

## **A COR EM AGUARDENTES VÍNICAS ENVELHECIDAS: MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE DETERMINAÇÃO E RELAÇÃO COM OS TEORES EM FENÓLICAS TOTAIS**

**A. PEDRO BELCHIOR**

(Estação Vitivinícola Nacional, Dois Portos, Portugal)

*Com a colaboração técnica de*

**ESTRELA C. P. CARVALHO**

### **RESUMO**

É proposto um método espectrofotométrico (absorvância, a 440 nm) para a determinação da cor em aguardentes envelhecidas como sequência do estudo dos espectros (visível e U. V.) das aguardentes e da alta correlação entre a determinação visual da cor e os valores de absorvância a 440 nm.

A relação entre os valores de absorvância e os teores em fenólicas totais (Folin-Denis) é discutida, propondo-se um modo de avaliação sobre a origem da cor: se somente das fenólicas da madeira de carvalho ou de outras substâncias não fenólicas.

### **INTRODUÇÃO**

É de grande interesse a definição, por um valor objectivo, da cor das aguardentes velhas e igualmente das aguardentes preparadas, assunto que é estudado neste trabalho e proposta uma solução possível.

O emprego generalizado da espectrofotometria permite tirar maior vantagem do estudo de um método que assim poderá ter uma ampla utilização.

Igualmente, a relação da cor com a composição fenólica das aguardentes velhas ou preparadas permitirá avaliar da importância do contributo daquelas substâncias extraídas da madeira, nesta característica do envelhecimento ou do contributo de outras substâncias utilizadas na preparação e que não são substâncias fenólicas.

O método normalmente utilizado na determinação das substâncias fenólicas totais faz uso do reagente de Folin (Otsuka, 1968 e Amerine, 1960). Este reagente apresenta reactividades diferentes para as diferentes substâncias fenólicas (Singleton, 1965 e Belchior, 1982) pelo que em trabalhos mais aprofundados se pode pôr em dúvida o seu emprego pela dificuldade de interpretação dos resultados. Contudo, é ainda o método existente e com utilidade para valores globais, tendo sido empregue neste trabalho.

### MATERIAL E MÉTODOS

*Aguardentes* — Foram utilizadas 30 aguardentes de ensaio, com idades até 12 anos e envelhecimento em quartolas de carvalho «limousin» e carvalho nacional, sem qualquer preparação, sendo portanto de envelhecimento natural.

— Igualmente foram utilizadas 13 aguardentes comerciais, sendo 12 portuguesas e um cognac. Dasquelas, seis foram premiadas no 6.º Concurso Nacional-1982, da Junta Nacional do Vinho, três com medalha de ouro, duas com medalha de prata e uma menção honrosa.

Todas as aguarentes foram analisadas com teor alcoólico de 40° V/V.

*Determinações espectrofotométricas* — Em espectrofotómetro «Lambda 3» — «Perkin-Elmer». As «cuvettes» utilizadas foram de: 1 mm de percurso óptico para o traçado dos espectros (de 250 a 700 nm) e suas determinações de absorvância em comprimentos de onda abaixo de 400 nm; e de 5 mm de percurso óptico para as determinações de absorvâncias em comprimentos de onda superiores a 400 nm.

*Substâncias fenólicas totais* — método de Pro (Singleton *et all.*, 1965) utilizando o ácido gálico como referência.

*Cálculo das rectas de regressão e coeficientes de correlação (r)* — Pelo calculador «Texas Instruments» TI-55-II.

*Observação visual da cor (O. V.)* — A cor de todas as aguardentes foi apreciada em tubos de vidro idêntico com Ø de 14 mm, tendo-se ordenado por ordem crescente de intensidade

dos amarelos, usando os termos normais de descrição: palha, dourado e topázio subdivididos ainda, em claro e carregado. Graficamente atribui-se 2 cm a partir da origem e por ordem de intensidade crescente para cada uma daquelas novas classes de cor; depois, as aguardentes que pertencendo à mesma classe, estavam contudo ordenadas visualmente, eram separadas de 1 mm entre cada, atribuindo-se assim, um valor de abcissa para cada aguardente.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Fig. 1, apresentam-se os espectros característicos de aguardentes de ensaio e de uma aguardente comercial portuguesa.

A apreciação da figura permite verificar a existência de um empolamento cerca dos 360 nm nas aguardentes de ensaio. Também algumas comerciais o apresentam, sinal que terão certamente sido sujeitas a envelhecimento em madeiras de carvalho. A da aguardente comercial apresentada, não apresenta esse empolamento.

Verifica-se a tendência de com a idade, as aguardentes envelhecidas naturalmente, apresentarem esse empolamento mais englobado na banda dos 280-290 nm, o que acontece em face das substâncias fenólicas que vão sendo extraídas e transformadas terem predominâncias das que possuem banda característica neste comprimento de onda.

Em seguida, todas as aguardentes apresentam uma banda de absorção a cerca de 280-290 nm, já totalmente na zona do ultravioleta banda que será característica das fenólicas.

Ora, para questões de determinação de cor, a parte do espectro com maior importância será a do visível, particularmente na zona acima dos 435 nm, a qual absorve a luz azul, o que corresponde à cor do amarelo, sendo no caso em apreciação a que mais nos interessa.

Foram determinadas em todas as aguardentes em estudo: a absorvância para os comprimentos de onda de 280, 360, 420, 440 e 460 nm; a cor e a respectiva abcissa; as fenólicas totais; e as razões dos valores de absorvância a 440 nm em cada aguardente e respectiva diluição a  $\frac{1}{2}$ .

Entre diferentes pares destas séries de valores, foram determinadas as respectivas rectas de regressão e os respectivos

coeficientes de correlação, a fim de se verificar da existência de relação entre as medições efectuadas. Os coeficientes de correlação ( $r$ ), com maior interesse apresentam-se no Quadro I.

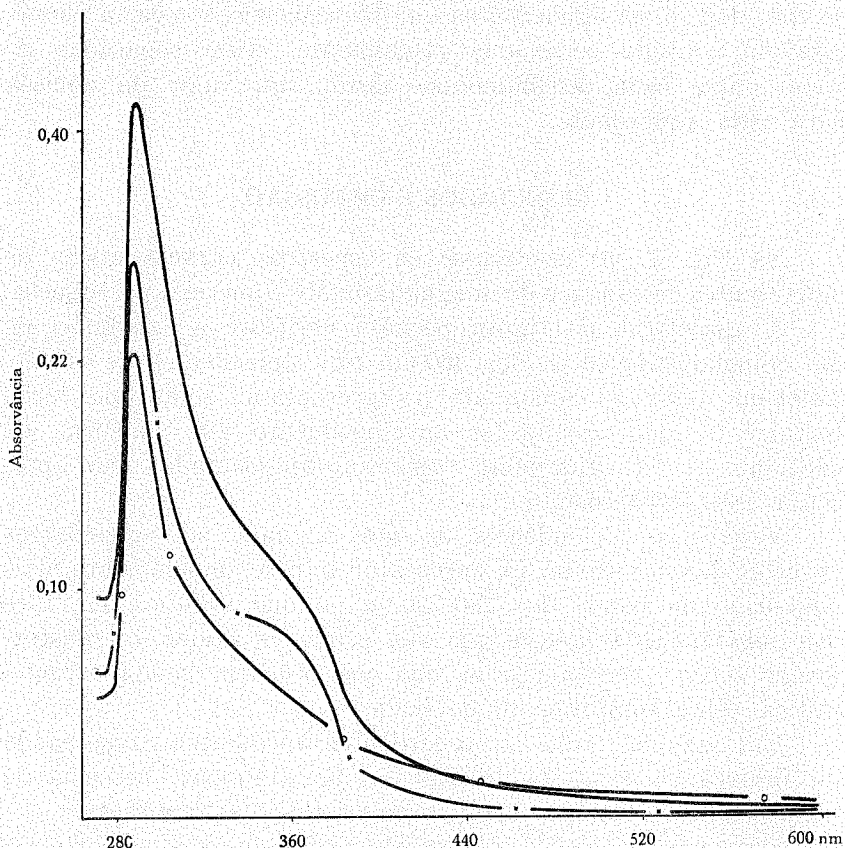


Fig. 1 — Espectros de aguardentes: de ensaio com 9 anos (—) e com 1 ano (—■); comercial (—○).

*Spectres des eaux-de-vie: d'essai avec 9 années (—) et avec 1 an (—■); commerciale (—○)*

Pela observação destes valores, verifica-se ser na zona dos 420-460 nm, que existe a mais alta correlação entre os valores de absorvância e a cor determinada por observação visual.

Em face destes resultados, elegemos o comprimento de onda de 440 nm como o mais significativo para a determinação espectrofotométrica da cor das aguardentes: assim, na Fig. 2,

QUADRO I

Coefficientes de correlação  
Coefficients de correlation

	Observação visual		Fenólicas totais	
	AG ensaio	AG ensaio e comerciais	AG ensaio	AG ensaio e comerciais
Absorvância 280 nm	0.86	0.79	0.78	0.72
» 360 nm	0.95	0.75	0.91	0.89
» 420 nm	0.973	0.950	—	—
» 440 nm	0.973	0.952	0.94	0.51
» 460 nm	0.969	0.949	—	—
Fenólicas totais	0.88	0.47	—	—

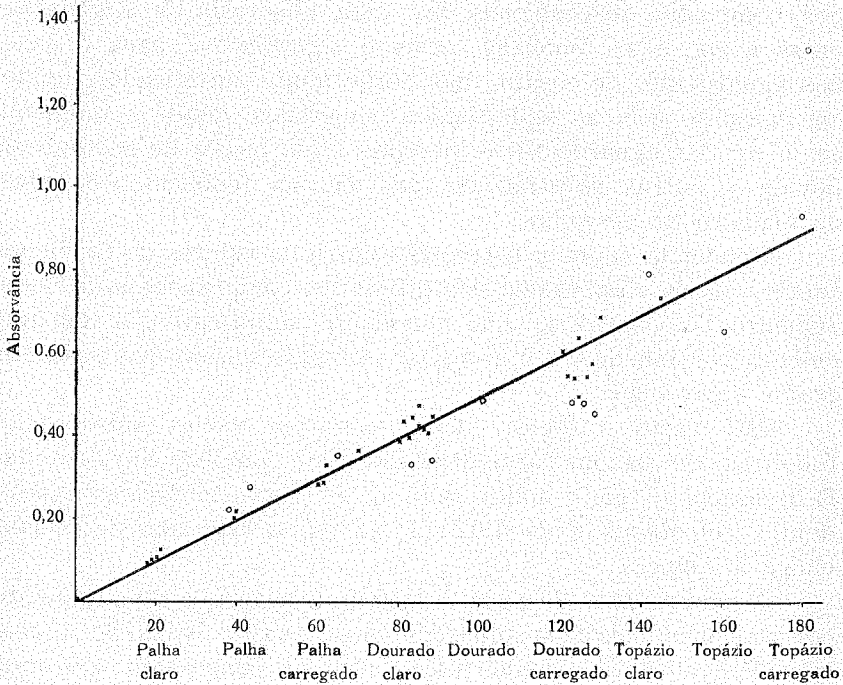


Fig. 2—Recta de regressão dos valores de absorvância a 440 nm para os valores de cor, das aguardentes de ensaio (■) e das aguardentes comerciais (○).

*Droite de régression de les valeurs de densité optique à 440 nm pour les valeurs de la couleur, des eaux-de-vie d'essai (■) et des eaux-de-vie commerciales (○).*

estão representadas todas as aguardentes e a respectiva recta de regressão linear:

$$y = -0.009 + 0.00504 x$$

Por esta figura, verifica-se igualmente ser nas aguardentes comerciais que existem mais casos que se afastam da recta de regressão, contudo a correlação é ainda altamente significativa o que leva portanto a fundamentar a validade do método.

O comprimento de onda de 360 nm (Quadro I), apresenta correlação também importante, embora aqui as aguardentes comerciais façam baixar de forma assinalável o coeficiente de correlação. Este facto manifesta uma menor concordância entre a cor e a composição fenólica das aguardentes, pelo menos nos compostos responsáveis por esta absorção. A correlação entre a cor e as fenólicas totais é significativa para o caso das aguardentes de ensaio, mas perde muito significado quando em conjunto com as aguardentes comerciais, donde e também, ser a cor das aguardentes comerciais (pelo menos de bastantes) devida a outras substâncias, que não as fenólicas extraídas de madeira de carvalho.

Atendendo agora à correlação entre os valores de fenólicas totais e os de absorvância dos diferentes comprimentos de onda (Quadro I), verifica-se uma correlação significativa a 360 nm, embora continuem a ser as aguardentes de ensaio que possuem maior correlação.

Este facto é lógico, dado existirem várias substâncias fenólicas com bandas características neste comprimento de onda. É de assinalar que o maior valor de fenólicas totais das aguardentes comerciais é de 1.02 g/l, ao passo que nas de ensaio chega a 2.69 g/l.

O comprimento de onda de 440 nm verifica-se ser altamente correlacionado para as aguardentes de ensaio, baixando agora, consideravelmente quando juntas com as comerciais. Estamos de novo perante um facto que confirma ser a cor nas aguardentes comerciais (pelo menos em grande parte), devida a outras substâncias que não as fenólicas de madeira de carvalho.

Na Fig. 3, apresenta-se o diagrama para todas as aguardentes, dos valores de fenólicas totais e de absorvância a 440 nm. Por ela, são manifestos os factos atrás referidos entre os quais

se destacam: os baixos teores de fenólicas totais da generalidade das aguardentes comerciais; o seu afastamento da tendência das aguardentes de ensaio evidenciando não ser, na maior parte daquelas, a cor devida às fenólicas da madeira de carvalho mas

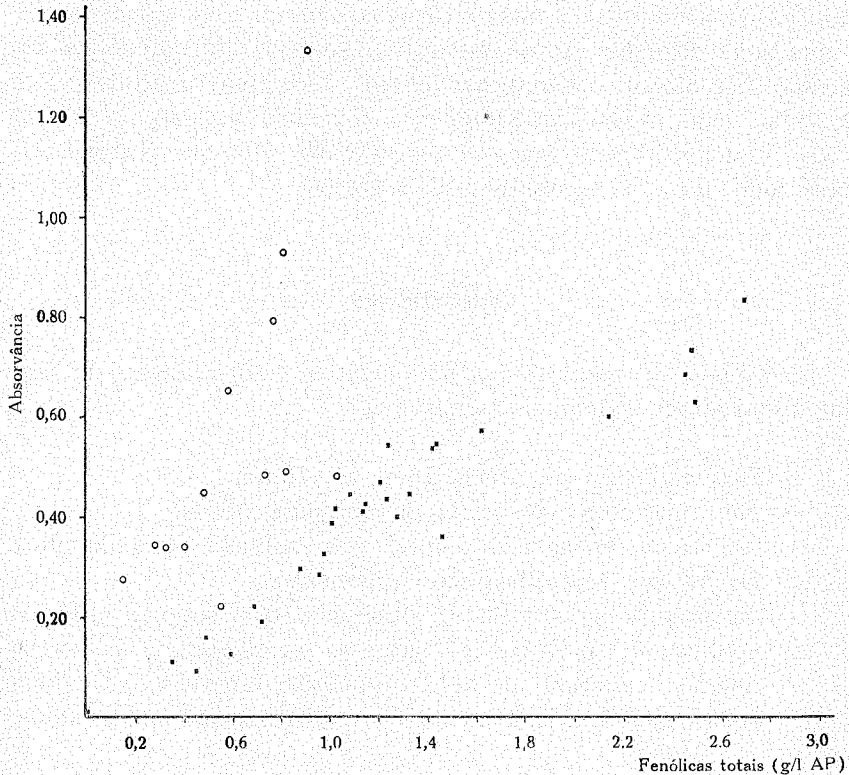


Fig. 3 — Diagrama do posicionamento das aguardentes de ensaio (■) e das aguardentes comerciais (○), em função da absorvância a 440 nm e do teor em fenólicas totais.

*Diagramme de la distribution des eaux-de-vie d'essai (■) et des eaux-de-vie commerciales (○), en fonction de la densité optique à 440 nm et de la teneur en phénoliques totaux.*

a outras substâncias. Tomando-se os valores encontrados neste trabalho e expressos na Fig. 3, verifica-se que traçando a recta  $y = 0.45x$ , ela será o limite superior para lá do qual não se encontrará qualquer aguardente de ensaio, portanto envelhecida naturalmente. Assim, para se avaliar da origem da cor das

aguardentes poderá multiplicar-se por 0.45, o teor em fenólicas totais (g/l AP), e sendo este produto inferior ao valor da absorvância (440 nm), será indicativo de que a cor não é só devida a substâncias fenólicas.

Em ensaio feito, verificou-se ainda que a relação entre os valores da absorvância das leituras a 440 nm, das aguardentes e das suas diluições a um meio (em solução hidroalcoólica ao mesmo teor alcoólico das aguardentes), têm uma razão de cerca de dois; com média de 2.0047 e um desvio padrão de 0.072, o que indica poderem fazer-se as diluições sem que interfiram, para além do erro experimental próprio.

### CONCLUSÕES

Propõe-se o seguinte método para a determinação da cor em aguardentes velhas ou preparadas:

- Determinação da absorvância a 440 nm;
- Em «cuvettes» de 5 mm de percurso óptico;
- Acerto do espectrofotómetro com solução hidroalcoólica ao mesmo teor alcoólico da amostra;
- No caso de se efectuarem diluições (com solução hidroalcoólica de teor alcoólico igual ao da amostra), ou serem usadas «cuvettes» de outra dimensão, efectuar as devidas correcções dos resultados para uniformização dos mesmos.

Pela determinação das fenólicas totais (reagente de Folin-Denis) é possível avaliar se a cor é devida a fenólicas da madeira de carvalho ou a outras substâncias não fenólicas, conforme a sua absorvância seja alta e o teor em fenólicas baixo; valores de absorvância superiores ao produto do valor de fenólicas totais (em g/l A. P.) por 0.45, são indicativos de a cor não ser somente devida às fenólicas.



## RÉSUMÉ

### La couleur dans les eaux-de-vie: une méthode spectrophotométrique de détermination, et la relation avec les teneurs en phénoliques totaux

Il est proposé une méthode spectrophotométrique (absorbance à 440 nm sous 5 mm) pour la détermination de la couleur dans les eaux-de-vie vieilles, à la suite de l'étude des spectres d'absorption de les eaux-de-vie et de la grande corrélation entre la détermination visuel de la couleur et les valeurs de densité optique à 440 nm.

La relation entre les valeurs d'absorption et les teneurs en phénoliques totaux (Folin-Denis), elle est discutée et il est proposé une façon d'évaluation sur l'origine de la couleur: s'elle est du seulement à les phénoliques du bois de chêne ou à autres substances pas phénoliques.

## SUMMARY

### The colour in brandies: evaluation by spectrophotometric method and the relation with the total phenolic contents

A spectrophotometric method is proposed (absorbance-440 nm-5 mm) for the colour evaluation in brandies, and following the study of the brandies spectres and the high correlation showed between the visual determination of colour and the absorbance values.

The relation between the absorbance values and the total phenolic contents (Folin-Denis) is discussed and a way of colour origin evaluation is therefor proposed: whether colour origin is due to the oak phenolics or to other non phenolic substances.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amerine, M. A.  
1960 Laboratory procedures for enologists. Department of enology. University of California. DAVIS.
- Belchior, A. P.  
1982 Elementos para a caracterização da cromatografia em gel de «Sephadex LH20» de aguardentes velhas. *Ciência Téc. Vitiv.* 1 (1): 37-45.
- Otsuka, K.  
1968 Étude sur le mécanisme du vieillissement des eaux-de-vie. II Symposium intern. d'oenologie. INRA. 2.° vol.: 619-625.
- Singleton, V. L. e J. A. Rossi Jr.  
1965 Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16 (3): 144-158.

