

INSTITUTO NACIONAL  
DE INVESTIGAÇÃO  
AGRÁRIA

CENTRO NACIONAL  
DE ESTUDOS  
VITIVÍCOLAS

# DE VINEA ET VINO PORTUGALIAE DOCUMENTA

LISBOA-PORTUGAL

FEV. - 1979

VOL. 9

## EMPREGO DA CROMATOGRAFIA EM COLUNA DE GEL DE «SEPHADEX LH 20» NA CARACTERIZAÇÃO DE AGUARDENTES VÍNICAS ENVELHECIDAS

POR

A. P. BELCHIOR

P. CLÍMACO (\*)

J. M. SOARES FRANCO (\*)

Instituto Nacional de Investigação Agrária  
Dois Portos

### INTRODUÇÃO

*A*S aguardentes envelhecidas naturalmente têm características que derivam da qualidade da aguardente de origem, assim como da dissolução e transformação das substâncias solúveis da madeira de carvalho durante o envelhecimento.

O estudo dos processos de envelhecimento tem sido executado por diferentes autores: M. MARCHÉ e E. JOSEPH (1972, 1975) para o Cognac; L. DEIBNER e colab. (1976), J. L. PUECH e colab. (1973), K. BRICOUT (1971) para o Armagnac; C. JOURET e J. L. PUECH (1975) também para os Armagnac e para os Rhums; bem como os trabalhos de J. M. SKOURIKIN, de K. OTSUKA e de J. GUYMON e CROWELL.

Todos os autores referidos atribuem uma grande importância ao estágio prolongado das aguardentes em madeira de

(\*) Estagiários do Instituto Superior de Agronomia.  
Recebido para publicação em 19/2/79.

carvalho, que possibilita o conjunto das qualidades de cor, aroma e sabor tão apreciados nestas bebidas.

Os nossos estudos, neste domínio, foram iniciados pela identificação das substâncias extraídas da madeira de carvalho (BELCHIOR e CARNEIRO, 1972). Com o decorrer dos anos de envelhecimento, das aguardentes em ensaio, o número de manchas cromatográficas teve, naturalmente, um aumento considerável. Pensou-se então efectuar o fraccionamento dos extractos de aguardente, por forma a individualizar as fracções que maior responsabilidade tenham nas características sensoriais. Este trabalho dá conta dos estudos já efectuados, considerando também, a comparação com aguardentes velhas do comércio.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Aguardentes*

Foram estudadas cinco aguardentes: três em ensaio e duas do comércio. A aguardente A, é originária de um vinho da Adega Cooperativa de Lourinhã, destilado em coluna; tem quatro anos de envelhecimento em quartola (130 litros) de carvalho «Limousin», com tratamento prévio pelo vapor. As aguardentes B e C, são originários de vinhos da casta Alicante Branco, de uma vinha deste organismo, foram destiladas num alambique e segundo o método de «Charente»; envelheceram em quartolas semelhantes à da aguardente A, mas o tratamento prévio da quartola, no caso da aguardente B, foi pelo ácido (BELCHIOR e CARNEIRO, 1972), e tem quatro anos de envelhecimento, ao passo que a aguardente C, tem somente um ano.

As aguardentes do comércio que foram estudadas, são um Cognac (V. S. O. P.) e uma aguardente preparada portuguesa.

### *Cromatografia em coluna de gel de Sephadex LH 20*

Utilizámos uma coluna, «WHATMAN, MSPC 1000», com 85 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro. Temperatura de trabalho de 20° C. Débito constante de 0,5 ml/minuto, regulado por uma bomba peristáltica, «P-3, PHARMÁCIA FINE CHEMICALS». A deposição (0,5 ml) foi feita após concentração sobre vácuo de 60 ml de aguardente, seguida de recuperação por

3 ml de etanol-água (7:3), solvente utilizado na eluição. O solvente e o gel foram estudados por um de nós (CLÍMACO, 1977).

A coluna foi colocada sobre um espectrofotómetro «BECKMAN, DBG» com o adaptador «FLOW CELL ASSEMBLY-96160» e uma célula de vidro. O espectrofotómetro é ligado a um registador «W + WELECTRONIC-1 100», o que permitiu a obtenção dos cromatogramas a 360 nm. As curvas a 270 nm foram traçadas pontualmente, com base na colheita de amostras consecutivas de 2 ml e leitura posterior.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cromatogramas a 360 nm permitiram uma boa individualização das fracções. Na Fig. 1, encontram-se os cromatogramas das aguardentes estudadas.

As características de cor e aroma das diferentes fracções das aguardentes estão reunidas no Quadro I.

A fracção 1, que corresponde ao primeiro pico cromatográfico, existe nos cromatogramas de todas as aguardentes, excepto para a aguardente C, no comprimento de onda de 360 nm. O estudo por cromatografia em papel (BELCHIOR e CARNEIRO, 1972), mostra que as substâncias desta fracção ficam na origem. Dado que elas são também as primeiras a ser eluídas, isto leva-nos a supor que se está em presença de substâncias de peso molecular elevado e que resultam de polimerização que tem lugar durante o envelhecimento das aguardentes, o que para a aguardente C explica a ausência do pico cromatográfico por causa da sua idade.

A fracção 2, sem cor e sem aroma apreciável, é constituída por substâncias ainda não individualizadas, mas com absorção no ultravioleta.

As fracções mais importantes na cor e sobretudo no aroma são as 3 e 4. No Cognac (a aguardente mais velha) o quarto pico é muito mais pequeno que o terceiro. Nas aguardentes A e B, o mesmo pico, é também ligeiramente mais pequeno que o terceiro, o que não é o caso da aguardente C, a mais nova. Podemos estar perante o facto de que com o envelhecimento, as substâncias responsáveis pelo quarto pico são transformadas, ou as substâncias responsáveis pelo terceiro aumentam de forma considerável. Estas últimas substâncias são as que dão o aroma

Transmitância

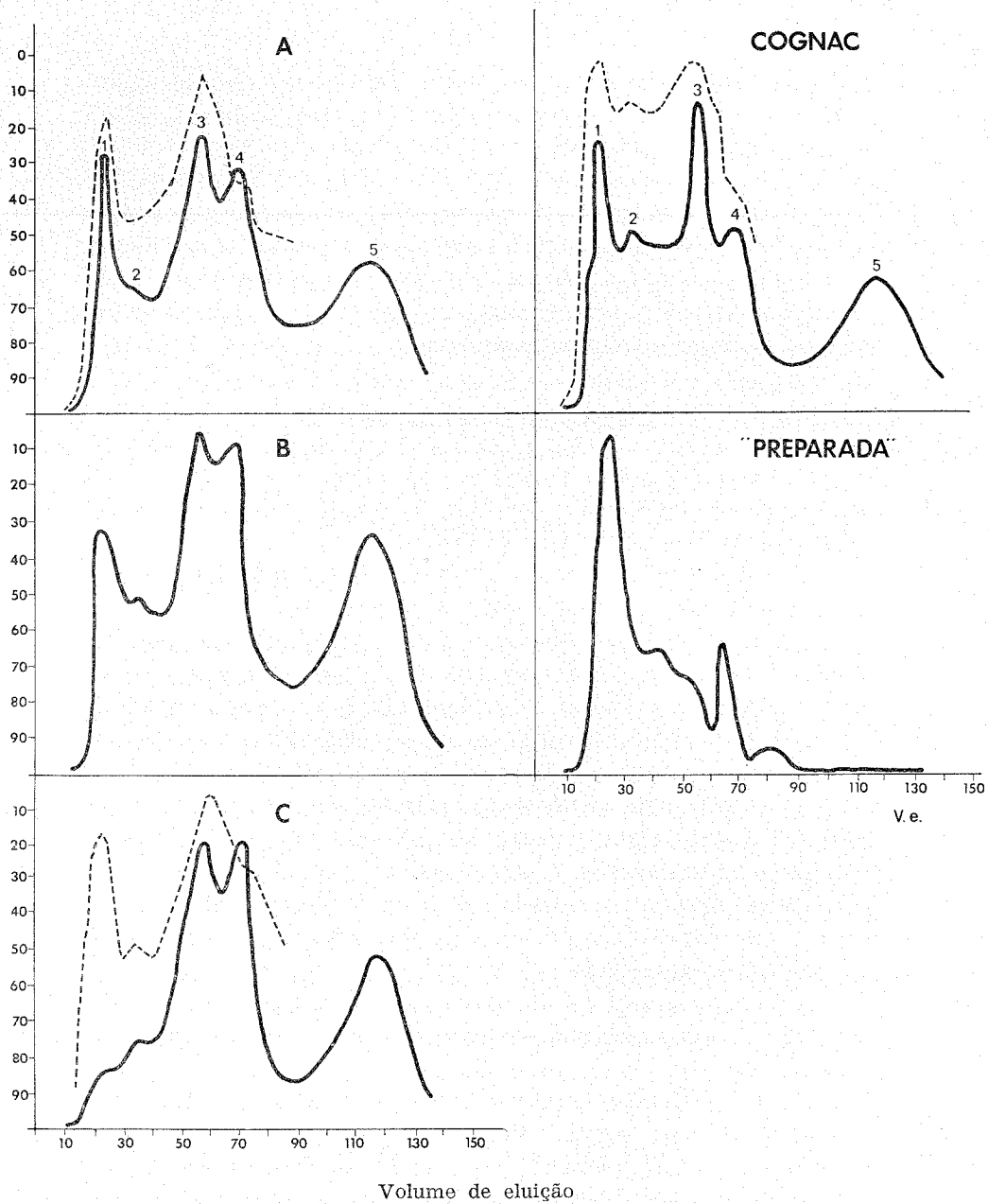


Fig. 1 — Cromatogramas das aguardentes

a 360 nm —————  
a 270 nm - - - - -

QUADRO I

Cor e aroma das cinco fracções das aguardentes

Frações	Volumes de eluição ml	Aguardentes									
		A		B		C		Cognac		Preparada	
		Cor	Aroma	Cor	Aroma	Cor	Aroma	Cor	Aroma	Cor	Aroma
1	15-27	Acastanhado	Alcool	Amarelado	Alcool	Amarelado	Alcool	Acastanhado	Alcool	Acastanhado	Alcool
2	27-45	Amarelado	Indefinido	Amarelado	Indefinido	Amarelado	Alcool	Amarelado	Alcool	Amarelado	Alcool
3	45-65	Amarelo palha	A madeira ligeiro ranço	Amarelo palha	A madeira ligeiro ranço	Amarelo palha	Ligeiro ranço	Amarelo palha	Ranço	Incolor	Alcool
4	65-80	Amarelado	Aldeídos vanilina	Amarelo palha	Aldeídos vanilina	Amarelado	Aldeídos vanilina	Amarelado	Aldeídos vanilina	Incolor	Alcool
5	80-130	Incolor	Alcool	Incolor	Indefinido	Incolor	Indefinido	Incolor	Indefinido	Incolor	Alcool

de ranço ou de envelhecimento, característico das aguardentes velhas de boa qualidade.

A cromatografia em papel destas duas fracções, apresenta na fracção 3, os açúcares, tendo o Cognac nesta região dos cromatogramas uma grande mancha semelhante à que existe também na aguardente preparada, além de manchas ainda não identificadas. Na fracção 4, de entre diferentes manchas (algumas também de compostos carbonilados) encontra-se a vanilina.

Na última fracção encontram-se os ácidos gálico e elágico, por esta ordem de eluição; não estando de acordo com o tamanho das suas moléculas e com o seu peso molecular, o que se pode atribuir a efeitos de adsorção.

Pela observação dos cromatogramas e do quadro, vêem-se semelhanças entre as aguardentes A, B, C e o Cognac. A aguardente C apresenta-se na cromatografia em papel com manchas, de tamanho e número, menores e sem ter todos os açúcares já identificados (BELCHIOR e CARNEIRO, 1972).

A aguardente preparada, apresenta-se incaracterística no cromatograma e na apreciação sensorial. Supõe-se que as substâncias responsáveis pelo seu primeiro pico não são as mesmas das das outras aguardentes, apesar da sua cor acastanhada. Na cromatografia em papel, também incaracterística pela ausência quase total de manchas cromatográficas, faz-se notar, na zona dos açúcares, uma grande mancha semelhante à que provoca o caramelo. Pode dizer-se que a intervenção da madeira de carvalho nesta aguardente não é reconhecida.

Esta possibilidade de caracterização de aguardentes envelhecidas abre caminho para estudos mais aprofundados, tanto da própria técnica, como das substâncias responsáveis pelos picos importantes e sua evolução com o tempo de envelhecimento.

#### RESUMO

Neste trabalho são relacionadas as características cromatográficas com a análise sensorial das respectivas fracções e com a idade de três aguardentes de ensaio, um Cognac e uma aguardente comercial portuguesa, preparada.

Verifica-se também a semelhança entre as aguardentes de ensaio e o Cognac, resultantes do envelhecimento em madeira de carvalho «limousin».

#### RÉSUMÉ

Dans ce travail on essaye de faire la relation entre les caractéristiques chromatographiques, l'analyse sensoriel des respectives fractions et l'âge de trois eaux-de-vie d'essai, d'un Cognac et d'une eau-de-vie portugaise «preparada».

On a aussi vérifié, la similitude entre les eaux-de-vie d'essai et le Cognac, dû au vieillissement dans le bois de chêne du limousin.

#### SUMMARY

In this work the chromatographic characteristics are selected with the sensorial evaluation of the respective fractions and with the aging of three brandies' experiments, a Cognac and a portuguese commercial brandy «preparada».

It was also observed the similarity between brandies' experiments and Cognac which is the result of aging in oak's wood «limousin».

#### BIBLIOGRAFIA

- BELCHIOR, A. P. et CARNEIRO, L. C.  
1972 Identification de substances extraites du bois neuf de chêne du limousin par des eaux-de-vie de vin. *Conn. Vigne Vin*, 6 (4): 365-372.
- BRICOUT, K.  
1971 Analyse de quelques constituants dérivés du chêne dans les vieilles eaux-de-vie d'Armagnac. *Ann. Technol. Agric.*, 20: 217-223.
- CLÍMACO, P.  
1977 Contribuição para o estudo do envelhecimento natural de aguardentes vnicas. ISA — Lisboa.
- DEIBNER, L., JOURET, C. et PUECH, J. L.  
1976 Substances phénoliques des eaux-de-vie d'Armagnac. I. La lignine d'extraction. *Ind. Alim. Agric.* 93 (4): 401-414.
- JOSEPH, E. et MARCHÉ, M.  
1972 Contribution à l'étude du vieillissement du cognac. Identification de la Scopolétine, de l'Aesculétine, de l'Ombelliférone, de la  $\beta$ -méthyl-Ombelliférone, de l'Aesculine et de la Scopolétine, hétérosides provenant du bois. *Conn. Vigne Vin*, 6 (3): 273-330.
- JOURET, C. et PUECH, J. L.  
1957 Importance de la lignine dans le vieillissement des rhums. *Ann. Technol. Agric.* 24 (3-4): 325-333.

MARCHÉ, M. et JOSEPH, E.

1975 Étude théorique sur le cognac, sa composition et son vieillissement naturel en fûts de chêne. *Revue Française d'Oenologie*, 57: 1-108.

OTSUKA, K.

1978 Étude sur le mécanisme du vieillissement des eaux-de-vie. INRA — II Symp. Intern. d'Oenologie.

PUECH, J. L., JOURET, C. DEIBNER, L. et ALIBERT, G.

1977 Substances phénoliques des eaux-de-vie d'Armagnac et de rhum. II — Produit de la dégradation de la lignine: les aldéhydes et les acides aromatiques. *Ind. Alim. Agric.*, 94 (5): 483-493.

DE VINEA ET VINO PORTUGALLÆ DOCUMENTA

Abrev.: *Vin. Port. Doc.*

TRABALHOS PUBLICADOS:

VOLUME IX

Série II — ENOLOGIA

- 1 . Belchior, A. P., Climaco, P. e Franco, J. M. Soares — Emprego da cromatografia em coluna de Gel de «Sephadex LH 20» na caracterização de aguardentes vînicas envelhecidas.