

INETI

Isótopos Estáveis na Determinação da Autenticidade de Vinhos

Adriano Júlio Rodrigues Teixeira
Laboratório de Química Analítica e de Síntese
Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação

1 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Abundâncias Isotópicas

■ Valores médios globais

Isótopo	Hidrogénio		Carbono		Oxigénio	
	¹ H	² H	¹² C	¹³ C	¹⁶ O	¹⁸ O
Massa	1	2	12	13	16	18
R (ppm)	155,76		11237,2		2005,2	
Padrão	V-SMOW		PDB		V-SMOW	
Técnica	IRMS; NMR		IRMS		IRMS	

2 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

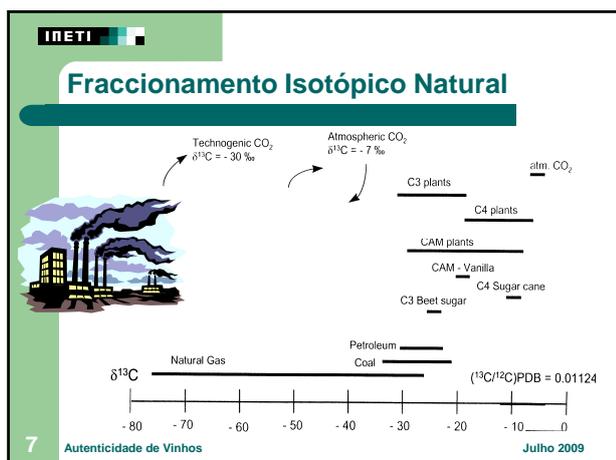
INETI

Abundâncias Isotópicas

■ Teores isotópicos totais numa molécula depende de:

- Teor isotópico do elemento no reservatório;
- Fenómenos de fraccionamento durante os processos:
 - Físicos
 - Químicos
 - Bioquímicos

3 Autenticidade de Vinhos Julho 2009



Composição Isotópica de Açúcares

	Ciclo	δ ¹³ C (PDB, ‰)	δ ² H (SMOW, ‰)
Cana	C ₄	-10,5	-7
Milho	C ₄	-11,3	+11
Centeio	C ₃	-25	
Uva	C ₃	-26	-40
Beterraba	C ₃	-25	-68

8 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

Escala Delta para o Carbono-13

■ Expressão matemática:

$$\delta^{13}\text{C} = 1000 \cdot \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{amostra}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}}$$

■ PDB – Pee Dee Belemnite (IAEA)

■ Calcário da formação PeeDee na Carolina do Sul (resultante do fóssil marinho *Belemnitella americana* do Cretáceo).

9 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Fracionamento nas Bioconversões

- Fracionamento de deutério na fermentação alcoólica

	Ciclo	$\delta^2\text{H}$ Açúcar (SMOW, ‰)	$\delta^2\text{H}$ Álcool (SMOW, ‰)
Cana	C ₄	-7	-199
Milho	C ₄	+11	-206
Centeio	C ₃		
Uva	C ₃	-40	-209
Beterraba	C ₃	-68	-257

10 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Fracionamento nas Bioconversões

- Comportamento do carbono-13 na fermentação alcoólica

	Ciclo	$\delta^{13}\text{C}$ Açúcar (PDB, ‰)	$\delta^{13}\text{C}$ Álcool (PDB, ‰)
Cana	C ₄	-10,5	-13
Milho	C ₄	-11,3	-11,5
Centeio	C ₃	-25	-25
Uva	C ₃	-26	-25
Beterraba	C ₃	-25	-28

11 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

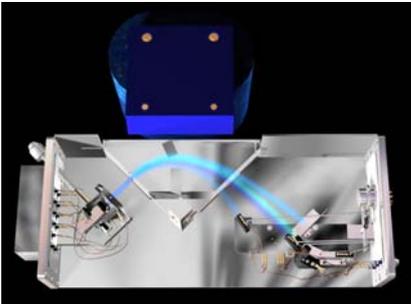
Teor de Carbono-13 Global

- Possibilidade de caracterizar a origem botânica de um álcool alimentar.
- Regulamento (CE) 440/2003 da Comissão, de 10 de Março de 2003.
- Espectrometria de massa de razões isotópicas (IRMS).

12 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

A Técnica de IRMS



13 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Composição Isotópica

- Os isótopos estáveis de Hidrogénio (^1H , ^2H :deutério), Carbono (^{12}C , ^{13}C), e Oxigénio (^{16}O , ^{18}O) são incorporados nos constituintes das plantas de acordo com o teor isotópico do meio ambiente, do percurso biossintético na planta e, eventualmente, das biotransformações subsequentes;
- Os teores isotópicos podem ser bons marcadores da origem do produto.

14 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Insuficiência dos teores globais

- Para distinguir algumas origens botânicas

	Ciclo	$\delta^{13}\text{C}$ Açúcar (PDB, ‰)	$\delta^{13}\text{C}$ Alcool (PDB, ‰)
Cana	C ₄	-10,5	-13
Milho	C ₄	-11,3	-11,5
Centeio	C ₃	-25	-25
Uva	C ₃	-26	-25
Beterraba	C ₃	-25	-28

15 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Fracionamento Isotópico Intramolecular

■ Isotopómeros Deuterados do Etanol

(I) $\text{CH}_2\text{DCH}_2\text{OH}$ (3)

(II) CH_3CHDOH (2)

(III) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OD}$ (1)

■ P (dideuterado) = 1 em 10^8 (vs. 1,5 em 10^4)

16 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

A Técnica de SNIF-NMR

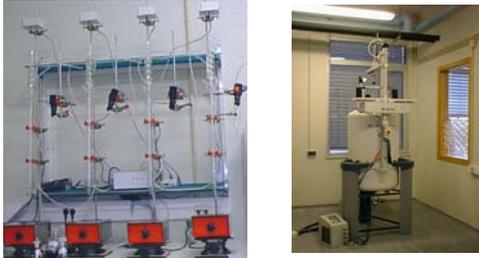
```

    graph TD
      A[Amostra de Vinho] --> B[Destilação]
      A --> C[Medição da gram alcoólica]
      B --> D[Destilado]
      B --> E[Resíduo]
      C --> F[Oeno Extracteur]
      F --> G[Densímetro]
      D --> H[Medição de grau alcoólico]
      H --> I[Karl-Fischer]
      I --> J[Preparação Padronizada para análise de 13C]
      J --> K[Medições por SNIF-NMR]
      K --> L[2H-RMN]
      L --> M[Cálculo]
      M --> N[Interpretação dos Resultados]
  
```

17 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

A Técnica de SNIF-NMR



18 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

A Técnica de SNIF-NMR

$R = 3 \times \frac{\text{alturadopicoII}(\text{CHCHDOH})}{\text{alturadopicoI}(\text{CHDCHOH})}$

$(D/H)_I = 1,5866 T_i \frac{m_a}{m} \times \frac{(D/H)_a}{t_m^D}$ $(D/H)_{II} = 2,3799 T_{II} \frac{m_a}{m} \times \frac{(D/H)_a}{t_m^D}$

$T_i = \frac{\text{altura do pico I}(\text{CH}_3\text{DCH}_2\text{OH})}{\text{altura do pico do padrão interno (TMU)}}$ $T_{II} = \frac{\text{altura do pico II}(\text{CH}_2\text{CHDOH})}{\text{altura do pico do padrão interno (TMU)}}$

19 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Influência da Origem Botânica

Origem	(D/H)	(D/H) _I	(D/H) _{II}	R
Milho	122,1	111,6	123,9	2,220
Cana	123,2	111,2	127,8	2,298
Trigo	119,5	103,5	128,3	2,479
Batata	117,6	97,3	131,8	2,709
Beterraba	114,7	94,1	128,0	2,720
Maçã	118,7	100,9	129,7	2,570
Síntese ⁹¹⁾	133,9	123,3	141,8	2,300
Síntese ⁹¹⁾	136,0	120,9	151,7	2,509

20 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Influência da Origem Geográfica

$(D/H)_{II} / (D/H)_I$

- Vinhos Verdes
- Beira Interior
- Chaves

21 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Influência de Adultrações

	(D/H) _v	(D/H) _m	(D/H) _{H₂O}	R
Vinho natural	→	→	→	→
Vinho enriquecido				
-Açúcar de beterraba	↘	↗	↗	↗
-Açúcar de cana	→	→	→	→
-Açúcar de milho	→	→	→	→
-Mosto concentrado	→	→	→	→
-Molhagem	→	↘	↘	↘

22 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Teor Específico de Deutério

- Possibilidade de caracterizar a origem botânica e geográfica de um álcool vínico.
- *Regulamento (CE) 2676/90 da Comissão, de 3 de Fevereiro de 2004.*
- Ressonância Magnética Nuclear de Deutério.

23 Autenticidade de Vinhos Julho 2009

INETI

Banco de Dados de Vinhos Nacionais

Annex II and III of Regulation EC 2120/2004

24 Autenticidade de Vinhos Julho 2009
