

Aplicação de calibração multivariada em dados de espectroscopia UV-Visível para previsão da acidez total em vinhos

Cristiane da Silva Morais^{1,†}, Luiza Mariano Leme¹, Patrícia Valderrama¹, Paulo Henrique Marçó^{1,*}

¹ Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão, Campo Mourão, Paraná – Brazil.

[†] *In memoriam*

* paulohmarco@utfpr.edu.br

Resumo: Métodos clássicos, como a titrimetria para avaliar a acidez, trazem como desvantagem geração de resíduos e principalmente consumo de tempo. Assim, uma metodologia alternativa para determinar a acidez total de amostras de vinhos se faz necessária. A técnica de espectrofotometria nas regiões Ultravioleta e Visível (UV-Vis) pode ser introduzida na indústria para monitoramento deste parâmetro já que possibilita a realização de análises rápidas, eficientes e sem geração de resíduos. Desta forma, neste trabalho foram desenvolvidos modelos de calibração multivariada utilizando-se o método quimiométrico de regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) entre os espectros UV-Vis dos vinhos e os valores de acidez total determinados pelo método de referência, no caso titulação ácido base. Os modelos foram avaliados quanto as figuras de mérito de Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático da Calibração (RMSEC), Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático da Previsão (RMSEP) e Coeficiente de Correlação (R) para o ajuste entre os valores de acidez determinados pelo método de referência e os valores de acidez determinados pelo modelo PLS. Para o vinho branco, o modelo obtido apresentou valores de RMSEC, RMSEP 5,87 meq L⁻¹ e 6,58 meq L⁻¹, enquanto para o vinho tinto os valores foram 6,93 meq L⁻¹ e 8,58 meq L⁻¹, respectivamente. Ambos os modelos apresentaram coeficiente de correlação 0,71. O teste t-pareado demonstrou não haver diferença significativa entre os métodos de titulação e espectrofotométrico em um nível de confiança de 95%. Assim, as vantagens oferecidas pelo método UV-Vis mostram-se atraentes para exigências industriais, sugerindo que estudos voltados para métodos ópticos e calibração multivariada podem ser de interesse e merecem ser observados em estudos futuros.

Palavras-chave: Qualidade de vinhos, Acidez total, Calibração multivariada, UV-Vis, Modelos.

Multivariate calibration applied in UV-Vis spectroscopy data to determine total acidity in wines: Classical methods, as titration to evaluate acidity, bring disadvantage to waste generation and mainly time consumption. Therefore, is necessary to develop an alternative methodology for measuring total acidity of wine samples. The Ultraviolet and Visible spectrophotometric technique can be introduced in the industry to monitoring this parameter because it enables rapid and efficient analysis without waste generation. Thereby, in this study were developed multivariate calibration models using the Partial Least Squares (PLS) regression between the UV-Vis spectra of wines and total acidity values determined by the reference method. The figures of merit for the models were Root Mean Squared Error of Calibration (RMSEC), Root Mean Squared Error of Prediction (RMSEP) and correlation coefficient (R). To the white wines, the model obtained showed RMSEC and RMSEP of 5.87 meq L⁻¹ and 6.58 meq L⁻¹, respectively. To the red wines, the model presented RMSEC 0.71 meq L⁻¹ and RMSEP 6.93 meq L⁻¹. Both models presented correlation coefficient of 0.71. A paired t-test showed no significant difference between titration and spectrophotometric methods at a confidence level of 95%. Therefore, the advantages offered by the UV-Vis method are attractive to industrial requirements, suggesting that studies focused on optical methods and multivariate calibration can be interesting and deserve to be observed in further studies.

Keywords: Wine quality, Total acidity, Multivariate calibration, UV-Vis, Models.

Recebido: 15 de Dezembro de 2014; aceito: 16 de Abril de 2015, publicado: 23 de Abril de 2015.

DOI: 10.14685/rebrapa.v6i1.193

INTRODUÇÃO

Vinhos são misturas complexas de compostos orgânicos e inorgânicos extraídos a partir da uva. Os principais componentes são água, álcoois, ácidos, polissacarídeos, açúcares, compostos aromáticos, minerais e vitaminas (FILHO, 2005). Para a elaboração de vinhos tintos de qualidade, as uvas devem ser colhidas ao atingirem o ponto ótimo de maturação tecnológica e maturação fenólica (FILHO, 2010).

A vinicultura movimenta aproximadamente US\$ 180 bilhões no mercado mundial (FILHO, 2005). No Brasil, não se encontram disponíveis muitas informações sobre produção e comercialização de vinho e de suco de uva. No entanto, sabe-se que o único o Rio Grande do Sul é responsável por cerca de 80% do volume da produção do País (FILHO, 2010). Todavia, para qualquer lugar do mundo em que o vinho seja consumido os parâmetros de qualidade são os mesmos, e são eles que atribuem valor ao produto final.

De acordo com o manual do INMETRO (MADURO et al., 2007), a acidez influencia na estabilidade e coloração do vinho, constituindo-se em uma das características gustativas mais importantes. Enquanto para vinhos brancos a determinação da acidez pode ser realizada por titulação, nos vinhos tintos uma das dificuldades é a visualização do ponto final da reação, devido a coloração escura, sugerindo que estratégias devem ser utilizadas a fim de se transpor esta dificuldade para análise da acidez total (FILHO, 2010).

As substâncias que conferem características ácidas ao mosto ou ao vinho são ácidos orgânicos relativamente fracos. Por isso, quando mostos e vinhos são titulados com base forte, o ponto de equivalência será maior que 7,0, usualmente entre 7,8 e 8,3 (BARROS, 1990).

O método de determinação da acidez total em vinhos é descrito por várias instituições como a *Association of Official Analytical Chemists - AOAC* (ZOECKLEIN, 1994), *Office International de la Vigne et du Vin - OIV* (1969) e Instituto Adolfo Lutz - IAL (2008). Em geral, os métodos preconizados envolvem a titulação de neutralização dos ácidos com solução

padronizada de base, usando fenolftaleína como indicador. A observação visual da mudança de cor no indicador é uma prática tradicional para detecção do ponto final em titulações (CARDWELL et al., 1991), porém essa observação é dificultada quando amostras coloridas são tituladas (AFONSO e AGUIAR, 2004).

Além do problema relacionado ao ponto final da titulação na determinação da acidez total em vinhos tintos, as titulações demandam um elevado tempo, consomem reagentes e geram resíduos. Estes fatos tornam as análises de rotina nos processos industriais uma tarefa difícil de ser “otimizada”, já que as análises que necessitam de resposta imediata, como por exemplo, liberação ou proibição de um lote, fica comprometida pelo tamanho da “fila de espera” dos demais vinhos que já estão sendo analisados.

A fim de solucionar este problema é possível fazer uso de métodos ópticos calibrados pelo método padrão de titulação. Para isso, o novo método empregado deve produzir, no máximo, os mesmos erros das medidas encontrados no método padrão. Assim, o objetivo deste trabalho foi propor uma metodologia alternativa para a determinação de acidez total de vinhos e que apresente vantagens como custo relativamente baixo, não utilização de soluções com reagentes químicos e, principalmente, técnicas que além de apresentarem caráter não destrutivo da amostra sejam suficientemente rápidas para serem implementadas na linha de produção industrial.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de vinhos tintos e brancos foram adquiridas no comércio de Campo Mourão, Paraná. No total, foram adquiridas 26 amostras de vinho branco e 31 amostras de vinho tinto. Tomando como base a metodologia sugerida pelo INMETRO e IAL, a acidez total de vinhos tintos e brancos foi medida por titulação ácido-base utilizando-se NaOH na concentração de 0,1 mol L⁻¹, padronizado com HCl 0,1 mol L⁻¹ e indicador de fenolftaleína para os vinhos

brancos e azul de bromocresol para os vinhos tintos.

Para realizar a titulação um volume de 10 mL de cada uma das amostras de vinho foi titulada com NaOH 0,1 mol L⁻¹. Os ensaios de titulação foram realizados em triplicata para cada variedade de vinho e a acidez total em meq L⁻¹ foi obtida através da equação 1.

$$\text{Acidez total (meq L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times N \times 1.000}{V} \quad (1)$$

em que, “n” corresponde ao volume de NaOH 0,1 mol L⁻¹ gasto na titulação; “N” é a concentração de NaOH após padronização; “V” corresponde ao volume (em mL) de vinho utilizado na análise.

Para a realização de medidas espectrais registradas na região Ultravioleta e Visível (UV-Vis) foram avaliadas 3 alíquotas de 1 mL de cada vinho. O volume foi transferido com auxílio de uma pipeta Pasteur para uma cubeta de quartzo de 1 mm de caminho óptico. Esta cubeta foi utilizada por evitar a etapa de preparo de amostra por diluição, já que aumenta a sensibilidade espectral, melhorando a visualização do perfil espectral por diminuir o número de espécies absorventes (ROCHA e TEIXEIRA, 2004).

As medidas foram realizadas com um equipamento da Ocean Optics ® modelo Red Tide USB650 tipo Fiber Optic Spectrometer. A discriminação de cada vinho assim como as características expressadas pelos fabricantes estão apresentadas na Tabela 1 para os vinhos brancos e na Tabela 2 para os vinhos tintos.

Após a aquisição dos dados espectrais e dos teores de acidez total por titulação, iniciou-se a parte computacional do trabalho. O programa empregado nas análises foi o Matlab 2007b utilizando-se as ferramentas do PLS Toolbox 5.2 ®.

Os espectros UV foram organizados no formato de uma matriz **X**, na qual cada linha foi correspondente a um espectro e cada coluna foi correspondente à absorbância nos diferentes comprimentos de onda. Desta forma, as matrizes apresentaram dimensões 71 x 651 para os

vinhos brancos e 82 x 651 para os vinhos tintos onde foi aplicado o método de regressão linear de primeira ordem por mínimos quadrados parciais (PLS).

Tabela 1 – Vinhos brancos e suas características.

Vinho	Tipo	*T. A. (%)	Origem
01	Seco	12,00	Uruguai
02	Semi Seco	10,50	Brasil (PR)
03	Suave	10,00	Brasil (PR)
04	Suave	10,50	Brasil (PR)
05	Semi Seco	11,30	Brasil (RS)
06	Suave	10,10	Brasil (RS)
07	Suave	13,00	Brasil (RS)
08	Suave	10,50	Brasil (RS)
09	Suave	10,50	Brasil (PR)
10	Seco	10,50	Brasil (RS)
11	Seco	10,50	Brasil (RS)
12	Suave	10,50	Brasil (PR)
13	Suave	10,50	Brasil (PR)
14	Semi Seco	11,00	Brasil (RS)
15	Suave	11,00	Brasil (RS)
16	Suave	11,00	Brasil (RS)
17	Seco	10,50	Brasil (RS)
18	Seco	10,60	Brasil (RS)
19	Seco	12,50	Brasil (RS)
20	Seco	11,00	Brasil (RS)
21	Suave	10,60	Brasil (PR)
22	Suave	10,00	Brasil (RS)
23	Seco	11,00	Brasil (RS)
24	Seco	10,70	Brasil (RS)
25	Suave	10,40	Brasil (RS)
26	Semi Seco	12,50	Chile
27	Semi Seco	13,00	Argentina

*T. A. = Teor Alcoólico.

Tabela 2 – Vinhos tintos e suas características.

Vinho	Tipo	*T. A. (%)	Origem
01	Seco	N/C*	Argentina
02	Semi Seco	12,59	Argentina
03	Seco	11,50	Brasil (RS)
04	Semi Seco	12,00	Chile
05	Seco	12,30	Brasil (SC)
06	Suave	10,00	Brasil (RS)
07	Seco	10,00	Brasil
08	Seco	10,40	Brasil (RS)
09	Suave	10,40	Brasil (RS)
10	Suave	10,10	Brasil (RS)
11	Suave	10,40	Brasil (RS)
12	Seco	10,40	Brasil (RS)
13	Seco	10,50	Brasil (RS)
14	Semi Seco	10,50	Brasil (PR)
15	Suave	10,50	Brasil (RS)
16	Seco	10,50	Brasil (RS)
17	Suave	10,50	Brasil (PR)
18	Semi Seco	10,50	Brasil (RS)
19	Seco	10,60	Brasil (RS)
20	Seco	11,00	Brasil (RS)
21	Semi Seco	11,50	Brasil (RS)
22	Seco	12,50	Brasil (PR)
23	Semi Seco	12,50	Argentina
24	Seco	13,00	Argentina
25	Seco	13,00	Argentina
26	Seco	13,00	Chile
27	Seco	13,00	Argentina
28	Seco	13,00	França
29	Seco	13,50	Chile
30	Seco	13,00	Brasil (RS)
31	Suave	N/C*	Brasil

*T. A. = Teor Alcoólico.

Método dos Mínimos Quadrados Parciais – PLS (Partial Least Squares)

O método PLS (do inglês, *Partial Least Squares*) (GELADI; KOWALSKI, 1986) se baseia em um método de reconhecimento de padrões não supervisionado conhecido como Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) (WOLD, 1987). Ambos são métodos quimiométricos aplicáveis a dados de primeira ordem, ou seja, quando se tem um vetor de respostas instrumentais para cada amostra (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2009), como, por exemplo, um espectro na região do UV. Na utilização desses métodos, os espectros UV são organizados no formato de uma matriz **X**, em que cada linha da matriz corresponde a um espectro e cada coluna corresponde à absorbância nos diferentes comprimentos de onda (SANTOS et al, 2015).

Considerando um caso geral para a determinação de mais de uma espécie de interesse, tem-se uma outra matriz, denominada **Y**, que contém as informações dessas propriedades. No PLS, as matrizes **X** e **Y** são decompostas em um produto de duas matrizes, uma matriz de *scores* (**T** e **U**) e uma matriz de *loadings* (**P** e **Q**), conforme equações (2) e (3) (OTTO, 1999).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T \quad (2)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}^T \quad (3)$$

O conjunto de *scores* e *loadings* é denominado de Componentes Principais (PCs) que, no PLS sofre pequenas modificações para buscar a máxima covariância entre **X** e **Y**, assim, os PCs que são obrigatoriamente ortogonais, no PLS recebem a terminologia de Variáveis Latentes (VLs) por perderem sua ortogonalidade.

A decomposição das matrizes em *scores* e *loadings* é realizada por algoritmos, como por exemplo, o SIMPLS (JONG, 1993), e após a decomposição os coeficientes de regressão para o modelo são estimados por mínimos quadrados entre os *scores* e *loadings* de **X** e os *scores* de **Y**

(OTTO, 1999). Nesse caso será obtido um vetor de coeficientes de regressão, ou seja, um coeficiente de regressão para cada comprimento de onda utilizado na matriz \mathbf{X} (GELADI; KOWALSKI, 1986).

Fazendo uma diferenciação breve entre a calibração univariada (clássica) e a calibração multivariada pode-se destacar que na calibração clássica ou de ordem zero tem-se uma relação linear entre o valor de absorvância em um único comprimento de onda em função das concentrações. Nesse caso, a reta ajustada fornece um único valor de coeficiente de regressão (b), como mostrado na Figura 1(A). A calibração multivariada é uma calibração inversa, onde a absorvância nos diferentes comprimentos de onda é colocada em função da concentração. Assim, obtém um valor de “ b ” para cada comprimento de onda utilizado na construção do modelo de calibração multivariada, ou seja, um vetor de coeficientes de correlação, conforme ilustrado na Figura 1(B).

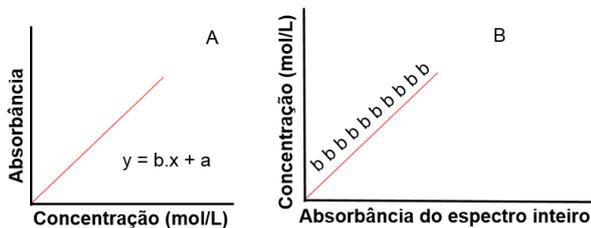


Figura 1 - Representação da calibração univariada (A) e multivariada (B).

Os métodos diretos, como na calibração clássica, consideram que todas as fontes de erro são provenientes da medida instrumental, o que, de certa forma, era válido para os equipamentos analíticos disponíveis no passado. Os métodos inversos, tal como a calibração multivariada através do método PLS, consideram que a variável independente (concentração) é a maior fonte de erro, pois esta geralmente é proveniente de pesagens, diluições, uso de vidrarias sem calibração, dentre outras fontes de erro (BRERETON, 2000).

Para construção do modelo PLS são necessárias uma etapa de calibração e uma etapa de

validação do modelo construído (BEEBE e KOWALSKI, 1987). Para avaliar a capacidade preditiva do modelo, alguns parâmetros de qualidade desse modelo podem ser avaliados, tais como: Exatidão, Ajuste e Linearidade.

A exatidão expressa o grau de concordância entre o valor estimado pelo modelo multivariado e o valor tido como verdadeiro obtido pelo método de referência. Esse parâmetro é expresso através da Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (RMSEC) e de Previsão (RMSEP) (MARTENS e NAES, 1996):

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{nv} (y_i - \hat{y}_i)^2}{nv}} \quad (4)$$

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{nc} (y_i - \hat{y}_i)^2}{nc}} \quad (5)$$

em que: “ y_i ” é o valor de referência, “ \hat{y}_i ” é o valor previsto pelo modelo multivariado, “ nv ” é o número de amostras na validação e “ nc ” é o número de amostras na calibração.

O ajuste é um parâmetro do modelo multivariado que é estimado a partir da correlação entre os valores tidos como referência e os valores estimados pelo modelo de calibração multivariada. Isso é feito determinando por mínimos quadrados, a reta que melhor se ajusta aos valores de referência e aos valores estimados pelo modelo, para as amostras de calibração (MARTENS e NAES, 1996).

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse, dentro de um determinado intervalo de concentrações onde o método será aplicado. Normalmente a linearidade pode ser inferida pela observação de parâmetros como o coeficiente de regressão “ b ”, o intercepto “ a ” e o coeficiente de correlação “ R ” (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI 2007). A avaliação deste parâmetro em calibração multivariada utilizando PLS é problemática, uma vez que as variáveis são decompostas pelas

componentes principais. Assim, uma medida quantitativa para a linearidade não corresponde a uma tarefa simples, ou mesmo possível. Qualitativamente, o gráfico dos resíduos para as amostras de calibração e validação pode indicar se os dados seguem um comportamento linear se a distribuição destes resíduos for aleatória (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 2 mostra os espectros obtidos na região do UV-Vis e a região utilizada na calibração, entre 350 e 400 nm, para as amostras de vinho tinto e branco. Nesta região espectral os valores de absorvância foram inferiores a uma unidade e, portanto, são proporcionais à concentração, conforme previsto pela Lei de Beer. Além disso, esta região tem sido proposta na literatura para modelos de calibração multivariada a partir da espectroscopia UV-Vis em geral, através do método PLS (BUSCH et al, 2003; BUSCH et al, 2004; FAKAYODE et al, 2005) além de ser conhecida como uma região importante na absorção de compostos fenólicos.

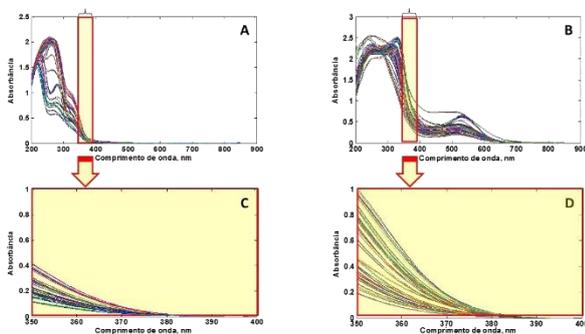


Figura 2 - Espectros UV-Vis das amostras de vinho: (A) branco; (B) tinto; (C) região do espectro utilizada na calibração do vinho branco; (D) região do espectro utilizada na calibração do vinho tinto.

Após a escolha da região espectral, foi construído um modelo de calibração multivariada para determinação da acidez total do vinho branco e outro para o vinho tinto. Para construção dos modelos as amostras foram separadas entre conjunto de calibração e validação através do algoritmo de Kennard-Stone (KENNARD e STONE, 1969). Este

algoritmo seleciona as amostras com base em suas distâncias: a primeira amostra selecionada é a que apresenta a maior distância em relação à amostra média enquanto a segunda amostra a ser selecionada será a que apresentar maior distância em relação à primeira amostra selecionada. A próxima amostra a ser selecionada apresentará maior distância em relação à última amostra selecionada, e assim sucessivamente até atingir o número de amostras desejadas. Esse algoritmo foi aplicado para realizar a seleção das amostras que irão compor o conjunto de calibração, uma vez que procede a seleção das amostras de maior variabilidade, ou seja, as amostras mais “externas” do conjunto total. Assim, cada conjunto de calibração foi inicialmente composto por 55 amostras de vinhos brancos e 65 amostras de vinhos tintos, e para o conjunto de validação por 16 amostras de vinhos brancos e 17 amostras para os vinhos tintos.

Para a construção dos modelos, os espectros foram centrados na média e o número de variáveis latentes foi determinado através dos resultados da Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada (RMSECV) para as amostras de calibração, obtido por validação cruzada do tipo “leave-on-out”. Nesse método de validação interna o modelo é construído e faz-se a previsão de uma das amostras de calibração que foi ‘deixada de fora’ no momento da construção do modelo. Esse procedimento é repetido até que todas as amostras do conjunto de calibração tenham sido previstas. Para o modelo construído para determinação da acidez total do vinho branco foram necessárias um total de 10 variáveis latentes, enquanto que para o vinho tinto foram necessárias 15 variáveis latentes.

Os resultados dos parâmetros de qualidade do modelo desenvolvido estão apresentados na Tabela 3. Os valores de exatidão são representados por RMSEC e RMSEP e revelam que os valores estimados pelos modelos multivariados apresentaram concordância com os resultados obtidos na titulação.

É possível observar que o modelo de calibração multivariada para determinar a acidez no vinho branco apresentou melhor exatidão do que o modelo para determinar a acidez no vinho tinto.

Uma explicação para esses resultados pode ser associada ao erro do método de referência em que o ponto de viragem da titulação do vinho tinto é muito menos visual do que o ponto de viragem da titulação do vinho branco. A coloração apresentada pelo vinho torna difícil a visualização precisa do ponto de viragem, proporcionando, conseqüentemente, um erro maior.

Tabela 3 – Parâmetros de qualidade dos modelos de calibração multivariada.

Vinho	RMSEC (meq L ⁻¹)	RMSEP (meq L ⁻¹)	R
Branco	5,87	6,58	0,7091
Tinto	6,93	8,58	0,7094

Os valores de RMSEP e RMSEC são considerados parâmetros globais que incorporam tanto erros sistemáticos quanto aleatórios e, sendo assim, um outro indicador de exatidão é a regressão entre os valores de referência e os valores estimados pelo modelo (ajuste), e os valores da inclinação e do intercepto, apresentados na Figura 3.

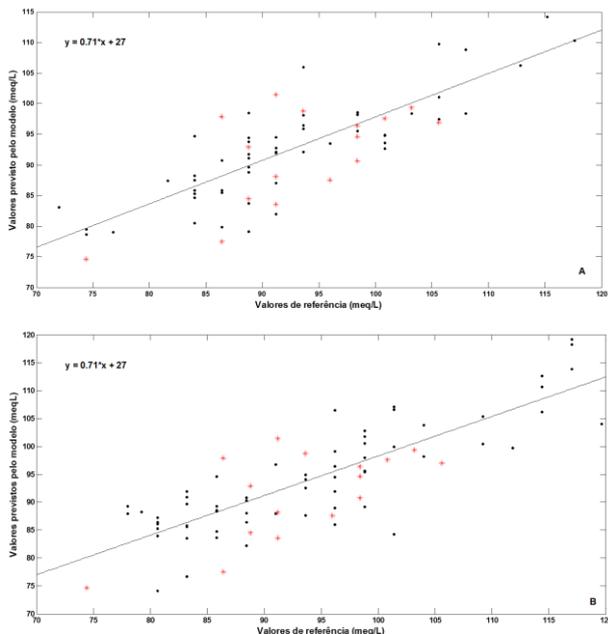


Figura 2 - Ajuste do modelo PLS para determinação da acidez total no vinho (A) Branco e (B) Tinto. Amostras de calibração (•) e validação (*).

A linearidade do modelo de calibração multivariada de primeira ordem foi avaliada através do gráfico de resíduos da calibração e validação, que apresentaram um comportamento aleatório. A avaliação da linearidade pode ser realizada pela análise qualitativa do gráfico dos resíduos para as amostras de calibração e validação: caso a distribuição dos resíduos seja aleatória, considera-se que os dados se ajustam a um modelo linear (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2009).

A Tabela 4 apresenta os valores de acidez total obtidos pelo método de referência (titulação) sugerido pelo manual do INMETRO (MADURO et al, 2007) e os valores de acidez total obtidos através do modelo PLS. Observa-se que existe uma concordância entre os valores tidos como referência e os valores previstos pelo modelo construído.

Tabela 4 – Valores de acidez total dos vinhos tintos e brancos determinados por titulação de neutralização ácido base e os resultados previstos pelo modelo PLS

Vinho Branco		Vinho Tinto	
Acidez total via titulação (meq L ⁻¹)	Acidez total prevista por PLS (meq L ⁻¹)	Acidez total via titulação (meq L ⁻¹)	Acidez total prevista por PLS (meq L ⁻¹)
91,20	88,14	79,20	92,98
88,80	84,51	88,80	88,08
98,40	90,71	93,60	83,29
98,40	96,42	85,80	89,84
91,20	101,45	91,00	87,39
86,40	77,51	98,80	94,63
96,00	87,59	111,80	113,09
105,60	96,99	98,80	91,27
74,40	74,65	117,00	106,24
103,20	99,36	85,80	99,26
88,80	92,91	111,80	98,35
86,40	97,91	88,40	98,88
98,40	94,63	96,20	98,90
100,80	97,63	98,80	94,64
93,60	98,77	91,00	81,64
91,20	83,60	91,00	88,72
-	-	85,80	97,83

No entanto, atestar que não existe diferença significativa entre os dois métodos, um teste de significância, teste t-pareado, foi utilizado para

comparar os dois métodos: modelo PLS e titulação de neutralização. O teste t-pareado, que indica se existem diferenças significativas entre os métodos utilizados, apresentou um valor para $t_{\text{calculado}}$ de 0,286 e 0,059, enquanto o valor de t_{tabelado} é de 2,131 e 2,120 para 95% de confiança, para os vinhos branco e tinto, respectivamente. Como o valor de $t_{\text{calculado}}$ é menor que o valor de t_{tabelado} , em ambos os casos, não existem diferenças significativas entre a titulação de neutralização e o modelo PLS na determinação da acidez dos vinhos branco e tinto, respectivamente, no nível de significância considerado.

CONCLUSÕES

Os resultados alcançados mostraram a possibilidade da utilização do método espectroscópico UV-Vis associado à métodos quimiométricos para a determinação da acidez total nos vinhos brancos e tintos.

Os modelos construídos por calibração de primeira ordem utilizando o método PLS mostraram resultados satisfatórios para essa determinação. A exatidão do modelo para a determinação da acidez no vinho branco foi superior à exatidão do modelo para a mesma determinação no vinho tinto. Isso pode ser atribuído a um erro maior associado na determinação do ponto de viragem da titulação de neutralização utilizada como método de referência na determinação da acidez nos vinhos.

Os dados espectroscópicos se ajustaram a um modelo linear, de acordo com a distribuição aleatória dos resíduos. Um teste de significância foi aplicado aos resultados obtidos pelo modelo PLS e os resultados obtidos pela titulação de neutralização mostrando que, no nível de confiança de 95%, os métodos não apresentam diferença significativa.

REFERENCIAS

AFONSO, J.C.; AGUIAR, R.M.; GOMES, L.M.B. Análise Química de Sais de Cobre Fabricados entre 1877 e 1995. *Química Nova*, 27, 678, 2004.

BARROS, F. G., Determinação condutométrica e colorimétrica de acidez volátil de vinagres e vinhos por injeção em fluxo, Campinas, Programa de Pós-Graduação em Química, UNICAMP, 1990. Dissertação de mestrado, 97p.

BEEBE, K.R.; KOWALSKI, B.R. An introduction to multivariate calibration and analysis. *Analytical Chemistry*, 59(17), A1007, 1987.

BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *Analyst*, v. 125, p. 2125-2154, 2000.

BUSCH, K. W.; SWAMIDOSS, I. M.; FAKAYODE, S. O.; BUSCH, M. A. Determination of the enantiomeric composition of guest molecules by chemometric analysis of the UV-visible spectra of cyclodextrin guest-host complexes. *Jornal of the American Chemical Society*, 125, 1690, 2003.

BUSCH, K. W.; SWAMIDOSS, I. M.; FAKAYODE, S. O.; BUSCH, M. A. Determination of the enantiomeric composition of some molecules of pharmaceutical interest by chemometric analysis of the UV spectra of cyclodextrin guest-host complexes. *Analytica Chimica Acta*, 525, 53, 2004.

CARDWELL, T. J.; CATTRALL, R.W.; CROSS, G.J.; O'CONNELL, R.; PETTY, J.D.; SCOLLARY, G.R. Determination of titratable acidity of wines and total acidity of vinegars by discontinuous flow analysis using photometric end-point detection. *Analyst*, 116: 1051, 1991.

FAKAYODE, S. O.; BUSCH, M. A.; BELLERT, D. J.; BUSCH, K. W. Determination of the enantiomeric composition of phenylalanine samples by chemometric analysis of the fluorescence spectra of cyclodextrin guest-host complexes. *Analyst*, 130, 233, 2005.

FERREIRA, D.S.; PALLONE, J.A.L.; POPPI, R. J. Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIRS) application to estimate Brazilian soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]

- composition. **Food Research International**, 51(1), 53, 2013.
- FISHER BOX, J.; **Statistical Science**, 2(1), 45, 1987.
- FILHO, W.G.V.; Bebidas alcoólicas, ciência e tecnologia, 1ª. Ed., **Edgard Blucher**: São Paulo, 2010.
- FILHO, W. G.V.; Tecnologia de bebidas, matéria-prima-processamento, 1ª. Ed., **Edgard Blucher**: São Paulo, 2005.
- GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial Least-Squares Regression - A Tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, p. 1-17, 1986.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. 4ª ed., 1ª Ed. Digital, São Paulo: 2008.
- JONG, S. SIMPLS: An alternative approach to partial least squares regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System**, v. 18, n. 3, p. 251-263, 1993.
- KENNARD, R.W.; STONE, L.A.; **Technometrics**, 11(1), 137, 1969.
- MARTENS, H.; NAES, T.; Multivariate calibration. Wiley: New York, 1996.
- Ministério Do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior** Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial **INMETRO**. Programa de Análise de Produtos: **Relatório de Vinho**. Disponível em: [<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/vinho.pdf>] (Último acesso em 10/08/2014.)
- MADURO, R; MONTEIRO, L, C; LOBO, A, C, O. Programa de análise de produtos: **Relatório de Vinho**, Divisão de Orientação e Incentivo à Qualidade -Diviq Diretoria da Qualidade - Dqual Inmetro, **Rio de janeiro dezembro de 2007**, acesso em 30 de janeiro de 2014.
- OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN. Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins, OIV, 1969. A10, p. 1–3.
- OTTO, M. **Chemometrics**. New York: Weinheim, 1999.
- ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Strategies to increase sensitivity in UV-Vis spectrophotometry. **Química Nova**, v. 27, p. 807-812, 2004.
- SANTOS, D. A.; de LIMA, K. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. UV spectroscopy and multi-product multivariate calibration in the determination of the total acidity in industrialized juices. **REBRAPA**, v. 6(1), p.1, 2015.
- VALDERRAMA, P. Avaliação de figuras mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo. 2005. Dissertação de Mestrado – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 2005.
- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Variable selection, outlier detection, and figures of merit estimation in a partial least-squares regression multivariate calibration model. A case study for the determination of quality parameters in the alcohol industry by near-infrared spectroscopy. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 55, 8331, 2007.
- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validation of Multivariate Calibration Models in the Determination of Sugar Cane Quality Parameters by Near Infrared Spectroscopy. **Journal Brazilian Chemical Society**, 18, 259, 2007.
- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. State of the art of figures of merit in multivariate calibration. **Química Nova**, 32, 1278, 2009.
- ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H.; NURY, F.S.; Wine analysis and

production, **The Chapman & Hall Enology Library**: New York, 1995.

WOLD, S. Principal Component Analysis: Tutorial. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System**, v. 2, p. 37-52, 1987.