

# SISTEMA DE INJEÇÃO SEQUENCIAL PARA A DETERMINAÇÃO DE ETANOL EM VINHOS



**CATÓLICA**  
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA  
ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

Ricardo N. M. J. Páscoa, Susana S. M. P. Vidigal, Ildikó V. Tóth & António O. S. S. Rangel

Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa,  
Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto, Portugal

**Objectivo:** Desenvolvimento de um sistema SIA baseado na reacção enzimática entre o etanol e a álcool desidrogenase (ADH) na presença de NAD<sup>+</sup> com detecção espectrofotométrica a 340nm.



## Sistema

### Montagem

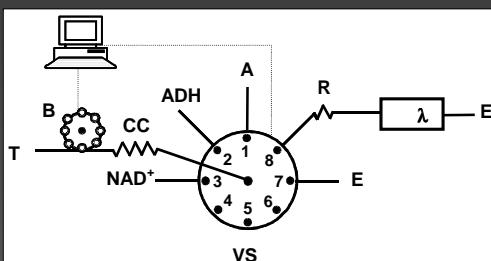
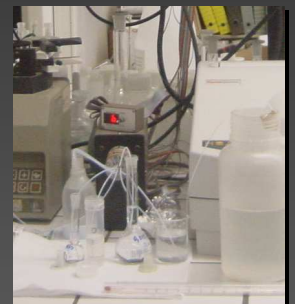


Figura 1: Esquema do sistema desenvolvido. A, amostras ou padrões; ADH, álcool desidrogenase; NAD<sup>+</sup>, cofactor 20 mM; T, transportador tampão fosfato pH 9,5; B, bomba peristáltica; CC, canal central; VS, válvula de selecção; E, esgoto; R, reactor (100 cm); λ espectrofotómetro UV-Vis (340 nm)

### Ciclo de ensaio

Posição da válvula	Volume (μL)	Descrição
1	100	Aspiração da amostra ou padrão
2	50	Aspiração da enzima
3	50	Aspiração da solução de NAD
8	200	Envio para o reactor
8	0	Tempo de espera (60 s)
8	1800	Envio para o detector



### Amostras

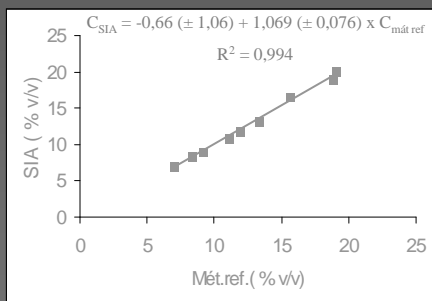


Figura 2: Comparação dos resultados obtidos para diferentes tipos de vinho com o método de referência.

CRM 653 <sup>a</sup> % (v/v)	Valor obtido % (v/v)	Recuperação %	t	t <sub>crítico</sub>
0,539±0,0095	0,529±0,006	98,1	1,75	2,179

<sup>a</sup> amostra de vinho certificada de valor nominal de álcool de 5% v/v

## Resultados

### Sobreposição de zonas

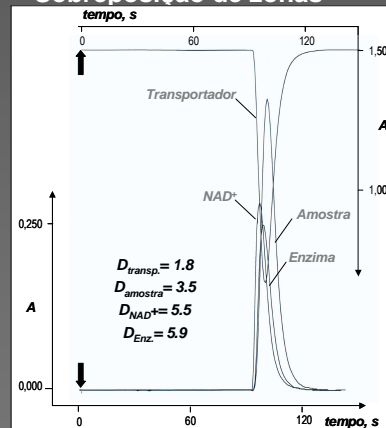


Figura 3: Perfil dos picos obtidos por injeção de azul de bromotimol (25 mg L<sup>-1</sup>); D<sub>i</sub>, coeficiente de dispersão.

## Conclusões

• Os resultados obtidos estão de acordo com o método de referência;

• Em relação ao método de referência o tempo de ensaio e o consumo de amostra são muito inferiores;

• O sistema desenvolvido apresenta vantagens sobre métodos automáticos já descritos.

Parâmetro	Sistema desenvolvido	FIA <sup>a</sup>	SIA <sup>b</sup>	Lab on Valve <sup>c</sup>
Matriz	vinho	vinho	meio ferm.	---
Enzima	em solução	imobilizada	imobilizada	em solução
ADH (U/ ens)	1,1	---	---	48
NAD <sup>+</sup> (μmol/ ens)	1	0,6	0,5	0,7
Amostra (μL/ ens)	0,1	25	150	30
Ritmo de amostragem (ens/ h)	25	30	26	120
DPR (%)	<2,3	<2,2	<6	<3

Referências: a) Rangel & Tóth (1999) *Am. J. Enol. Vitic.*, 50: 259-263; b) Hedenfalk & Matiasson (1996) *Anal. Lett.*, 29(7): 1109-1124; c) Chen & Ruzicka (2004) *Analyst*, 129: 597-601 .

**Agradecimentos:** I.V. Toth agradece à Fundação para a Ciência e Tecnologia e à FSE (III Quadro Comunitário de Apoio) pela bolsa SFRH/BPD/5631/2001.