

## OS MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DOS POLIFENÓIS TOTAIS EM VINHOS TINTOS E BRANCOS (\*)

A. S. CURVELO-GARCIA, M. I. SPRANGER-GARCIA  
e M. C. GODINHO

Estação Vitivinícola Nacional. Dois Portos. 2575 RUNA. Portugal

### RESUMO

Aplicou-se dois métodos para a determinação dos polifenóis totais em vinhos (o método de Folin-Ciocalteu e o baseado no valor da absorvência a 280 nm) a 152 amostras de vinhos tintos e 87 amostras de vinhos brancos, representativos da produção de 1986 de diversas regiões vitícolas portuguesas. Considerando a natureza convencional dessas determinações, concluiu-se que qualquer delas poderá representar a composição fenólica dos vinhos, tintos ou brancos, sobretudo quando a população em estudo (e a caracterizar) envolver uma elevada heterogeneidade.

### INTRODUÇÃO

Em vinhos tintos, o índice de Folin-Ciocalteu é reconhecidamente aceite para exprimir o teor em polifenóis totais: em 1981, o OIV introduziu-o como método oficial, na versão de Blouin *et al.* (1972) e Mazot (1974), conforme proposta de Brun (1979). Trata-se de um método aplicável, com algumas adaptações, ao caso dos vinhos brancos. O seu princípio consiste na acção redutora dos fenóis, em meio alcalino, sobre uma mistura dos ácidos fosfotungstíco e fosfomolibdico, com obtenção de óxidos de tungsténio e de molibdénio, apresentando uma coloração azul (com um máximo de absorção a 750 nm).

Outro dos métodos actualmente empregues para a determinação de um índice, exprimindo o teor de polifenóis totais

---

(\*) Este trabalho foi parcialmente financiado pela JNICT ao abrigo do contrato de investigação n.º 893.86.206.

dos vinhos, baseia-se na medida da absorvência a 280-282 nm, comprimento de onda característico da absorção dos núcleos benzénicos, o que tem sido objecto de trabalhos de diversos autores (cf. Curvelo-Garcia, 1988).

Trata-se de dois métodos baseados em princípios profundamente diferentes, embora, no caso dos vinhos tintos e segundo diversos autores (Canbas, 1971; Gigliotti, 1973; Somers e Evans, 1977; Glories, 1978; Ricardo-da-Silva *et al.*, 1987), apresentando uma boa correlação. Diversos autores, contudo, preferem a determinação do índice de Folin-Ciocalteu, ao da absorvência a 280 nm, por ser mais específico dos polifenóis e por não necessitar de um espectrofotómetro de UV. Mas hoje a disponibilidade de espectrofotómetros operando nesta gama de comprimentos de onda (UV) é relativamente generalizada, e é evidente que o método baseado na absorvência a 280 nm é muito mais rápido e envolve uma técnica operatória muito mais simples; por outro lado, o método de Folin-Ciocalteu é mais sujeito à acção de interferentes (Castino, 1979; Ricardo-da-Silva *et al.*, 1987).

No caso dos vinhos brancos, o método da determinação da absorvência a 280 nm não tem sido aconselhado, em virtude da significativa interferência das substâncias não fenólicas, dado ter de se recorrer a menores diluições que no caso dos vinhos tintos.

Julga-se contudo que estes aspectos necessitam de um maior aprofundamento, constituindo este trabalho uma contribuição para tal.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Métodos analíticos*

— *Índice de absorvência a 280 nm (A<sub>280</sub>)* — produto do factor de diluição da amostra (100, no caso dos vinhos tintos e 25, no caso dos vinhos brancos) pela absorvência a 280 nm da amostra diluída sob 1 cm de percurso óptico e relativamente à água (Ribéreau-Gayon, 1970; Curvelo-Garcia, 1988).

— *Índice de Folin-Ciocalteu (IFC)* — método adoptado pelo OIV (1981), por proposta de Brun (1979): aquecimento a 70° C durante 10 min, com leituras espectrofotométricas a 750 nm.

### *Vinhos analisados*

Foi realizada a determinação analítica dos dois índices, referidos anteriormente, em 152 amostras de vinhos tintos e 87 amostras de vinhos brancos, provenientes de diversas regiões vitícolas portuguesas (Douro, Pinhel, Dão, Oeste, Ribatejo, Península de Setúbal e Alentejo), conforme se indica no Quadro I.

Os vinhos analisados, representando estatisticamente a produção das Adegas Cooperativas dessas regiões em 1986, bem como as determinações analíticas objecto deste trabalho, são parte integrante do Projecto «Caracterização e tipificação de vinhos portugueses por técnicas de taxonomia numérica», co-financiado pela JNICT (Cont. inv. n.º 893.86.206), coordenado por M. B. Lima (Unidade de Taxonomia Numérica, Estação Agronómica Nacional, Oeiras) com a colaboração da Estação Vitivinícola Nacional (Dois Portos), Casa do Douro (Régua) e Universidade de Évora.

Representam esses vinhos uma produção vitícola bastante distinta (sete «grandes regiões»), com uma composição analítica (fenólica e não fenólica) bastante diferenciada e heterogénea.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro I, refere-se, para cada uma das grandes regiões vitícolas estudadas, bem como para o conjunto de todas essas regiões, o número de amostras analisadas (vinhos tintos e vinhos brancos), os valores mínimo e máximo dos dois índices considerados (A280 e IFC) e o respectivo coeficiente de correlação linear.

No Quadro II, indica-se, também para cada uma dessas regiões e para o seu conjunto, os dados caracterizadores dos dois índices definidos anteriormente ( $I = A280/IFC$ ): o seu valor médio ( $\bar{I}$ ), o seu desvio padrão ( $s_I$ ) e o seu coeficiente de variação ( $cv_I = \frac{s_I}{\bar{I}} \times 100\%$ ).

Para o conjunto de todas as regiões, verifica-se que a correlação linear entre os dois índices considerados é idêntica para os casos dos vinhos tintos e brancos, sendo o coeficiente de correlação linear dos vinhos brancos superior ao dos vinhos tintos em cinco das sete regiões consideradas, o que nos leva

QUADRO I

Valores mínimo e máximo dos índices A280 e IFC.  
Coeficiente de correlação linear.

*Les plus petites et les plus grandes valeurs de A280 et IFC.  
Le coefficient de corrélation linéaire*

Regiões/Zonas Vitícolas	Tipo de vinho	Número de amostras	Valores mínimos		Valores máximos		Coef. correl. linear
			A280	IFC	A280	IFC	
Douro	tinto	44	29.2	22.2	64.7	69.8	0.9078
	branco	19	6.8	5.6	24.7	21.3	0.9828
Pinhel	tinto	9	31.1	31.6	76.4	74.4	0.9683
	branco	3	7.0	5.8	11.6	10.3	0.9736
Dão	tinto	28	42.4	41.0	78.4	68.2	0.8440
	branco	12	8.7	5.5	21.3	11.0	0.7784
Oeste	tinto	40	34.2	25.6	59.2	52.8	0.7640
	branco	37	9.9	6.2	22.8	17.1	0.8975
Ribatejo	tinto	6	40.5	36.2	50.5	52.4	0.6150
	branco	6	9.2	6.5	15.9	12.2	0.9541
Península de Setúbal	tinto	7	53.0	41.0	83.3	75.4	0.9454
	branco	4	9.8	8.8	26.5	22.0	0.9999
Alentejo	tinto	18	41.1	35.2	65.9	64.6	0.8338
	branco	6	7.5	5.8	11.7	9.3	0.7994
Conjunto de todas as Regiões	tinto	152	29.2	22.2	83.3	75.4	0.8809
	branco	87	6.8	5.5	26.5	22.0	0.8806

QUADRO II

I = A280/IFC. Médias ( $\bar{I}$ ), desvio-padrão ( $s_I$ ) e coeficientes de variação ( $CV_I$ )

I = A280/FCI. Les moyennes ( $\bar{I}$ ), les écarts-type ( $s_I$ ) et les coefficients de variation ( $CV_I$ )

Regiões/Zonas Vitícolas	Tipo de vinho	$\bar{I}$	$s_I$	$CV_I$
Douro	tinto	1.06	0.12	11.32
	branco	1.19	0.12	10.08
Pinhel	tinto	0.97	0.08	8.25
	branco	1.20	0.07	5.83
Dão	tinto	1.08	0.10	9.26
	branco	1.59	0.25	15.72
Oeste	tinto	1.20	0.14	11.67
	branco	1.52	0.15	9.87
Ribatejo	tinto	1.10	0.10	9.09
	branco	1.33	0.12	9.02
Península de Setúbal	tinto	1.13	0.11	9.73
	branco	1.16	0.05	4.31
Alentejo	tinto	1.07	0.09	8.41
	branco	1.22	0.12	9.83
Conjunto de todas as Regiões	tinto	1.10	0.13	11.82
	branco	1.39	0.22	15.83

a admitir, no mínimo, não haver razões que justifiquem o emprego do método de determinação da absorvência a 280 nm para a avaliação do teor de polifenóis totais em vinhos tintos e que desaconselhem o seu emprego no caso dos vinhos brancos. É este facto tanto mais de salientar quanto mais o objectivo pretendido nessa avaliação for a caracterização dos vinhos envolvendo uma acentuada heterogeneidade das amostras (em número estatisticamente significativo), e considerando que ambas as determinações são de natureza convencional, conforme a bibliografia largamente o refere.

Uma análise dos resultados apresentados no Quadro II mostra-nos que, sobretudo nos casos dos vinhos brancos, o coeficiente de variação de  $I = A_{280}/IFC$  aumenta significativamente se se considerar o conjunto de todas as regiões, donde se infere dever existir uma importante influência da região (isto é, da composição base dos seus vinhos, designadamente da sua constituição fenólica) nos valores dos quocientes  $I = A_{280}/IFC$ , o que facilmente se admite se se considerar os diferentes princípios dos dois métodos, sujeitos a interferências de índole diversa.

Conforme a bibliografia refere (Ribéreau-Gayon, 1970; Gigliotti, 1973; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982; Ricardo-da-Silva *et al.*, 1987), verifica-se que os índices  $A_{280}$  são em geral superiores ao IFC, embora se tenham verificado excepções pontuais; esta tendência é muito mais sensível no caso dos vinhos brancos, conforme se poderá verificar pela análise dos dados do Quadro II.

Comparativamente com os dados encontrados por Gigliotti (1973), para o caso de vinhos tintos, encontrámos valores médios do quociente  $I$  mais baixos e desvios-padrão ( $s_1$ ) ligeiramente mais elevados, para cada uma das regiões e para o seu conjunto, o que poderá ser devido aos diferenciados esquemas de amostragem: no nosso caso, todo o trabalho assentou numa elevada heterogeneidade das amostras colhidas.

## CONCLUSÕES

Quer para o caso dos vinhos tintos quer para o caso dos vinhos brancos, os índices, representativos dos polifenóis totais, baseados na determinação da absorvência a 280 nm e no método de Folin-Ciocalteu poderão ser empregues, sobretudo quando se pretender efectuar uma caracterização dos vinhos sob este ponto

de vista, envolvendo um elevado número de amostras, com uma acentuada heterogeneidade, não perdendo nunca em atenção o facto de se tratar de dois índices convencionais, constituindo diferentes aproximações a uma determinação muito objectiva (os polifenóis constituintes da amostra), e sujeitos a interferências de origem diferenciada.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos reconhecidamente as disponibilidades concedidas pela equipa do Projecto «Caracterização e tipificação de vinhos portugueses por técnicas de taxonomia numérica», em especial pelo seu Coordenador, Doutor M. Bravo Lima.

#### RÉSUMÉ

##### **Les méthodes pour la détermination des polyphénols totaux dans des vins rouges et blancs**

On a employé deux méthodes pour la détermination des polyphénols totaux dans les vins (la méthode de Folin-Ciocalteu et l'absorbance à 280 nm) à 152 échantillons de vins rouges et 87 échantillons de vins blancs, en représentant la production de 1986 de plusieurs régions viticoles portugaises. On a conclu que les deux méthodes pourront représenter la composition phénolique des vins, blancs ou rouges, surtout lorsque la population à caractériser concerne une très grande hétérogénéité.

#### SUMMARY

##### **The methods for the determination of the total polyphenol content in red and white wines**

The total phenolics evaluation in 152 red wines and 87 white wines, representative portuguese wines of the 1986 production, it is carried out by using the Folin-Ciocalteu's method and by measuring the absorbance at 280 nm. The two methods are applied, with good results, specially when the studied population is very heterogeneous, for their phenolic composition characterization

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blouin, J.; L. Llorca; F. R. Montreau e J. H. Dufour  
1972 Étude des conditions optimales pour la détermination des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *Conn. Vigne Vin*, 6 (4): 405-413.

- Brun, S.  
1979 Détermination des composés phénoliques totaux par le reactif de Folin-Ciocalteu (d'après Blouin, Llorca, Montreau, Dufour et Mazot) FV 681, OIV.
- Castino, M.  
1979 Sulla valutazione dei polifenoli totali nei vini rossi. *Riv. Vit. Enol.*, **32** (10): 404-413.
- Canbas, A.  
1971 *Les facteurs de dissolution des composés phénoliques au cours de la vinification*. Thèse Doct. Univ. Bordeaux.
- Curvelo-Garcia, A. S.  
1988 *Controlo de Qualidade dos Vinhos. Química Enológica. Métodos Analíticos*. Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa.
- Gigliotti, A.  
1973 La determinazione dei composti polifenolici nei vini rossi. *Riv. Vit. Enol.*, **26** (5): 183-193.
- Glories, Y.  
1978 *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse d'État. Univ. Bordeaux II.
- Mazot, L.  
1974 Rapport de Stage d'Oenologie. Lab. Union Caves Coopératives d'Aquitaine.
- OIV  
1981 C. R. de XVII<sup>e</sup> Cong. Int. Vigne Vin, *Bull. OIV*, **54** (599): 83.  
**54** (599): 83-
- Ribéreau-Gayon, P.  
1970 Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal.*, **52** (6): 627-631.
- Ribéreau-Gayon, J.; E. Peynaud; P. Sudraud e P. Ribéreau-Gayon  
1982 *Sciences et Techniques du Vin. Tome I*. Dunod. Paris.
- Ricardo-da-Silva; J. M.; M. I. Spranger-Garcia e A. S. Curvelo-Garcia  
1987 Contribuição para o estudo dos métodos de determinação dos polifenóis totais em vinhos tintos. *Ciência Téc. Vitiv.*, **6** (1): 29-44.
- Somers, T. C. e M. E. Evans  
1977 Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, «Chemical age». *J. Sci. Fd. Agric.*, **28**: 279-287.