvier, 1994; Dubernet, 1997; Olschimke, 1979). Neste trabalho seguiu-se o protocolo de Bouvier (1994). Para o efeito procedeu-se à adição de 3 concentrações, ao longo de 3 dias, sendo realizadas 6 repetições em cada dia. Este autor aconselha a fazer este estudo sobre uma matriz com concentração nula no analito.

Neste caso foi sobre vinho branco e vinho tinto, os quais possuem já alguma concentração em acidez volátil.

Robustez

O estudo da robustez permite determinar variações admissíveis de parâmetros operatórios independentes que não tem efeitos sobre a validade dos resultados fornecidos. Assim a robustez corresponde à capacidade do método de fornecer resultados exactos em presença de pequenas alterações de condições experimentais, susceptíveis de ocorrerem durante a execução do método em rotina (Bouvier, 1994). Neste trabalho procurou-se avaliar a influência dos seguintes factores:

- teor de dióxido de enxofre da amostra (30 e 60 mg/l);
- método de descarbonicação (trompa de vácuo, ultrasonificação);
- tempo de descarbonicação em ultrasons (0, 2 e 5 min).

Software utilizado

Toda a análise estatística necessária à realização do estudo do método foi realizada com o Statgraphics versão 5.0 e STA-WIN versão 4.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Praticabilidade

No que diz respeito a equipamento e reagentes o método não apresenta grandes exigências para laboratórios que disponham de equipamento de análise automatizada por fluxo contínuo segmentado, donde o método é praticável.

Especificidade

As principais substâncias interferentes, dióxido de enxofre, dióxido de carbono, ácidos láctico e sórbico (Sarris *et al.*, 1970; Dubernet, 1976) não tem influência no doseamento da acidez volátil por este método.

O dióxido de enxofre é eliminado por oxidação antes da

destilação. O dióxido de carbono é eliminado por descarbonação, por ultrasons na preparação da amostra e pelo reactor colocado à saída da coluna de destilação (Sarris *et al.*, 1970; Dubernet, 1976).

O ácido láctico é eliminado pela rectificação na destilação (Sarris *et al.*, 1970; Dubernet, 1976).

O ácido sórbico, quando presente, apresenta teores negligenciáveis (Sarris *et al.*, 1970; Dubernet, 1976).

Linearidade

Curvas de calibração em solução aquosa

Ajustamento do modelo matemático

Foram estabelecidas várias curvas de calibração com 5 soluções aquosas de ácido acético, numa gama de concentrações de 0.24 a 1.10 g/dm³ de ácido acético, com análises em duplicado.

Os resultados obtidos são apresentados no Quadro I.

Na primeira fase ensaiou-se o ajustamento do modelo linear

QUADRO I

Resultados da análise das soluções de calibração
Resultés de l'analyse des solutions d'etalonnage

Concentração das soluções de calibração (g ac. acético.dm ⁻³)	Curvas de calibração						
	1601	1701	1801	1402	1502	1602	2302
	Alturas de pico (unidades digitais)						
0.24	568	433	379	342	368	374	377
0.24	603	455	283	342	370	392	385
0.48	1218	936	817	755	763	825	815
0.48	1282	971	814	788	786	815	841
0.72	1939	1520	1326	1263	1283	1335	1346
0.72	2040	1573	1335	1303	1336	1357	1399
0.96	2692	2192	1918	1848	1877	1960	1921
0.96	2787	2259	1943	1894	1887	1935	2011
1.10	3190	2675	2363	2247	2235	2379	2333
1.10	3205	2722	2364	2288	2301	2365	2418

($Y=a+bX$), verificando-se que o coeficiente de correlação linear era sempre inferior a 0.999 (Quadro II) contrariamente ao exigido no protocolo de validação de métodos de análise (Monteiro e Bertrand, 1994).

QUADRO II

Coefficients de correlação obtidos para os diferentes modelos e resultados do teste de ajustamento efectuado ao modelo
Coefficients de corrélation obtenus pour les différents modèles et résultats du test de validité du modèle

Curva de calibração	Modelo	Coefficiente de correlação	Erro de ajustamento
1601	Linear	0.9989	n.s.
	Exponencial	0.9785	**
	Multiplicativo	0.9993	n.s.
	Parábola	0.9993	n.s.
1701	Linear	0.9965	**
	Exponencial	0.9847	**
	Multiplicativo	0.9989	n.s.
	Parábola	0.9996	ns
1801	Linear	0.9959	**
	Exponencial	-	-
	Multiplicativo	0.9989	**
	Parábola	0.9999	ns
1402	Linear	0.9966	**
	Exponencial	0.9834	**
	Multiplicativo	0.9994	ns
	Parábola	0.9997	
1502	Linear	0.9965	**
	Exponencial	0.9860	**
	Multiplicativo	0.9986	*
	Parábola	0.9951	
1602	Linear	0.9959	**
	Exponencial	0.9850	**
	Multiplicativo	0.9991	*
	Parábola	0.9996	
2302	Linear	0.9964	n.s.
	Exponencial	-	-
	Multiplicativo	0.9991	n.s.
	Parábola	0.9991	

* - significativo a 95%; ** - significativo a 99%; n.s. - não significativo.

Na segunda fase ensaiou-se o ajustamento de modelos, lineari-záveis por transformação, nomeadamente o exponencial ($Y=\exp(a+bX)$) e o multiplicativo ($Y=aX^b$).

O modelo exponencial apresentou coeficientes de correlação inferiores ao do modelo linear, pelo que se abandonou o seu estudo.

O modelo multiplicativo, nalguns casos apresentou coeficientes de correlação superiores a 0.999 mas noutros não (Quadro II).

Assim ensaiou-se o ajustamento de um modelo não linear, nomeadamente um polinómio do 2.º grau, tendo-se verificado que em todos os casos o r maior que 0.999, conforme o pretendido.

Também Sarris *et al.* (1970) e Dubernet (1976) encontraram curvas de calibração não lineares para a determinação da acidez volátil em vinhos.

Teste à ordenada na origem

De acordo com Monteiro e Bertrand (1994) a ordenada na origem não deve ser significativamente diferente de zero. No caso dos polinómios ajustados, verificou-se que todos eles apresentam um a0 não significativamente diferente de zero (Quadro III).

QUADRO III

Coefficients dos polinómios ajustados ($Y=a_0+a_1X+a_2X^2$) às diferentes curvas de calibração e respectivos testes de significância

Coefficients des polinômes ajustés à des plusieurs courbes d'étalonnage et leurs tests de significance

Curva de calibração	a0		a1		a2	
1601	-59.19	ns	2587.2	***	341.4	**
1701	45.91	ns	1469.4	***	125.8	***
1801	61.41	*	1144.4	***	853.8	***
1402	1.27	n.s	1247.9	***	735.5	***
1502	22.73	n.s	1258.3	***	719.3	***
1602	42.20	n.s	1194.8	***	815.2	***
2302	9.70	n.s	1376.9	***	699.5	***

n.s. - não significativo; * - significativo a 95%; ** - significativo a 99%; *** - significativo a 99,9%.

Teste de significância aos coeficientes do polinómio (a1 e a2)

O teste t, ao a1 e ao a2 mostrou que estes são sempre significativamente diferentes de zero (Quadro III).

Análise de variância ao modelo ajustado

Realizou-se uma análise de variância ao polinômios ajustados conforme Steel e Torrie (1960). Os resultados mostraram que o modelo é significativo assim como apresenta um bom ajustamento. A título de exemplo apresenta-se (Quadro IV) o resultado da análise de variância ao polinômio ajustado à curva de calibração 1601.

QUADRO IV

Resultados da análise de variância ao polinômio ajustado
à curva de calibração 1601
*Resultés de l'analyse de la variance au polinôme ajusté
à la solution d'étalonnage 1601*

Fonte de variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (99%)
Modelo	9065457	2	4532728	2470	9.55 ¹
Residual	12845	7	1835		
Falta de ajustamento	459	2	229.5	0.093	13.3 ²
Erro puro	12386	5	2477.2		
Total					

1 - Como $F_{calc} > F_{tab}$ o modelo é significativo.

2 - Como $F_{calc} < F_{tab}$ o erro de ajustamento não é significativo e o modelo está bem ajustado.

Um dos pressupostos da análise de variância é que as variâncias são homogêneas. Assim para a avaliação da homogeneidade das variâncias foi realizado o teste de Cochran (Bouvier, 1994) aos dados das diversas curvas. A título de exemplo apresenta-se o procedimento executado na curva 1601 (Quadro V).

Para todas as curvas se verificou a homogeneidade das variâncias.

Concluiu-se nesta primeira fase do trabalho que o modelo matemático que melhor se ajustava era um polinômio do 2.º grau.

Assim passou-se a fazer o ajuste automático no aparelho Skalar de um polinômio do 2.º grau e a calcular os valores em acidez volátil a partir do ajustamento inverso de um polinômio.

QUADRO V

Realização do teste de Cochran aos dados da curva de calibração 1601
Réalisation du test de Cochran aux données de la courbe d'étalonnage 1601

X-g ac. acético/l	Y-alt pico	Variância
0.24	568	
0.24	603	612.5
0.48	1218	
0.48	1282	2048.0
0.72	1939	
0.72	2040	5100.5
0.96	2692	
0.96	2787	4512.5
1.1	3190	
1.1	3205	112.5
somatório das variâncias		12386.0
C calc= maior variancia/somatório da variâncias		0.3643
C tabelado 99%(5, 1)		0.9279 ¹

1 - Como $C < C_{tab}$ então as variâncias podem ser consideradas homogêneas.

Varição dos parâmetros das curvas de calibração ao longo do tempo

Verifica-se que embora com bons coeficientes de correlação, os parâmetros das curvas de calibração variam consideravelmente ao longo do tempo (Quadro VI) pelo que se deve realizar sempre uma curva de calibração quando se procede à determinação da acidez volátil por este método.

QUADRO VI

Variação ao longo do tempo dos coeficientes dos polinómios ajustados às diferentes curvas de calibração

Variation pendant le temp des coefficients ajustés à des différents courbes d'étallonage

Data	a0	a1	a2	r
16-01-95	-59.2	2587.2	341.3	0.9993
17-01-95	45.9	1469.4	849.4	0.9995
18-01-95	61.4	1144.4	853.9	0.9999
media	16.0	1733.6	681.5	
desvio padrão	65.6	756.8	294.6	
coeficiente de variação	408.9	43.7	43.2	
14-02-95	1.3	1247.9	735.5	0.9997
15-02-95	22.7	1250.3	719.3	0.9995
16-02-95	42.2	1194.9	815.2	0.9996
23-02-95	9.7	1377.0	699.5	0.9991
media	19.0	1267.5	742.4	
desvio padrão	17.8	77.3	50.7	
coeficiente de variação	93.9	6.1	6.8	

Aplicabilidade ou linearidade sobre uma matriz

Os resultados obtidos estão apresentados no Quadro VII.

Procedeu-se, como anteriormente, ao ajustamento de um modelo aos dados obtidos (Quadro VIII).

Verificou-se que o modelo linear não se ajustava, dado apresentar um $r < 0.999$ e a falta de ajustamento ser significativa.

Assim ajustou-se, tal como nas soluções aquosas, um polinómio do 2.º grau verificando-se uma melhoria no valor de r, embora inferior a 0.999. No entanto a falta de ajustamento não é significativa.

Procedeu-se também ao teste de homogeneidade das variâncias, verificando-se que estas eram homogéneas.

Bouvier (1994) refere que devem ser comparados os parâmetros da curva de calibração ajustada em solução aquosa com os parâmetros da curva calculada sobre uma matriz. Neste caso a comparação não fazia sentido dado que a matriz utilizada já apresentava à partida um determinado teor em acidez volátil.

O estudo da linearidade, em solução aquosa e sobre os vinhos

QUADRO VII

Resultados do estudo da aplicabilidade do método a um
vinho branco e a um vinho tinto
*Resultés de l'étude d'applicabilité du méthode sur un vin blanc
et sur un vin rouge*

Dia	Vinho tinto		Vinho branco	
	X adições de ac. acético (g/dm ³)	Y - alt. pico (unidades digitais)	X adições de ac. acético (g/dm ³)	Y-alt. pico (unidades digitais)
1	0.00	925.5	0.00	461.5
2	0.00	981.0	0.00	482.0
3	0.00	937.5	0.00	495.5
1	0.20	1388.5	0.40	1212.5
2	0.20	1428.0	0.40	1222.5
3	0.20	1381.5	0.40	1268.0
1	0.30	1642.5	0.50	1438.0
2	0.30	1639.0	0.50	1438.0
3	0.30	1634.5	0.50	1545.0
1	0.40	1891.5	0.60	1674.5
2	0.40	1913.5	0.60	1662.0
3	0.40	1891.0	0.60	1754.0
1	0.50	2182.5	0.70	1925.0
2	0.50	2231.5	0.70	1920.0
3	0.50	2157.5	0.70	2031.0
1	0.60	2438.0	0.80	2177.0
2	0.60	2523.0	0.80	2174.0
3	0.60	2443.5	0.80	2307.0

QUADRO VIII

Coefficientes de correlação obtidos para os diferentes modelos e
resultados do teste de ajustamento, efectuado ao modelo adoptado para
as curvas de calibração, sobre vinho branco e vinho tinto
*Coefficients de corrélation obtenus pour les différents modèles et resultés du
test de validité du modèle étudié sur un vin blanc et sur un vin rouge*

Amostra	Modelo ajustado	Coefficiente de correlação - r	Erro de ajustamento
Vinho tinto	Linear	0.9972	*
	Exponencial	0.9945	**
	Parábola	0.9988	n. s.
Vinho branco	Linear	0.9937	*
	Exponencial		-
	Parábola	0.9969	n. s.

* - significativo a 95%; ** - significativo a 99%; n. s. - não significativo.

branco e tinto permitiu concluir que o modelo que melhor se ajusta às curvas de calibração, é um polinómio do 2.º grau.

Donde passou-se a calcular o polinómio (realizado automaticamente no Skalar) e os valores da concentração passaram a ser calculados com base neste modelo.

Exactidão

Para o cálculo da exactidão procedeu-se conforme descrito anteriormente. Os resultados obtidos são apresentados no Quadro IX.

QUADRO IX

Exactidão - percentagem de recuperação em soluções aquosas de ácido acético
Exactitude - recouvrement moyen sur des solutions aqueuses d'acide acétique

Dia/repetição	Ácido acético (g.dm ⁻³)		% de recuperação	Variância
	Quantidade introduzida	Quantidade recuperada		
1/1	0.2	0.205	102.5	0.000
2/1	0.2	0.175	87.5	
3/1	0.2	0.205	102.5	
1/2	0.3	0.295	98.3	0.926
2/2	0.3	0.295	98.3	
3/2	0.3	0.300	100.0	
1/3	0.4	0.400	100.0	2.083
2/3	0.4	0.390	97.5	
3/3	0.4	0.390	97.5	
1/4	0.5	0.515	103.0	2.333
2/4	0.5	0.500	100.0	
3/4	0.5	0.505	101.0	
1/5	0.6	0.615	102.5	4.398
2/5	0.6	0.605	100.8	
3/5	0.6	0.590	98.3	
1/6	0.7	0.715	102.1	0.680
2/6	0.7	0.705	100.7	
3/6	0.7	0.705	100.7	
1/7	0.8	0.820	102.5	1.693
2/7	0.8	0.800	100.0	
3/7	0.8	0.805	100.6	

Procedeu-se, conforme Bouvier, ao teste de homogeneidade das variâncias, verificando-se que estas eram homogéneas, após eliminação de um valor aberrante (2/1=87.50%). Efectuou-se de seguida um teste de validação das médias, verificando-se que estas eram válidas, isto é, independentes da concentração em estudo.

Calculou-se, também de acordo com Bouvier (1994) o intervalo de confiança da recuperação média:

$$100.45 \pm 0.82\%$$

verificando-se, portanto que esta oscilava entre 101.27 e 99.63%.

Fidelidade - repetibilidade

Os resultados da repetibilidade são apresentados no Quadro X.

QUADRO X

Resultados da repetibilidade obtida sobre vinho branco e vinho tinto
Resultés de la repetibilit  sur un vin blanc et un vin rouge

Quantidade adicionada (g/dm ³)	Vinho branco			Vinho tinto		
	0.4	0.6	0.8	0.2	0.4	0.6
Variâncias (teste de Cochran)	Homog�neas	Homog�neas	Homog�neas	Homog�neas (após Grubs)	Homog�neas	Homog�neas
Média (g/dm ³)	0.7	0.927	1.09	0.707	0.909	1.096
r (g/dm ³)	0.0183	0.114	0.017	0.015	0.021	0.016
Cvr (%)	0.88	4.11	0.58	0.71	0.78	0.49

Os valores de repetibilidade encontrados, são inferiores   repetibilidade média calculada para o método único da OIV que   de 0.04 g/dm³, excepc o apenas para o vinho branco adicionado de 0.6g/dm³. No entanto a compara o de repetibilidades suscita muitas questões, tendo em conta a diversidade de protocolos experimentais para a sua determina o (Monteiro e Bertrand, 1994; Bouvier, 1994; Dubernet, 1997; Olschimke, 1979).

Robustez

Os resultados da análise da robustez são apresentados nos Quadros XI e XII.

A análise de variância aos resultados mostrou que a acidez volátil não   influenciada, nas condi es ensaiadas, por nenhum dos factores estudados nomeadamente teor de dióxido de enxofre, método e tempo de decarbonica o.

QUADRO XI

Estudo da influência do dióxido de enxofre, adicionado em vinho branco e vinho tinto na acidez volátil

Étude de l'influence du dioxyde de soufre, ajouté sur un vin blanc et sur un vin rouge, sur l'acidité volatile

Vinho	Adição de SO ₂ (mg/l)	Acidez volátil
Tinto	30	0.54
Tinto	30	0.53
Tinto	60	0.54
Tinto	60	0.54
Branco	30	0.30
Branco	30	0.30
Branco	60	0.45
Branco	60	0.33

QUADRO XII

Influência do método e tempo de descarbonicação na acidez volátil de um vinho tinto

Influence du méthode et du temp de décarbonication de l'échantillon sur l'acidité volatile

Metodo	Tempo (min)	Acidez Volatil
Trompa	0	0.53
Trompa	0	0.53
Trompa	2	0.53
Trompa	2	0.53
Trompa	5	0.52
Trompa	5	0.53
Ultrasons	0	0.53
Ultrasons	0	0.53
Ultrasons	2	0.53
Ultrasons	2	0.53
Ultrasons	5	0.53
Ultrasons	5	0.54

CONCLUSÕES

O estudo intralaboratorial do método de determinação da acidez volátil por fluxo contínuo segmentado permitiu definir as suas condições operatórias e avaliar as seguintes características:

- praticabilidade - método praticável;
- específico - método específico;
- linearidade - o método não é linear; na gama de concentrações estudada (0.24 a 1.10 g./dm³) tendo-se encontrado uma relação polinomial quer em soluções aquosas quer em vinho branco e tinto;
- repetibilidade - a repetibilidade avaliada em vinhos branco e tinto apresentou valores entre 0.02 e 0.11 g.dm⁻³;
- exactidão - a percentagem de recuperação encontrada foi de: 100.45±0.82%;
- robustez - o método revelou-se robusto em relação ao dióxido de enxofre, ao método e tempo de decarbonização.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Técnica Auxiliar de Laboratório Deolinda Mota a colaboração dada na execução analítica do estudo do método.

RÉSUMÉ

Détermination de l'acidité volatile des vins par flux continu segmenté. Validation intralaboratoire de la méthode

L'étude intralaboratoire d'une méthode de dosage de l'acidité volatile des vins, par l'analyse automatisé, en flux continu segmenté, est présentée dans ce travail. La méthode a présentée une réponse non lineaire, en solution aqueuse et sur des vins, pour une gamme de travail de 0.24 à 1.10 g d'acide acétique/dm³. Dans l'étude de la répétabilité, sur des vins blanc et rouge, on a trouvé des valeurs entre 0.02 et 0.11 g d'acide acétique/dm³. L'exactitude de la méthode, évalué par le recouvrement moyen, a présenté le valeur de 100.45±0.82%.

SUMMARY

Volatile acidity determination on the wines by continuous segmented flux. Intralaboratorial validation of the method

This work presents the intralaboratorial study of a method for the volatile acidity determination on wines by automatised analysis, with continuous segmented flux. The method showed a non-linear response, on the water and the on wine, for levels between 0.24 and 1.10 g of acetic acid/dm³. The repetability study, on the wines, showed results since 0.02 until 0.11 g acetic acid/dm³. The exactitud, evaluated by the average recover presented the value of 100.45±0.82%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bouvier, M., 1994. *Guide d'évaluation et de la validation d'une méthode d'analyse chimique*. INRA CEE, 1990. Official Journal of the European Communities, L272, volume 33, 3 outubro, 84-87.
- Dubernet, M., 1976. Dosage automatique de l'acidité volatile dans les vins. *Conn. Vigne Vin*, **10**, 297-309.
- Dubernet, M. 1997 - Protocole de validation d'une méthode d'analyse par rapport à la méthode de référence. OIV. *Feuille Vert* n°1057.
- Monteiro, M. J. P., Bertrand, A., 1994. Validation d'une méthode de dosage. Application à l'analyse des amines biogènes du vin. *Feuille Vert* n° 970.
- OIV, 1990. *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*, OIV, Paris.
- Olschimke, D. 1979. Détermination et application de la répétabilité et reproductibilité. *Feuille Vert* n° 682.
- Sarris, J.; Morfaux, J. N.; Dupuy, P.; Hertzog, D. (1970) Détermination automatique de l'acidité volatile du vin. *Ind. Alim. Agr.* **2**, 115-121.
- Steel, R. G.D., Torrie, J. H. 1960. *Principles and procedures of statistics*. Mc Graw-Hill.