

DETERMINACIÓN DE SODIO, CALCIO Y COBRE EN VINOS URUGUAYOS Y ESTUDIO DE LA RELACIÓN DE ESTOS ELEMENTOS CON EL TIPO DE VINO

DETERMINATION OF SODIUM, CALCIUM AND COPPER IN URUGUAYAN WINES AND STUDY OF THE RELATIONSHIP OF THESE ELEMENTS TO THE TYPE OF WINE

Pablo González¹, Víctor Prieto-Hernández², Mariela Pistón^{1*}

(1) Universidad de la República, Facultad de Química, Departamento "Estrella Campos", Cátedra de Química Analítica, Av. Gral. Flores 2124, 11800 Montevideo - Uruguay

(2) Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Biometría, Estadística y Computación, Av. Garzón 780, 12900 Montevideo - Uruguay

*autor de contacto (e-mail: mpiston@fq.edu.uy)

Recibido: 04/02/2012 - Evaluado: 06/02/2013 - Aceptado: 01/03/2013

RESUMEN

Se realizó la determinación de sodio, calcio y cobre en 45 muestras de vinos Uruguayos, con el fin de evaluar si cumplen con los requisitos de la normativa de la región y, establecer si existe relación entre los niveles de estos elementos y el tipo de vino. Las determinaciones se realizaron mediante espectrometría de absorción atómica de llama. Se validó la metodología para determinar los 3 elementos mediante dilución directa. Se obtuvo las cifras de mérito linealidad, precisión, límites de detección, exactitud y efecto de interferencias. Los resultados indicaron que las cifras de mérito eran adecuadas y sin observarse efecto matriz. Todos los vinos analizados cumplieron con la reglamentación vigente para estos elementos según la normativa del MERCOSUR. La evaluación relación entre el contenido de estos metales y el tipo de vino se realizó mediante ANOVA; no se encontró relación con calcio y cobre mientras que para sodio podría haberla.

ABSTRACT

The determination of sodium, calcium and copper in 45 samples of Uruguayan wines is presented to evaluate their compliance with the region's regulatory requirements and to establish the relation between the levels of these elements and the type of wine. Measurements were performed using flame atomic absorption spectrometry. The methodology was validated for the determination of the 3 elements by direct dilution. The figures of merit linearity, precision, detection limit, accuracy and interference effect were obtained. The results indicated that the figures of merit were adequate and no matrix effect was found. All the analyzed wines complied with the regulations according to MERCOSUR regulations. The relationship between the content of these metals and the type of wine was performed by means of ANOVA; no correlation was found with calcium and copper, meanwhile for sodium, there is a possible association.

Palabras clave: calcio; cobre; sodio; vinos uruguayos
Keywords: calcium; copper; sodium; Uruguayan wines

INTRODUCCIÓN

Los avances tecnológicos han permitido un mejor conocimiento de la composición del vino evidenciando sus aspectos beneficiosos para la salud cuando se lo consume con moderación. El vino es una matriz de relativa complejidad, a grandes rasgos está compuesta por: ~ 88 - 91 % agua, ~ 5 - 8 % etanol, ~ 2 - 3 % hidratos de carbono, ~ 0,25 % metales y ~ 0,1 % proteínas.

La concentración de iones inorgánicos en vinos resulta de interés ya sea por el efecto que pueden causar en el proceso tecnológico de su elaboración sino también por sus efectos sobre la salud. Por otro lado, conocer el contenido de metales en los vinos ha resultado muy útil para caracterizar el origen geográfico de los vinos teniendo en cuenta la relación entre su concentración y la composición del suelo de donde proviene la uva (Paneque *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2011).

Los metales presentes en el vino pueden provenir de la uva, de la maquinaria utilizada en el proceso de fabricación, de los aditivos agregados para acondicionar el mosto previo a la fermentación, entre otros. El control de algunos de ellos es fundamental para la obtención de un buen vino. Por ejemplo el hierro y el cobre son los responsables de los fenómenos de "quiebra férrica" y "quiebra cúprica" respectivamente, indeseados en la fermentación (González *et al.*, 1997; Provenzano *et al.*, 2010).

El sodio (Na) influye poco en el proceso de fermentación de la uva, pero debe monitorearse ya que su contenido está regulado por temas de salubridad. Su concentración depende del tipo de suelo y ubicación geográfica donde se cultiva la vid (para cultivos cercanos al mar el contenido de sodio en el cultivo puede ser importante), del agua utilizada para el riego, aditivos agregados al mosto (como ser hiposulfito de sodio como bactericida, bicarbonato de sodio para corrección de la acidez), y la levadura agregada también contiene pequeñas cantidades de sodio (González *et al.*, 1997).

Por otro lado, el calcio (Ca) es un componente natural de la uva, aunque también se incorpora al vino a través de los aditivos agregados (por ejemplo carbonato de calcio para corrección de la acidez del mosto). Es el catión responsable de la precipitación del ácido tartárico (como tartrato de calcio) lo que modifica la acidez final del vino. El contenido de este metal también se ve afectado por las condiciones de cultivo de la vid (tipo, zona geográfica de cultivo, suelo), y el proceso de elaboración, entre otros (González *et al.*, 1997).

En cuanto al cobre (Cu), suele producir efectos desagradables. A concentración elevada produce enturbiamiento del vino debido a la "quiebra cúprica", la cual se observa a concentraciones próximas a 1 mg L^{-1} . El cobre del mosto proviene principalmente del tratamiento de las cepas con sulfato cúprico como plaguicida (González *et al.*, 1997; Provenzano *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2011).

El Reglamento Vitivinícola del Mercosur (http://www.mercosur.int/msweb/Normas/normas_web/Resoluciones/ES/Res_045_096_.PDF) establece que el contenido de estos elementos no debe superar el valor de 230 mg L^{-1} para Na, 300 mg L^{-1} para Ca (expresado como CaCO_3) y 1 mg L^{-1} para Cu.

Se han reportado las determinaciones de diversos metales en vinos con distintos tipos de estrategias de preparación de la muestra. De acuerdo con lo publicado por López-Artiguez *et al.* (1996), los metales en vinos se determinaron evaporando el líquido y retomando el residuo en agua. Lara *et al.* (2005), realizaron una digestión por vía seca de las muestras de vinos utilizando HNO_3 y HClO_4 . Rivero (2004), planteó que la matriz vino, que contiene etanol, producía interferencias en las determinaciones mediante espectrometría atómica y propuso trabajar con una matriz artificial similar (igualando el porcentaje de etanol) para preparar los patrones de calibración.

Por otro lado AOAC (1999), en su método oficial N° 963.13 indica para la determinación de sodio y potasio una dilución en agua y posterior medida directa mediante fotometría de llama.

En cuanto a la técnica analítica para las determinaciones, la espectrometría atómica ha sido la más utilizada para metales como el Ca, Cu y Na en múltiples matrices, ya sea por espectrometría atómica de absorción (de llama, FAAS) o de emisión (fotometría o plasma de acoplamiento inductivo-ICP) (Beatty & Kerber, 1993; Skoog *et al.*, 2001). En el caso de realizar las determinaciones mediante ICP, existen trabajos en los que se realizan tratamientos previos a las muestras como los citados anteriormente (digestión vía seca, vía húmeda en recipientes cerrados) u otros (asistidos por microondas, evaporación del etanol, entre otras) debido a que se han observado interferencias debidas a la matriz cuando se utiliza esta la técnica (Moreno *et al.*, 2008; Rivero, 2004; Bentlin *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo fue la determinación de Na, Ca y Cu en vinos uruguayos realizando un tratamiento de muestra sencillo (dilución simple o medida directa), con posterior detección mediante la técnica FAAS y el estudio de la posible relación de estos metales con el tipo de vino (blanco, rosado o tinto). Asimismo se verificó el cumplimiento de la reglamentación vigente en la región.

METODOLOGÍA

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica o superior. Se utilizó agua purificada (ASTM Tipo I, 18 MΩ cm) obtenida de un purificador Millipore modelo DIRECT Q-5.

Se prepararon disoluciones patrón stock de sodio de 1000 mg L⁻¹ a partir de NaCl (Fluka 99.9%), de calcio de 1000 mg L⁻¹ a partir de CaCO₃ (ACS Sigma, 98%) disolviendo el sólido en HCl concentrado (Merck) y para el cobre se utilizó un estándar líquido comercial de 1000 mg L⁻¹ (Merck).

Se preparó CsCl (Sigma-Aldrich 99,5 %) 10 % m/v, que se adicionó a las muestras y patrones como buffer de ionización. También se preparó una solución de La 5 % m/v a partir de La₂O₃ (Fischer Chemical 99,9 %), que se utiliza para las determinaciones de Ca como agente liberador.

Las soluciones de calibración se prepararon diariamente realizando diluciones adecuadas de los patrones stock en agua ultrapura y con el agregado de Cs y La para evitar interferencias.

Todo el material de vidrio y porcelana fue descontaminado con HNO₃ 10 % (v/v) durante una noche y luego se realizaron exhaustivos enjuagues con agua purificada.

Los equipos utilizados para las determinaciones fueron: balanza analítica RADWAG modelo AS 220/C/2, productor de agua ultrapura MILLIPORE modelo DIRECT Q-5, espectrómetro de absorción atómica PERKIN ELMER, modelo AANALYST 200, lámparas de cátodo hueco de Na, Ca y Mg marca PHOTRON, mufla ATEC con control de temperatura.

Se trabajó con un total de 45 muestras de vino (7 blancos, 6 rosados y 32 tintos) obtenidas en bodegas uruguayas de prestigio y a la venta en el mercado local.

Las determinaciones analíticas de Na, Ca y Cu se realizaron mediante espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS). Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Condiciones operacionales para la determinación de Na, Ca y Cu.

Condiciones experimentales	Sodio	Calcio	Cobre
λ (nm)	589,00	422,67	324,75
Flujo de acetileno/aire (L min ⁻¹)	2,5/10	2,7/10	2,5/10
Rendija (mm)	1,8/0,6	2,7/0,6	2,7/0,8
Intensidad de lámpara (mA)	15	20	30

Tabla 2: Concentraciones promedio de Na, Ca y Cu (n=3) ± limite de confianza ($t_{\text{critico al } 95\%}=4,30$)

Código	Tipo de vino	Variedad de uva	Sodio (mg L ⁻¹)	Calcio (mg L ⁻¹)	Cobre (mg L ⁻¹)
1	Tinto	Tannat	8,9 ± 0,2	115,7 ± 0,8	No se determinó
2	Tinto	Tannat	34,2 ± 0,4	85,2 ± 1,6	0,08 ± 0,01
3	Blanco	(sin información)	25,0 ± 0,5	99,4 ± 2,5	No se determinó
4	Rosado	(sin información)	84,3 ± 1,1	78,2 ± 4,1	0,05
5	Rosado	Moscatel	107 ± 1	90,1 ± 3,1	0,16
6	Tinto	(sin información)	20,8 ± 0,2	61,3 ± 0,9	No se determinó
7	Tinto	(sin información)	22,5 ± 0,2	63,7 ± 0,5	No se determinó
8	Tinto	(sin información)	16,86 ± 0,04	67,4 ± 1,7	No se determinó
9	Blanco	(sin información)	42,2 ± 1,2	98,9 ± 1,2	No detectado
10	Tinto	Tempranillo	23,1 ± 0,2	54,7 ± 0,9	0,22
11	Tinto	Merlot	28,3 ± 0,2	49,3 ± 0,4	0,07
12	Tinto	Tannat	27,9 ± 0,8	63,5 ± 1,5	0,08
13	Tinto	Merlot	26,2 ± 1,1	62,4 ± 2,9	0,13 ± 0,01
14	Tinto	Merlot	36,7 ± 0,8	56,2 ± 0,9	No detectado
15	Tinto	Merlot	38,6 ± 1,3	61,8 ± 0,4	No detectado
16	Tinto	Merlot	36,0 ± 1,4	55,7 ± 0,5	No cuantificable
17	Tinto	Tannat	36,9 ± 0,6	50,8 ± 0,5	No detectado
18	Tinto	Tannat	30,5 ± 1,0	73,7 ± 0,9	No detectado
19	Tinto	Tannat	26,7 ± 0,5	42,3 ± 0,5	No detectado
20	Tinto	Tempranillo	21,9 ± 0,6	28,2 ± 0,8	0,25 ± 0,01
21	Tinto	Tempranillo	28,3 ± 0,7	58,1 ± 1,2	0,41
22	Tinto	Merlot	32,6 ± 0,9	60,7 ± 0,5	0,20 ± 0,01
23	Tinto	Tannat	32,8 ± 0,3	74,6 ± 1,3	0,06
24	Tinto	Tannat	46,2 ± 1,1	51,8 ± 0,2	No cuantificable
25	Tinto	Tannat	38,1 ± 0,4	54,4 ± 1,0	0,14
26	Tinto	Tannat	24,5 ± 0,1	60,4 ± 1,1	0,22
27	Tinto	Tannat	42,2 ± 1,2	71,9 ± 2,4	0,13
28	Tinto	Tannat	36,4 ± 0,8	62,5 ± 0,9	No cuantificable
29	Tinto	Tannat	38,9 ± 0,4	50,4 ± 0,8	0,09
30	Tinto	Tempranillo	27,1 ± 0,8	58,4	0,21 ± 0,01
31	Blanco	Albariño	14,6 ± 0,8	61,7 ± 2,0	0,08
32	Blanco	Chardonnay	20,1 ± 1,4	65,0 ± 0,2	0,98 ± 0,02
33	Blanco	Chardonnay	17,6 ± 1,1	40,6 ± 0,8	0,16 ± 0,01
34	Rosado	Tempranillo	24,4 ± 2,5	49,8 ± 1,5	0,23 ± 0,04
35	Tinto	Cabernet Merlot	33,2 ± 0,7	74,9 ± 1,2	0,08
36	Tinto	Tannat	48,2 ± 0,2	76,8 ± 0,7	0,12
37	Blanco	Chardonnay	16,1 ± 3,4	65,4 ± 0,5	No cuantificable
38	Tinto	Merlot	3,87 ± 0,13	64,3 ± 0,7	0,29 ± 0,01
39	Tinto	Cabernet Sauvignon	4,5 ± 1,0	77,1 ± 0,5	0,08 ± 0,01
40	Tinto	Tannat	11,4 ± 0,1	76,1 ± 0,8	No se determinó
41	Tinto	Tannat	16,9 ± 0,5	62,2 ± 1,4	No cuantificable
42	Rosado	(sin información)	52,5 ± 0,5	89,6 ± 0,2	0,07
43	Rosado	(sin información)	66,4 ± 1,0	88,1 ± 1,3	No cuantificable
44	Rosado	(sin información)	61,9 ± 0,6	94,8 ± 0,6	No cuantificable
45	Blanco	(sin información)	39,1 ± 0,6	94,2 ± 0,9	No detectado

Para las muestras 4, 5, 10, 11, 12, 21, 23, 25, 26, 27, 29, 31, 35, 36 y 42, la respuesta instrumental obtenida para el cobre fue la misma en las 3 réplicas genuinas. Para la muestra 30 ocurre lo mismo con el Ca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Na como el Ca no son componentes minoritarios en vinos, por lo que solo se determinó el límite de detección y cuantificación para el Cu, elemento que sí se encuentra en niveles muy bajos en el vino. El límite de detección (LD: 3s) para Cu fue de 0,013 mg L⁻¹ y el de cuantificación (LC: 10s) fue de 0,042 mg L⁻¹.

Respecto a la linealidad, se obtuvo rango lineal para Na de hasta 0,5 mg L⁻¹, para Ca de hasta 5 mg L⁻¹ y para Cu de hasta 1,5 mg L⁻¹. La precisión fue de 3,5 % o mejor (expresada como RSD (%); n=3) para todos los analitos estudiados a niveles de concentración de 0,2; 3,0 y 0,1 mg L⁻¹ para Na, Ca y Cu respectivamente.

Para el estudio del efecto matriz tomaron 3 vinos escogidos al azar, y se compararon los valores obtenidos para los 3 analitos cuando se realizó dilución simple en agua purificada (para el Ca y Na) o por medida directa (para el Cu) del vino respecto a los obtenidos al calcinar las muestras (a 550 °C en mufla durante 6hs). Ambos tratamientos se realizaron por quintuplicado; los resultados obtenidos se compararon estadísticamente, no existiendo diferencias significativas entre ellos. La comparación se realizó mediante test de medias a un nivel de confianza del 95 %.

La veracidad se evaluó mediante recuperaciones de muestras fortificadas ("spiked samples"), obteniéndose recuperaciones en el rango de 88-112 % lo cual se considera adecuado para fines regulatorios.

Una vez demostrado que era factible realizar las determinaciones mediante dilución simple de las muestras en agua purificada se procedió a la determinación de los 3 analitos en las muestras adquiridas. En el caso del Cu, la determinación no se realizó en algunas muestras debido a que las mismas se agotaron en los ensayos de determinación de Na o Ca y no fue posible obtener más muestra proveniente del mismo lote.

En la Tabla 2, se muestran los resultados obtenidos Cu, Ca y Na para las diferentes muestras de vino analizadas por la técnica de FAAS.

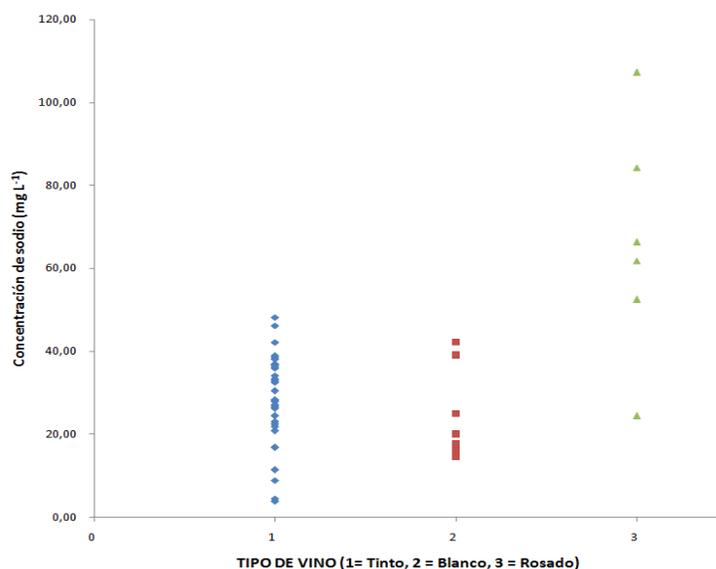


Fig. 1: Distribución de los valores de concentración de Na en los distintos tipos de vinos.

Los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos reportados en la literatura en relación al nivel de estos metales en vinos uruguayos y algunos europeos (Rivero, 2004; Paneque *et al.*, 2010; Provenzano *et al.*, 2010; Pérez Trujillo *et al.*, 2011)

En las Figuras 1, 2 y 3 se muestran los gráficos de distribución de las concentraciones de Na, Ca y Cu respectivamente, según el tipo de vino.

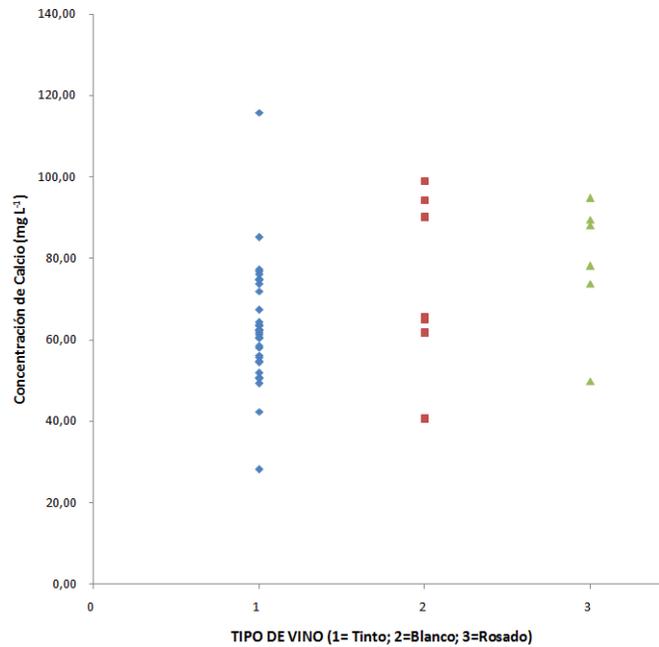


Fig. 2: Distribución de los valores de concentración de Ca en los distintos tipos de vinos.

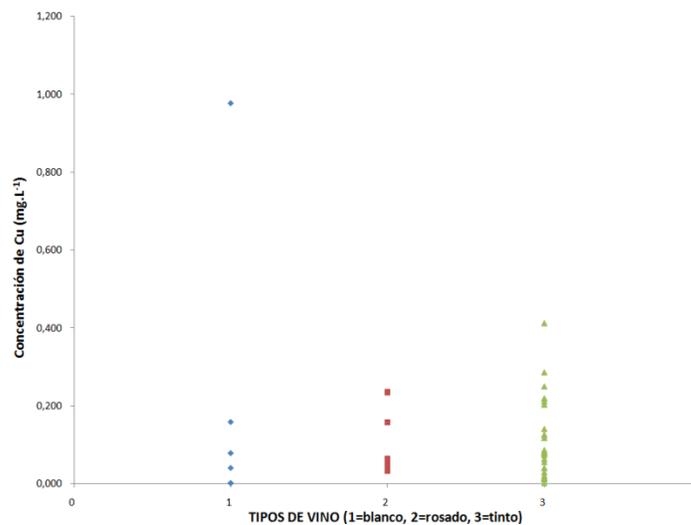


Fig. 3: Distribución de los valores de concentración de Cu en los distintos tipos de vinos.

En las figuras puede apreciarse el diferente grado de dispersión de los valores según el tipo de vino, siendo ésta muy importante en el caso del sodio para los tipos de vino rosados. Los valores para el Ca presentan una distribución normal, mientras que para el Na y Cu se evidenciaron fuertes asimetrías, donde se rechaza el supuesto de normalidad y de homogeneidad de varianzas. En el caso del Cu, se encontró que una muestra presentaba niveles de este metal que estuvieron muy por encima del resto, llegando incluso casi a los límites tolerables para su consumo.

En las Tablas 3, 4 y 5 se muestran las medias obtenidas para Ca, Na y Cu según el tipo de vino.

Tabla 3: Concentración media para Ca según el tipo de vino

Tipo de vino	Calcio (mg L ⁻¹)	n
Tinto	63.3	32
Rosado	79.0	6
Blanco	73.7	7

Tabla 4: Concentración media para Na según el tipo de vino

Tipo de vino	Na (mg L ⁻¹)	n
Tinto	28.2	32
Rosado	66.1	6
Blanco	25.0	7

Tabla 5: Concentración media para Cu según el tipo de vino

Tipo de vino	Cu (mg L ⁻¹)	n
Tinto	0.13	27
Rosado	0.10	6
Blanco	0.21	6

La prueba de igualdad de medias (ANOVA) para los valores de Ca no muestran ser significativamente diferentes ($p > 0.05$), aunque se observa una tendencia hacia el aumento de éste en los tipos rosados. Este resultado sugiere continuar el análisis de más muestras para este tipo y verificar si esa tendencia se confirma.

En el caso del Na, existe una clara tendencia al aumento de su concentración en los vinos de tipo rosado. La evidencia brindada por las muestras analizadas indica que las medias según tipo de vino no son idénticas, ya que se rechaza la hipótesis de medias idénticas ($p < 0.007$) bajo la prueba no paramétrica de suma de rangos.

Para el Cu, los niveles obtenidos en las muestras no muestran relación con el tipo de vino. El análisis de varianza no indica diferencias según el tipo, así como tampoco el test no paramétrico de igualdad de medias utilizado. Si bien la concentración media en los tipos rosados es mayor que en el resto, esta media está basada en pocas muestras (en relación al tipo tinto) y muy influenciada por una muestra con alto valor de Cu (aunque por debajo de los límites de tolerancia). Aún excluyendo esa muestra atípica del análisis, no cambia la afirmación de que los valores del Cu no están asociados al tipo de vino.

En suma, de los estudios preliminares realizados no surge evidencia estadística contundente de que las diferencias encontradas en los valores de concentración de Ca estén influenciadas por los grupos analizados (tipo de vino), pero se hacen necesarios estudios posteriores que confirmen esta afirmación. En el caso del Na, esta relación con el tipo de vino se confirma en pruebas no paramétricas; sin embargo es aconsejable aumentar el número de muestras del tipo rosado y blanco para obtener mejores inferencias. En cuanto al Cu, no se encontró relación con el tipo de vino.

Este tipo de estudios son sencillos y tienen gran utilidad para la clasificación de vinos. En el caso de Uruguay hay muy pocos estudios sobre posibles relaciones entre concentración de metales y tipo y/o variedad de la uva u origen de los vinos, por lo que continuar en esta línea es indudablemente de gran interés científico.

CONCLUSIONES

Se demostró que se puede determinar Ca, Na y Cu en vinos mediante dilución o medida directa con detección mediante FAAS, lo que simplifica el proceso y permite analizar un gran número de muestras en un lapso corto sin la necesidad de un tratamiento previo drástico.

Los valores de concentración de Na, Ca y Cu, dentro de un mismo tipo de vino (tinto, blanco o rosado) difirieron de una muestra a otra.

Todas las muestras analizadas cumplieron con los requisitos del Reglamento Vitivinícola del MERCOSUR en cuanto a los contenidos de Na, Ca y Cu.

Fue evidenciada, mediante análisis estadístico no paramétrico, la relación entre el Na y el tipo de vino rosado aunque debido al diferente tamaño de muestra de los tipos rosados en comparación con los tintos se hace necesario continuar con el análisis de más muestras.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a E. Boido, F. Carrau, E. Dellacasa y M. Medina, por la donación de muestras de vinos.

REFERENCIAS

1. A.O.A.C. (1999). "Official methods of analysis". Association of Official Analytical Chemists (N° 963.13). Cunniff, P. (ed). 16a ed. Gaithersburg.
2. Beaty, R.D. & Kerber J.D. (1993). Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry. 2ª edición. The Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA.
3. Bentlin, F.R.S., Pulgati, F.H., Dressler, V.L. & Pozebon, D. (2011). Elemental analysis of wines of South America and their classification according to country. *J. Bras. Chem. Soc.*, 22 (2), 327-336.
4. González Mendoza, L.A., Armas Concepción, P.A., González Hernández, J.E., García Fernández, M.J., Vidarte Ramos, E. & Pomar García, M. (1997). Estudio evolutivo de los cationes sodio, potasio, hierro y cobre, durante la maduración en cepas de las variedades Listan Negro, Listan Blanco y Negramoll. *Jornadas Técnicas Vitivinícolas Canarias*. Recuperado, noviembre 24, 2012 de sitio web: <http://www.tenerife.es/Casa-vino/jornadas/pdf/PDF%20JORNADAS%20II/021-026%20Estudio%20evolutivo%20de%20los%20cationes.pdf>
5. Lara, R., Cerutti, S., Salonia, J.A., Olsina, R.A. & Martinez, L.D. (2005). Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 43 (2), 293-297.
6. Lopez-Artiguez, M., Camean, A.M. & Repetto, M. (1996). Determination of nine elements in sherry wines by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Journal of AOAC International*, 79 (5), 1191-1197.
7. Moreno, I.M., González-Weller, D., Gutierrez, V., Marino, M., Camean, A., González, A.G., *et al.* (2008). Determination of Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr and Zn in red wine samples by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy: evaluation of preliminary sample treatments. *Microchemical Journal*, 88 (1), 56-61.
8. Paneque, P., Álvarez-Sotomayor, M.T., Clavijo, A. & Gómez, A.I. (2010). Metal content in southern Spain wines and their classification according to origin and ageing. *Microchemical Journal*, 94, 175-179

9. Pérez Trujillo, J.P., Conde, J.E., Pérez Pont, M.L., Cámara, J. & Marques, J.C. (2011). Content in metallic ions of wines from the Madeira and Azores archipelagos. *Food Chemistry*, *124*, 533-537.
10. Provenzano, M.R., El Bilali, H., Simeone, V., Baser, N., Mondelli, D. & Cesari, G. (2010). Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. *Food Chemistry*, *122*, 1338-1343.
11. Rivero Huguet, M.E. (2004). Monitoring of Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in Fine Uruguayan Wines by Atomic Absorption Spectroscopy. *Atomic Spectroscopy*, *25* (4), 177-184.
12. Skoog, D.A, Holler, F.J. & Nieman, T.A. (2001). Principios de Análisis Instrumental. Cap. 8-9, pp. 203-244, 5ª edición, Madrid.

