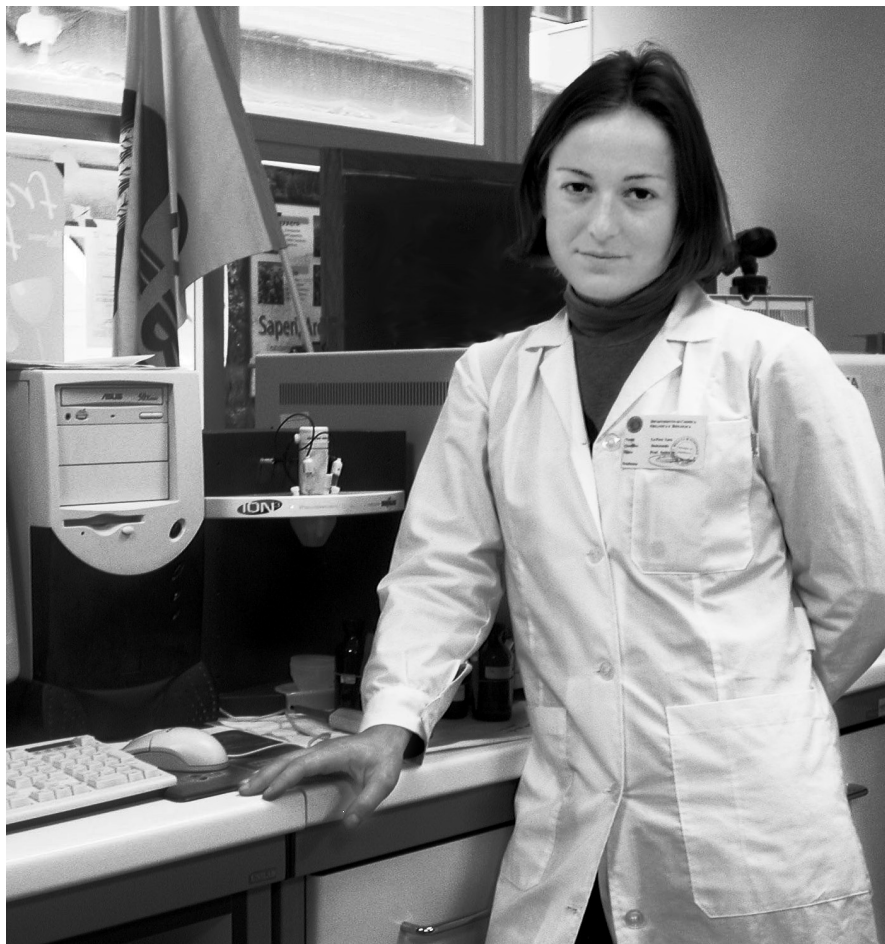


DOCUMENTO  
TECNICO

**Lara La Pera**  
**Giacomo Dugo**  
**Loredana G. La Torre**  
**Fortunato Vilasi**  
**Teresa M. Pellicanò**

*Dipartimento di Chimica  
 Organica e Biologica, Università  
 di Messina*



L. La Pera

## DETERMINAZIONE DI METALLI PESANTI IN VINI SICILIANI PER ANALISI CRONOPOTENZIOMETRICA

Nel presente lavoro viene determinato il contenuto di Cd (II), Cu (II), Pb (II) e Zn (II) in vini siciliani mediante analisi cronopotenziometrica in stripping anodico derivativa (dASCP). La dASCP grazie alla sua rapidità, sensibilità, e accuratezza può essere considerata una valida alternativa alle metodiche ufficiali basate sull'assorbimento atomico.

### Introduzione

Il consumo del vino negli ultimi anni si è arricchito anche di una motivazione salustica, soprattutto grazie alle proprietà antiossidanti dei suoi micro-costituenti, che svolgono un'azione preventiva nei confronti di patologie cardiovascolari e tumorali (1-2). Pertanto, un'accurata conoscenza quantitativa della presenza di elementi tossici è di fondamentale importanza sia dal punto di vista tossicologico che nutrizionale. In-

fatti la sicurezza igienico-sanitaria degli alimenti rappresenta un requisito fondamentale della qualità che va sviluppata anche sul versante nutrizionale e organolettico. I metalli pesanti, in particolare il piombo e il cadmio, sono tra i più pericolosi contaminanti alimentari e, un'assunzione eccessiva, può causare gravi patologie epatiche, ossee, renali e l'insorgenza di neoplasie (3). Il rame e lo zinco sono oligo-elementi che, in concentrazioni moderate, agiscono come co-fatto-

ri in molti processi enzimatici sia durante il processo di vinificazione (4) che all'interno dell'organismo umano (5). Tuttavia, elevate concentrazioni di tali micronutrienti possono risultare negative, è noto, infatti, che il rame è responsabile della formazione di casse nel vino bianco, determinandone l'imbrunimento e l'alterazione delle proprietà organolettiche (6). La presenza di metalli nel vino dipende da molti fattori tra i quali la natura del suolo e, in parte, i metodi di vinificazio-



ne (7). I livelli massimi accettabili di Cd (II), Cu (II), Pb (II) e Zn nei vini, esclusi quelli da dessert, sono stati stabiliti sia dalla normativa italiana (8) che dalla Commissione Europea (9), e sono rispettivamente di 0.1 mg L<sup>-1</sup>, 1.0 mg L<sup>-1</sup>, 0.2 mg L<sup>-1</sup> e 5.0 mg L<sup>-1</sup>.

La metodica analitica ufficiale per il dosaggio di metalli pesanti nel vino è la spettroscopia d'assorbimento atomico (10). Per evitare interferenze, tale tecnica richiede una procedura di preparazione del campione adatta per la completa distruzione della matrice organica, quali calcinazione o dissoluzione a microonde.

Tali metodiche analitiche oltre a richiedere tempi lunghi e alti costi di acquisto e gestione della strumentazione, possono causare perdite di analita per evaporazione a causa delle elevate temperature di esercizio (11). L'analisi cronopotenziometrica in stripping derivativa è già stata utilizzata per il dosaggio di metalli pesanti presenti in tracce negli alimenti (12-14), ed in particolare è stata un valido strumento per studiare l'influenza dei trattamenti fitosanitari applicati alle uve, sulla concentrazione di alcuni metalli pesanti nei vini (15).

L'analisi cronopotenziometrica, che si avvale dell'utilizzo di un elettrodo di lavoro in grafite vetrosa rivestito elettroliticamente da un film di mercurio, non è sensibile alla presenza nel campione di molecole organiche elettro-attive, pertanto è possibile effettuare l'analisi sul vino acidificato, senza ricorrere ad alcun trattamento preliminare del campione. Tale metodica consente inoltre di quantificare simultaneamente Cd (II), Cu (II), Pb (II) e Zn (II). Lo scopo del presente lavoro è di applicare l'analisi cronopotenziometrica derivativa in stripping anodico per determinare il contenuto di tali metalli in vini siciliani commerciali Igt, rossi e bianchi, prodotti da cultivar autoctone e alloctone e in alcuni tipi di Marsala Doc.

## Materiali e metodi

**Reagenti.** Gli standard di Hg (II) (1000 µg mL<sup>-1</sup>, 1M in HCl) e Cd (II), Cu (II), Pb (II) e Zn (II) (1000 µg mL<sup>-1</sup>, 0.5 N in HNO<sub>3</sub>), l'acido cloridrico 35% ultrapuro.

**Apparato.** Le analisi sono state condotte con un potenziometro che si avvale dell'utilizzo di una cella a tre elettrodi: l'elettrodo di lavoro è in grafite vetrosa rivestito da un sottile film di Hg, l'elettrodo di riferimento è in Ag/AgCl (KCl 3M, sat.) e l'elettrodo ausiliario è in Pt. La cella elettrolitica è in teflon; i dati sono stati elaborati tramite il software Neotes.

**Campioni.** I nove campioni di vini commerciali IGT rossi e bianchi, sono stati prodotti in differenti aziende vitivinicole siciliane nelle annate 2000-2002, da cultivar autoctone e alloctone. I quattro campioni di vini Marsala Doc sono stati prodotti in Sicilia nel 2002, ad eccezione di un campione invecchiato prodotto nel 1990. Tutti i campioni sono stati conservati al buio a 4°C fino al momento delle analisi.

## Parte sperimentale

**Plating dell'elettrodo di lavoro.** Quando lo strumento non è operativo, gli elettrodi vengono conservati in acqua ultrapura. Prima di ogni analisi, la superficie in grafite dell'elettrodo di lavoro viene rivestita da un film di Hg, elettrolizzando una soluzione di Hg (II) 1000 µg mL<sup>-1</sup>, 1M in HCl al potenziale di -950 mV per 1 min.

**Analisi cronopotenziometrica del vino.** 2 ml di vino vengono posti nella cella elettrolitica con 1 mL di HCl 35%, 1 mL di Hg (II) 1000 µg mL<sup>-1</sup> e 10 mL di acqua ultrapura. Nella prima fase analitica, Cd(II), Cu(II),

Pb(II) e Zn(II) presenti nel vino vengono ridotti per elettrolisi a un potenziale di -1200 mV applicato per 120 sec. e depositati come amalgama sul film di mercurio. Nella seconda fase analitica il potenziale aumenta e i metalli depositati vengono ossidati in presenza dell'ossidante Hg (II) e riportati in soluzione (stripping). I segnali analitici, rappresentati da una curva del potenziale E (mV) verso derivata del tempo di stripping rispetto al potenziale dt/dE (ms/mV), vengono osservati a -950 mV lo Zn (II), -680 mV il Cd (II), -550 mV (II) il Pb (II) e -150 mV il Cu (II) (Fig. 1). Il potenziale finale di acquisizione è di 0 mV. La soluzione in cella viene agitata alla velocità di 120 rpm. L'analisi quantitativa viene effettuata con il metodo dell'aggiunta multipla, aggiungendo 0.2 mL di Zn (II) 5.0 mg L<sup>-1</sup>, 0.2 mL Cd (II) 1.0 mg L<sup>-1</sup>, 0.2 mL di Pb (II) 1.0 mg L<sup>-1</sup> e 0.2 mL di Cu (II) 2.5 mg L<sup>-1</sup>.

**Sensibilità e prestazioni della metodica.** Non avendo trovato in commercio matrici di vino certificate per i cationi inorganici, la sensibilità, l'accuratezza e la precisione della determinazione simultanea di Cd(II), Cu(II), Pb(II), e Zn(II) mediante analisi cronopotenziometrica derivativa in stripping anodico, sono state testate su una matrice idroalcolica al 12% addizionata con 10 g L<sup>-1</sup> di acido tartarico e 10 mg L<sup>-1</sup> di ciascun catione metallico da determinare. La tabella 1 riporta i risultati ottenuti: la sensibilità (S) dell'analisi è rappresentata dalla pendenza della retta di taratura ottenuta per ciascun analita, i limiti di rivelabilità vengono calcolati mediante l'espressione 3σ/S (12-16), dove σ rappresenta la deviazione standard della risposta analitica ottenuta da cinque misure; l'accuratezza è stata determinata fortificando la matrice idroalcolica con concentrazioni crescenti di cationi metallici e determinando il recupero percentuale ottenuto; la pre-



**Tab. 1 - Equazione della retta di calibrazione ( $R^2 \geq 0.995$ ), deviazione standard della risposta analitica ( $s$ ), limiti di rivelabilità (LOD) e prestazioni della metodica basata sull'analisi cronopotenziometrica in stripping anodico applicata al vino**

	Cd	Cu	Pb	Zn
y=	39311003x+2561	107369001x+20750	42990000x+7376	13972751x+2561
$\sigma$ (ms)	656	2000	1000	250
LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0.05	0.05	0.07	0.05
Ripetibilità %	1.1 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.1
Recupero %	94.3 $\pm$ 1.1	97.1 $\pm$ 1.5	102.8 $\pm$ 3.2	94.3 $\pm$ 1.8

**Tab. 2 - Concentrazione di Cd (II), Cu (II), Pb (II) e Zn (II) in vini siciliani rossi e bianchi IGT e nei marsala D.O.C., determinata mediante dASCP. Ciascun risultato ( $m \pm d.s.$ ) è la media di tre determinazioni**

Camp.	Anno	Varietà	Cd ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	Cu ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	Pb ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	Zn ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )
<b>VINI ROSSI</b>						
1	2000	Cabernet	<0.05	76.4 $\pm$ 1.5	<0.07	394.1 $\pm$ 4.0
2	2002	Cabernet	<0.05	78.9 $\pm$ 1.6	8.1 $\pm$ 0.2	500.0 $\pm$ 4.9
3	2001	Merlot	<0.05	64.6 $\pm$ 1.2	53.1 $\pm$ 0.9	320.1 $\pm$ 1.2
4	2001	Nero d'Avola	<0.05	77.2 $\pm$ 1.5	15.7 $\pm$ 0.4	448.3 $\pm$ 4.6
5	2001	Nero d'Avola	<0.05	143.7 $\pm$ 3.1	8.8 $\pm$ 0.2	494.9 $\pm$ 5.0
<b>VINI BIANCHI</b>						
6	2002	Inzolia-Catarratto	<0.05	50.8 $\pm$ 1.0	6.9 $\pm$ 0.1	286.4 $\pm$ 2.9
7	2002	Inzolia-Grecanico	<0.05	10.4 $\pm$ 0.1	7.9 $\pm$ 0.1	440.2 $\pm$ 4.1
8	2002	Trebbiano	<0.05	5.6 $\pm$ 0.1	7.5 $\pm$ 0.1	280.7 $\pm$ 2.6
9	2002	Inzolia	<0.05	27.8 $\pm$ 0.5	10.0 $\pm$ 0.2	220.5 $\pm$ 2.3
<b>VINI MARSALA</b>						
10	2002	Grillo-Inzolia-Catarratto	27.5 $\pm$ 0.3	105.12 $\pm$ 2.1	42.3 $\pm$ 0.7	996.4 $\pm$ 3.0
11	2002	Grillo- Cataratto	24.5 $\pm$ 0.2	99.8 $\pm$ 2.0	24.8 $\pm$ 0.4	884.1 $\pm$ 2.8
12	2002	Grillo-Inzolia-Catarratto	29.2 $\pm$ 0.3	121.2 $\pm$ 2.3	45.1 $\pm$ 0.7	1050.5 $\pm$ 3.1
13	1990	Grillo- Cataratto	<0.07	185.1 $\pm$ 3.7	5.0 $\pm$ 0.1	1195.0 $\pm$ 1.0

cisione, espressa come deviazione standard relativa delle misure, è stata definita effettuando dieci determinazioni su un campione di vino rosso.

## Risultati e discussione

**Metodo.** La determinazione simultanea di Cd(II), Cu(II), Pb(II), e Zn(II) nel vino mostra un'elevata sensibilità che consente di raggiungere limiti di rivelabilità (LOD) di 0.07  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) per il Pb (II) e 0.05  $\mu\text{g L}^{-1}$  per gli altri tre metalli; incrementando il tempo di deposizione da 120 a 240 sec., si possono ottenere LOD infe-

riori a 0.03  $\mu\text{g L}^{-1}$ . L'accuratezza, espressa come recupero percentuale, è compresa tra il 94 e il 103 %, confermando che durante la fase di elettrodeposizione dei metalli sul film di mercurio, non avvengono perdite significative. Studi preliminari hanno inoltre dimostrato che i risultati ottenuti mediante il dosaggio cronopotenziometrico dei metalli nel vino sono in accordo con quelli ottenuti mediante analisi spettrofotometrica per assorbimento atomico con fornetto a grafite (16). La ripetibilità della metodica descritta è sempre inferiore al 2%.

**Analisi dei vini siciliani.** La Tab. 2 mostra i risultati

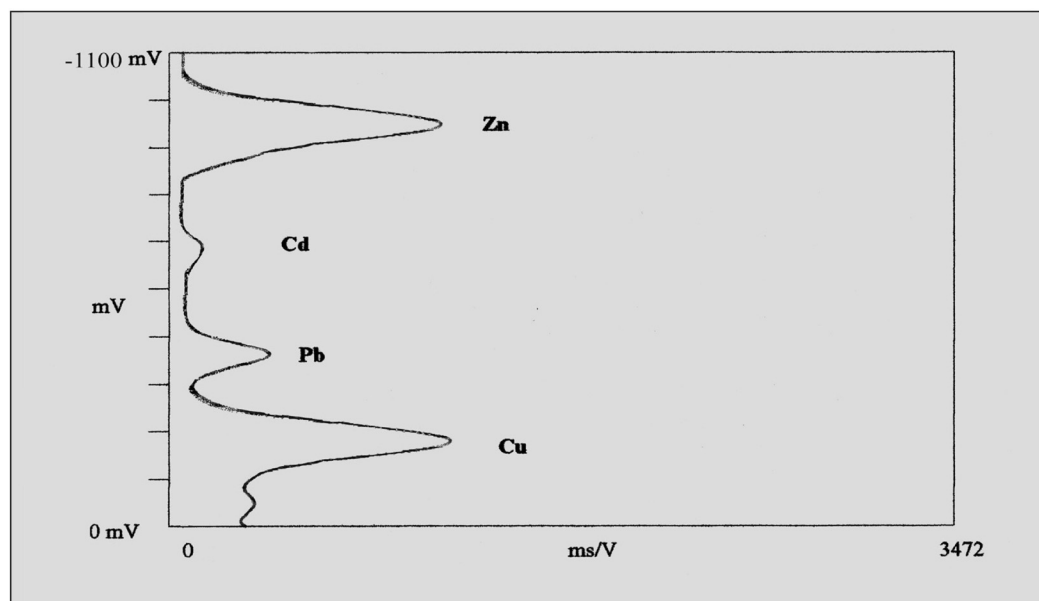
ottenuti dalle analisi dei nove campioni di vini siciliani IGT e dei quattro vini marsala DOC; la concentrazione di Cd(II), Cu(II), Pb(II), e Zn(II) è sempre inferiore ai limiti previsti dalla legge.

Lo zinco è il metallo presente in più alta concentrazione in tutti campioni analizzati: nei vini rossi e bianchi è compresa tra 220-500  $\mu\text{g L}^{-1}$ , il valore più alto è stato trovato in un Cabernet del 2002, il più basso in un Inzolia della stessa annata.

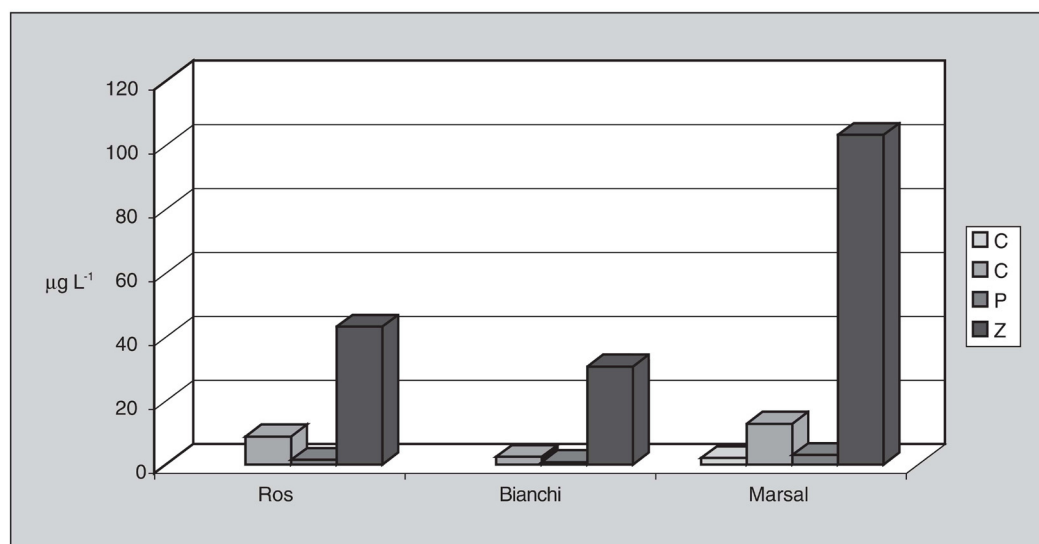
Nei vini marsala il livello di zinco supera 800.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , il contenuto più alto è stato riscontrato in un Marsala invecchiato del 1990 (1195.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ); lo stesso Marsala mostra anche il più alto te-



**Fig. 1 - Curve potenziometriche di Zn (II), Cd (II), Pb (II) e Cu (II) determinate in un campione di vino marsala**



**Fig. 2 - Concentrazione media dei metalli nei vini rossi (n=5), nei vini bianchi (n=4) e nei marsala (n=4)**



nore di rame (185.1 µg L<sup>-1</sup>). La concentrazione di rame nei vini rossi e bianchi mostra una grande variabilità, il valore più alto è stato riscontrato in un Nero d'Avola del 2001 (143.7 µg L<sup>-1</sup>), il più basso in un Trebbiano del 2002 (5.6 µg L<sup>-1</sup>).

Il piombo è presente in tutti i campioni in concentrazioni inferiori a 50 µg L<sup>-1</sup>, molto più bassa del limite legale; la concentrazione di cadmio è inferiore ai limiti di rivelabilità strumentali in tutti i vini rossi e bianchi, mentre è inferiore a 30 µg L<sup>-1</sup> nei Mar-

sala. La figura 2 evidenzia che nei marsala la concentrazione media dei quattro metalli è superiore rispetto a quella riscontrata nei vini rossi e bianchi; questi risultati possono essere giustificati dal lungo periodo di invecchiamento del vino Marsala nelle botti di rovere, che può dar luogo a processi di cessione di metalli, naturalmente presenti nel legno.

Tra i vini rossi e bianchi, i primi mostrano concentrazioni medie di Cu(II), Pb(II), e Zn (II) più elevate.

## Considerazioni conclusive

Il presente lavoro evidenzia che l'analisi cronopotenziometrica derivativa in stripping anodico per la determinazione simultanea di Cd(II), Cu(II), Pb(II), e Zn(II), è una metodica molto sensibile, accurata e di grande praticità per il dosaggio di tali metalli pesanti presenti in tracce nel vino. Tale metodica inoltre consente di effettuare le analisi senza sottoporre il campione a laboriosi

processi di estrazione. Pertanto dati i vantaggi sia economici che analitici offerti dall'analisi cronopotenziometrica, essa può essere considerata una valida alternativa alle metodiche convenzionali basate sulla spettroscopia d'assorbimento atomico. ■

## Bibliografia

1. A. S. Meyer, O. S. Yi, A. D. Pearson, A. L. Waterhouse, E. N. Frankel J. Agric. Food Chem. 45, (1997) 1638-1641.
2. G. Dugo, G. Barbara, G. L. La Torre, F. Vilasi, M. T. Pellicanò. L'Enologo (2003) 9, 111-114
3. E. Rojas, L.A. Herrera Poirier, L.A., P. Ostrosky-Wegman. Mutation Research 443 (1999), 157-167.
4. P. Cappelli, V. Vannucchi. Chimica degli alimenti. Conservazione e trasformazioni II ed. 2000, Zanichelli, Bologna cap.27, pp.571-601.
5. McLaughlin, M.J.; Parker, D. R.; Clarke, J.M. Field crop research, 60 (1999), 143-163.
6. M.C. Gennaro, E. Mentasti, C. Sarzanini, A. Pesticcio. Food Chem. 19, (1986), 93-104
7. C. Hsia, R. Planck, C. W. Nagel., Am. J. Enol. Vitic. 26 (1975) 57-61.
8. Repubblica Italiana. Caratteristiche e Limiti di alcune Sostanze nel Vino. D.M. 29. dicembre 1986.
9. Comunità Europea, regolamento n.466/2001, Gazzetta Ufficiale Europea, marzo 2001
10. F. Balestrieri, D. Marini. Metodi di analisi chimica dei prodotti alimentari vol. II. 1996, Monolite, Roma. pp732-738
11. J. Golimowsky, P. Valenta, H. Wolfgang-Nurnberg. Z.Lebensm. Unters. Forsh. 168 (1979 b), 439-443.
12. L. La Pera, S. Lo Curto, G. L. La Torre, Visco, A. G. Dugo. J. Agric. Food Chem. 50 (2002), 3090-3094.
13. G. Dugo, L. La Pera, V. Lo Turco, E. Mavrogeni, M. Alfa. J. Agric. Food Chem. 51 (2003), 3722-3725.
14. L. La Pera, M. Saitta, G. Di Bella, G. Dugo J. Agric. Food Chem. 51 (2003), 1125-1129.
15. F. Salvo, L. La Pera, G. Di Bella, M. Nicotina, G. Dugo J. Agric. Food Chem. 51(2003), 1090-1094.
16. J. D. Winefordner, G. L. Long Anal. Chem. 7 (1983), 712-723.

