

## CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DOS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DOS POLIFENÓIS TOTAIS EM VINHOS TINTOS

J. M. RICARDO-DA-SILVA <sup>(1)</sup>, M. I. SPRANGER-GARCIA  
e A. S. CURVELO-GARCIA

Estação Vitivinícola Nacional. Dois Portos Portugal

### RESUMO

Procedeu-se a um estudo comparativo dos métodos actualmente mais recomendados para a determinação dos polifenóis totais em vinhos tintos, visando sobretudo contribuir para o aumento do conhecimento científico que permita melhor compreender o significado técnico-analítico desta determinação. Estudou-se, em particular, os métodos de determinação do índice de Folin-Ciocalteu e da absorvência a 280 nm — sua relação com a composição fenólica da amostra, sua dependência de eventuais interferentes, optimização do seu modo operatório, sua relação com os índices de cor dos vinhos tintos.

### INTRODUÇÃO

Vários métodos de doseamento dos compostos fenólicos totais em vinhos têm sido utilizados. Tendo em conta a diversidade das estruturas, ainda mal definidas, estes métodos são imperfeitos, sendo o seu defeito maior a falta de especificidade (Bourzeix, 1976); no entanto, são muitas vezes suficientes para dar uma ordem de grandeza da quantidade de moléculas fenólicas presentes no meio (Glories, 1978). Claro que a avaliação dos compostos fenólicos totais não só é uma medida convencional, como também depende do procedimento usado, o qual pode originar conclusões um tanto diversas e resultados nem sempre comparáveis (Glories, 1978; Castino, 1979).

---

(<sup>1</sup>) Endereço actual: Instituto Superior de Agronomia — Laboratório Ferreira Lapa. Tapada da Ajuda, 1399 Lisboa Codex.

Hoje, os métodos mais frequentemente usados na determinação dos polifenóis totais em vinhos são: índice de Folin-Ciocalteu e medida da absorvência a 280 nm. Seja qual for o método aplicado, existem sempre erros apreciáveis nas determinações devido à interferência de determinadas substâncias.

No que diz respeito ao índice de Folin-Ciocalteu, poderá ser importante a acção interferente de constituintes não fenólicos, sobretudo nos casos de baixos teores de polifenóis totais (Somers e Evans, 1977; Somers e Ziemelis, 1980; Moutounet, 1981). Singleton e Rossi (1965) referem o ácido ascórbico, o ião bissulfito, os açúcares redutores e o ião ferroso como redutores do reagente de Folin-Ciocalteu. Myers e Singleton (1979) indicam também a eventual acção interferente dos ácidos nucleicos e dos aminoácidos, demonstrando ainda a intervenção dos complexos tanino-proteicos e das combinações sulfidril-cinamatos. As protetinas (Pesez e Poirier, 1954) e as redutonas (Cornwell e Wrolstad, 1981) poderão também reduzir o reagente de Folin-Ciocalteu. O ácido salicílico, usado frequentemente no decurso de experimentações enológicas, poderá igualmente originar importantes erros por excesso, conforme se demonstra num ensaio recentemente realizado por um de nós (Ricardo-da-Silva *et al.*, 1986). No que se refere à influência do ião bissulfito, poderá esta ser atenuada ou mesmo eliminada, com a adição de uma quantidade de etanal capaz de combinar todo o dióxido de enxofre livre (Somers e Ziemelis, 1980; Heroui *et al.*, 1984).

Relativamente à medida da absorvência a 280 nm, sabe-se que a absorção neste comprimento de onda, específica dos compostos contendo núcleos benzénicos, é independente das características do espectrofotómetro (Ribéreau-Gayon, 1970; Gigliotti, 1973) e, dada a grande diluição a que se recorre nesta determinação, é negligenciável a interferência devida ao etanol e aos ácidos orgânicos; o teor em dióxido de enxofre e o pH não influenciam significativamente os resultados (Puisais *et al.*, 1968).

Somers e Evans (1977), Glories (1978) e Castino (1979) referem a existência de uma estreita relação entre a medida da absorvência a 280 nm e a determinação do índice de Folin-Ciocalteu em vinhos tintos. Gigliotti (1973) diz mesmo que a precisão dos resultados dada pelo método da absorvência a 280 nm é da mesma ordem de grandeza que a do método de

Folin-Ciocalteu. Castino (1979) recomenda o método de Folin-Ciocalteu, mais específico da função fenol, embora mais sujeito à acção de interferentes (sobretudo, substâncias azotadas), que reagem de igual modo com o reagente de Folin-Ciocalteu, enquanto que apresentam uma diferente absorvência a 280 nm; também Ribéreau-Gayon (1970) e Ribéreau-Gayon *et al.* (1982) se referem explicitamente à maior especificidade e à melhor reprodutibilidade do método de Folin-Ciocalteu.

Montreau (1972), estudando a influência da temperatura na reacção dos polifenóis com o reagente de Folin-Ciocalteu, concluiu que as condições óptimas de análise se atingem a 60° C (durante 18 a 20 min) ou, de preferência, a 70° C (durante 10 a 12 min). A leitura da absorvência deverá realizar-se a um comprimento de onda situado entre 750 e 760 nm (Blouin *et al.*, 1972), recomendando estes autores um aquecimento a 70-80° C durante 20 a 30 min, para permitir uma reacção intensa, rápida e estável, bem como uma concentração do reagente de Folin-Ciocalteu, suficientemente fresco, de 5%, e uma concentração de 3 a 4% de carbonato de sódio no meio reacional.

Neste trabalho, pretendeu-se realizar um estudo comparativo e pormenorizado dos métodos actualmente mais recomendados para a determinação dos polifenóis totais em vinhos tintos, a fim de melhor compreender o significado técnico-analítico desta determinação, contribuindo para o aumento do conhecimento científico que nos levará a melhor entender resultados, não coerentes e por vezes contraditórios, encontrados na aplicação dos diversos métodos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Vinhos*

Os vinhos usados neste estudo estão indicados no Quadro I.

### *Métodos analíticos*

*Teor alcoólico em volume* — ebulliometria (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

*Acidez total* — método usual do OIV (Anónimo, 1978).

*Acidez volátil* — método de Cazenave-Férré (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

QUADRO I

Amostras de vinho

*Echantillons de vin*

Amostra	Origem	Ano	Castas	Observações
1	Dois Portos	1985	João Santarém, Camarate, Caignan Noir e Alicante tinto	- Obtido de massas vinárias desengaçadas. - Maceração: 120 h. - Obtido da mistura dos vinhos de gota e de prensa.
2	Dois Portos	1986	Camarate	- Obtido de massas vinárias não muito sãs, desengaçadas. - Maceração: 20 h. - Obtido unicamente do mosto de gota.
3	Redondo	1986	Cabernet-Sauvignon	- Obtido de massas vinárias não muito sãs, desengaçadas. - Maceração: 8 dias. - Obtido da mistura dos vinhos de gota e de prensa.
4	Redondo	1986	Cabernet-Sauvignon	- Idêntico ao anterior mas com massas vinárias não desengaçadas.
5	Redondo	1986	Piriquita, Trincadeira, Mureto e Aragonês	- Obtido de massas vinárias não muito sãs, desengaçadas. - Maceração: 72 h. - Obtido unicamente do mosto de prensa.
6	Arruda	1958		- Vinhos obtidos de massas vinárias, desengaçadas, vinificadas com curtimenta completa, estagiados em vasilhame de madeira e posteriormente engarrafados.
7	Mealhada	1966		
8	Dão	1974		
9	Carvoeira	1979		

*pH* — potenciometria, método único do OIV (Anónimo, 1978).

*Extracto seco total* — densimetria (Anónimo, 1978).

*Pesquisa da fermentação malo-láctica* — cromatografia em papel (Ribéreau-Gayon, 1954).

(*Fe II + Fe III*) e *Fe III* — método do tiocianato (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

*Dióxido de enxofre* (livre, combinado e total) — método de Paul (Anónimo, 1978).

*Açúcares redutores* — método de Munson e Walker (Anónimo, 1978).

*Azoto total* — método de Kjeldahl (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

*Azoto amoniacal* — separação sobre resina de troca iónica, método único do OIV (Anónimo, 1978).

*Azoto aminado* — método de Sörensen (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

*Proteínas* — cálculo a partir dos teores em azoto total, amoniacal e aminado, e admitindo que o seu teor é, em peso, 6,25 vezes o teor de azoto proteico.

*Índice de Folin-Ciocalteu:*

- A) Método clássico, descrito por Ribéreau-Gayon (1970).
- B) Método clássico, descrito por Ribéreau-Gayon (1970), com prévia adição do etanal estritamente necessário para combinar o SO<sub>2</sub> livre (durante 30 min).
- C) Método proposto por Blouin *et al.* (1972) (aquecimento a 70° C durante 20 min; leituras espectrofotométricas a 750 nm).
- D) Método proposto por Montreau (1972), modificado por Brun (1979) (aquecimento a 70° C durante 10 min; leituras espectrofotométricas a 750 nm).

*Absorvência a 280 nm* — segundo Ribéreau-Gayon (1970)

*Antocianas totais* — método de descoloração pelo bissulfito de sódio (Ribéreau-Gayon e Stonestreet, 1965).

*Taninos* — método de Ribéreau-Gayon e Stonestreet (1966).

*Catequinas* — método de Pompei e Peri (1971).

*Avaliação qualitativa da matéria corante* (percentagem de formas monômeras e polimerizadas) — método de Bourzeix e Heredia (1985).

*Características cromáticas* (intensidade e tonalidade de cor) — métodos de Sudraud (1958) e Glories (1984b).

*Índice de cor* — método de Roubert (1977).

*Adstringência* (índice de gelatina e taninos precipitados pela gelatina) — método de Glories (1982).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos Quadros II, III e IV são apresentados os resultados obtidos com as 9 amostras de vinho ensaiadas.

*O índice de Folin-Ciocalteu e a determinação da absorvência a 280 nm — relação com eventuais interferentes e com a composição fenólica da amostra*

Verifica-se a existência de uma aceitável correspondência entre os valores do índice de Folin-Ciocalteu e da absorvência a 280 nm: o coeficiente de correlação é de 0,99 (se se recorrer ao método clássico para a determinação do índice de Folin-Ciocalteu) e de 0,96 [para o caso do método modificado segundo Montreau (1972) e Brun (1979)] (método D). Por outro lado, os índices determinados pela absorvência a 280 nm são sempre superiores, conforme já diversos autores o verificaram (Ribéreau-Gayon, 1970; Gigliotti, 1973; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

Por outro lado ainda, qualquer um dos índices responde de forma satisfatória às características da composição fenólica das amostras tendo em consideração a sua natureza (Quadros I e III).

Continuando a comparar os diferentes resultados obtidos, verifica-se que o teor de polifenóis totais parece ser sobretudo determinado pelos teores em taninos e catequinas, conforme Ribéreau-Gayon (1970) e Glories (1984a), entre diversos outros autores, o assinalam. O teor em antocianinas contribuirá assim para o índice de polifenóis totais de uma forma relativamente pouco importante; já o mesmo não se passa com a sua contri-

QUADRO II  
 Polifenóis totais  
*Polyphenols totaux*

Amostras	Índice de Folin-Ciocalteu				Absorvência a 280 nm ( $\times 100$ )
	Mét. clássico (Ribéreau- Gayon, 1970)	Mét. clássico com adição de etanal	Modificado segundo Blouin <i>et al.</i> , 1972	Modificado segundo Mon- treau (1972) e Brun (1979)	
	A	B	C	D	
1	39.6	36.3	37.6	44.9	46.7
2	16.6	15.2	15.3	18.8	20.5
3	49.3	51.4	46.3	52.6	54.1
4	58.4	60.2	50.7	59.9	58.8
5	76.7	70.5	68.3	70.2	84.2
6	38.4	37.6	34.7	44.4	47.7
7	49.2	45.8	46.1	54.4	56.0
8	41.3	40.7	41.0	49.7	46.5
9	35.2	36.0	30.5	39.5	43.0

buição para a intensidade de cor no caso de vinhos novos (relativamente ricos em antocianas), o que estará de acordo com o que é sabido sobre a sua evolução e com os princípios da determinação da intensidade de cor.

Comparando mais atentamente os valores dos dois índices estudados, verifica-se a existência de algumas discrepâncias. Assim, o teor de polifenóis totais dado pelo índice de Folin-Ciocalteu parece estar sobrevalorizado (relativamente à absorvência a 280 nm) no caso da amostra 8, o que poderá ser devido ao facto de esta amostra conter relativamente elevados teores de  $Fe^{2+}$  e de azoto aminado, redutores do reagente de Folin-Ciocalteu, se bem que a fracção do azoto aminado possa também aumentar a absorvência a 280 nm (Castino, 1979).

As amostras 1 e 6 apresentam índices de polifenóis totais relativamente próximos; contudo, a amostra 1 parece apresentar também um índice de Folin-Ciocalteu sobrevalorizado, o que poderá ser explicado pela acção de potenciais interferentes (açúcares redutores,  $SO_2$  livre e combinado,  $Fe^{2+}$ , azoto aminado, azoto proteico).

Comparando os resultados obtidos com o método clássico para determinação do índice de Folin-Ciocalteu, com e sem prévia

QUADRO III

A composição fenólica

*La composition phénolique*

Amostras	Intensidade de cor			Índice de cor (Roubert, 1977)	Antocianinas (mg/dm <sup>3</sup> de cloreto de 3,5-digluco- sido da malvidina)	Taninos (g/dm <sup>3</sup> de pro- cianidina da uva)	Catequinas (g/dm <sup>3</sup> de (+)-cate- quina)	Avaliação da matéria corante			Adstringência (g/dm <sup>3</sup> )	
	A <sub>420</sub> + A <sub>520</sub>	A <sub>420</sub> + A <sub>520</sub> + A <sub>620</sub>	Tona- lidade de cor					0/0 monó- meros	0/0 poli- meros verme- lhos	0/0 poli- meros castanhos e amarelos		Índice de gelatina
1	5.62	6.22	0.79	38	208,6	3,06	1,40	32	43	25	47,9	1,15
2	1.98	2.10	0.78	11	76,6	0,78	0,17	46	38	16	50,8	0,31
3	16.46	18.17	0.46	88	563,7	3,60	2,00	46	33	21	69,4	2,04
4	13.35	15.60	0.58	103	305,2	4,25	2,28	38	29	33	57,5	2,27
5	10.45	12.01	0.59	92	341,8	5,54	4,08	52	24	24	50,4	2,74
6	7.64	8.55	1.30	76	16,0	3,33	0,41	5	37	58	66,2	2,15
7	7.99	8.93	1.23	73	30,0	3,78	0,60	8	24	68	66,6	2,67
8	5.65	6.28	1.18	49	20,0	3,68	0,53	9	32	59	57,2	2,06
9	7.22	8.10	0.94	61	30,7	2,99	0,46	10	36	54	63,2	1,70



#### QUADRO IV

Análises gerais (incluindo as de potenciais interferentes)  
*Analyses générales (inclus celles des potentielles interférents)*

Amostras	Teor alcoólico em volume (‰ V/V)	Açúcares		pH	SO <sub>2</sub> (mg/dm <sup>3</sup> )		Pesquisa da F. M. L.	Ferro (mg/dm <sup>3</sup> )		Azoto						
		Açúcares reductores (g/dm <sup>3</sup> )	Total (g/dm <sup>3</sup> )		Volátil ácido tart.)	Volátil ácido acét.)		Libre	Total	Extrato seco total (g/dm <sup>3</sup> )	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Total	Amoniacal (mg/dm <sup>3</sup> )	Aminado (mg/dm <sup>3</sup> )	Proteínas (mg/dm <sup>3</sup> )
1	12,0	3,55	6,16	0,50	3,53	13	82	28,1	Não feita	10	2	12	245,0	11,9	56,3	1105,0
2	11,6	6,60	8,75	0,54	3,05	8	185	34,9	Não feita	0,8	2,2	3	74,7	4,6	8,0	388,1
3	11,9	2,10	6,95	0,41	3,37	3	36	26,6	Não feita	0	0	0	217,0	4,8	51,9	1001,8
4	11,1	2,20	5,62	0,57	3,71	3	8	25,0	Feita	0	0	0	190,0	5,4	45,0	910,0
5	11,7	3,16	5,55	0,64	3,76	10	89	33,1	Feita	4	0,5	4,5	336,0	17,3	71,3	1546,3
6	13,0	3,24	4,26	0,73	3,61	5	56	21,6	Feita	5	2,5	7,5	182,0	8,5	41,9	822,5
7	14,3	3,92	5,06	0,59	3,44	5	15	27,1	Feita	7,5	1,5	9	182,0	5,4	36,6	875,0
8	12,1	2,20	5,31	0,71	3,39	7	52	21,9	Feita	11	1	12	196,0	8,8	54,2	831,3
9	11,9	1,88	5,23	1,08	3,34	3	8	21,9	Feita	4	1,5	5,5	182,0	8,5	44,0	809,4

adição do etanal necessário para combinar o SO<sub>2</sub> livre existente (métodos A e B), verifica-se que essa adição vem originar uma diminuição do valor do índice, excepto para as amostras com muito pequenos teores de SO<sub>2</sub> livre, confirmando-se assim a influência da fracção livre do ácido sulfuroso como redutor do reagente de Folin-Ciocalteu (Somers e Ziemelis, 1980; Heroui *et al.*, 1984). Os valores encontrados para as amostras com muito pequenos teores de SO<sub>2</sub> livre poderão ser explicados quer por erros aleatórios inerentes ao método, quer pela eventual descombinação do SO<sub>2</sub> ligado a polifenóis, determinada por um eventual pequeno excesso de etanal.

Finalmente, e de uma forma geral, analisando o conjunto de resultados obtidos, parece-nos que a fracção de matéria corante muito polimerizada (polímeros castanhos e amarelos) deverá absorver fortemente no UV e estar menos apta a reduzir o reagente de Folin-Ciocalteu, apresentando por isso um papel fundamental no valor do índice de polifenóis totais dado pela absorvência a 280 nm, facto que contudo necessitará de confirmação.

#### *Os vários modos operatórios para a determinação do índice de Folin-Ciocalteu*

Verifica-se que os valores obtidos por recurso ao método clássico (Ribéreau-Gayon, 1970) são superiores aos obtidos pelo método proposto por Blouin *et al.* (1972) (com determinação espectrofotométrica a 750 nm), pelo que se conclui que a modificação introduzida (aquecimento a 70° C durante 20 min e leitura a 750 nm) não veio beneficiar a intensificação e manutenção da cor azul produzida na reacção.

Verifica-se por outro lado que os valores obtidos por recurso a um aquecimento a 70° C durante 10 min (Montreau, 1972) e com leituras espectrofotométricas a 750 nm, conduz a um significativo aumento relativamente ao método clássico, indicativo de uma maior intensidade da cor azul desenvolvida; a única excepção encontrada foi na amostra 5, o que poderá ser explicável pelo facto desta amostra ser bastante rica em proteínas, reduzindo de forma apreciável o reagente de Folin-Ciocalteu (Pesez e Poirier, 1954), proteínas essas que serão significativamente degradadas com o aquecimento a 70° C, perdendo assim esse

referido poder redutor. A confirmar-se esta hipótese, será uma razão suplementar a favor da alteração proposta ao método clássico.

*O índice de Folin-Ciocalteu — estabilidade da cor azul desenvolvida na reacção*

No Quadro V, indica-se os resultados obtidos para o índice de Folin-Ciocalteu ao longo do tempo, para as diversas amostras ensaiadas e por recurso a dois modos operatórios distintos e anteriormente referidos (métodos A e B).

QUADRO V

A estabilidade da cor azul

*La stabilité de la couleur bleu*

A. ÍNDICE DE FOLIN-CIOCALTEU CLÁSSICO (700 nm)					D. ÍNDICE DE FOLIN-CIOCALTEU MODIFICADO (70° C de aquecimento durante 10 min; 750 nm)				
Amostra	Tempo (h)				Amostra	Tempo (h)			
	0	1	2	3		0	1	2	3
1	41,1	42,1	42,4	42,4	1	44,9	44,8	44,1	43,9
2	16,3	16,4	16,8	16,2	2	18,8	18,7	18,4	18,1
3	51,6	53,2	53,4	53,9	3	52,6	52,4	52,0	51,7
4	59,3	61,2	61,4	61,9	4	59,9	59,8	59,6	58,9
5	84,1	86,7	86,7	87,2	5	70,2	69,9	69,1	68,5
6	38,9	40,1	40,1	40,4	6	44,4	44,3	44,1	43,8
7	52,3	54,2	54,4	54,8	7	54,4	54,4	53,6	53,6
8	42,5	44,2	44,5	44,2	8	49,7	49,7	48,9	48,8
9	35,3	36,4	36,7	36,9	9	39,5	39,7	39,0	38,9

NOTA — 0 horas em A corresponde a 30 min de reacção; em D corresponde ao fim do arrefecimento sobre corrente de água fria.

Verifica-se que a estabilidade da cor azul desenvolvida na reacção, no método clássico (A), se atinge passado mais de 1 h, observando-se ainda, ao fim de 3 h, um ligeiro incremento da sua intensidade, conforme os resultados de Montreau (1972), enquanto que no processo D (aquecimento a 70° C durante

10 min) se atinge quase de imediato um máximo dessa intensidade, observando-se um ligeiro decréscimo durante o tempo subsequente.

*A determinação de índices de cor de vinhos tintos em relação com os índices de polifenóis totais*

Indica-se, no Quadro VI, os coeficientes de correlação observados, para os 9 vinhos ensaiados, entre diversos métodos de determinação de índices de polifenóis totais e de cor de vinhos tintos. É de salientar que os valores apresentados são apenas

QUADRO VI

Correlação observada entre os índices de polifenóis totais e os índices de cor de vinhos tintos

*Corrélation observée entre les indices de polyphénols totaux et les indices de couleur de vins rouges*

Índice de polifenóis totais (I)	Índice de cor (II)	Coefficiente de correlação (I/II)
Índice de Folin-Ciocalteu (mét. clássico) [A]	Intensidade de cor ( $A_{420} + A_{520}$ )	0.67
	Intensidade de cor ( $A_{420} + A_{520} + A_{620}$ )	0.69
	Intensidade de cor (segundo Roubert, 1977)	0.84
Índice de Folin-Ciocalteu modificado [D]	Intensidade de cor ( $A_{420} + A_{520}$ )	0.68
	Intensidade de cor ( $A_{420} + A_{520} + A_{620}$ )	0.70
	Intensidade de cor (segundo Roubert, 1977)	0.85
Absorvência a 280 nm	Intensidade de cor ( $A_{420} + A_{520}$ )	0.62
	Intensidade de cor ( $A_{420} + A_{520} + A_{620}$ )	0.64
	Intensidade de cor (segundo Roubert, 1977)	0.81

indicativos, tendo em consideração o reduzido número de amostras, se bem que representativas de vinhos abrangendo um largo espectro de características quanto à sua constituição fenólica.

O índice de Roubert (1977), parece ser a determinação de cor que mais se aproxima do teor de polifenóis totais. Por outro lado, a adição da absorvência a 620 nm às referentes a 420 nm e 520 nm parecem aproximar a intensidade de cor ao índice de polifenóis totais, se bem que de uma forma pouco significativa, aspecto que terá sobretudo importância, segundo os dados da bibliografia, no caso de vinhos novos com elevados valores de pH.

Será contudo de referir que a determinação da cor apenas traduz uma fracção do conjunto dos polifenóis, ou melhor, apenas reflecte uma sua característica, profundamente dependente da sua natureza, pelo que, só em grosseira aproximação, se poderá associar um índice de cor à informação dada por um índice de polifenóis totais.

### CONCLUSÕES

Verifica-se existir uma boa correlação entre os dados obtidos pelo método de Folin-Ciocalteu e pela determinação da absorvência a 280 nm, para exprimir o teor em polifenóis totais dos vinhos tintos, tendo-se observado uma boa significância de quaisquer dos índices para traduzir a respectiva composição fenólica; no método de Folin-Ciocalteu, confirmou-se a possibilidade de uma significativa interferência de  $Fe^{2+}$  e da fracção azotada (azoto aminado e azoto proteico) e ainda do dióxido de enxofre (livre) e dos açúcares redutores.

Qualquer dos índices de polifenóis totais ensaiados são profundamente determinados pelos teores de taninos e de catequinas.

No que se refere à optimização do modo operatório para a determinação do índice de Folin-Ciocalteu, conclui-se que se deverá realizar a reacção com aquecimento a 70° C durante 10 min, por forma a estabilizar mais rapidamente a intensidade da cor desenvolvida. Uma prévia adição de etanal (na quantidade estritamente necessária para combinar o dióxido de enxofre livre, eventualmente interferente) parece conduzir a resultados mais correctos, sobretudo nos casos em que o teor de  $SO_2$  livre é relativamente importante.

Entre os processos de determinação de cor de vinhos tintos, o método de Roubert (1977) parece ser o que melhor poderá reproduzir a sua constituição fenólica, se bem que de uma forma algo grosseira.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos reconhecidamente a colaboração prestada pelo Sr. Eng.º F. Colaço do Rosário (Univ. Évora), pelo Sr. Eng.º Téc. Agr. Jorge Santos (Adega Cooperativa do Redondo) e pelo Serviço de Análises do Departamento de Enologia da Estação Vitivinícola Nacional.

#### RÉSUMÉ

##### **Contribution pour l'étude des méthodes de détermination des polyphénols totaux dans des vins rouges**

Nous avons procédé à une étude comparative des méthodes actuellement les plus recommandables pour la détermination des polyphénols totaux dans des vins rouges, ayant comme but surtout contribuer à l'augmentation de la connaissance scientifique qui permet de mieux comprendre la signification technique — analytique de cette détermination. Nous avons étudié en particulier, les méthodes de détermination de l'indice de Folin-Ciocalteu et de l'absorbance à 280 nm — sa relation avec la composition phénolique de l'échantillon, sa dépendance avec les éventuelles interférentes, l'optimisation de son mode opératoire, sa relation avec les indices de couleur des vins rouges.

#### SUMMARY

##### **Study of the methods for the determination of the total polyphenol content in red wines**

This paper is a contribution for a better understanding of the technical and analytical meanings of the determination of the total polyphenol content in red wines.

A comparison of the following methods is made: Folin-Ciocalteu and the absorption at 280 nm wavelength. Their connexion with the phenol content in the sample, with the colour indexes of red wines, and their dependence on interferent substances, were discussed. An optimization of the analytical procedure of the methods is also made.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anónimo  
1978 Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse des Vins, OIV, Paris.
- 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): 405-413.3
- Bourzeix, M.  
1976 *Les composés phénoliques du raisin et du vin*. Leurs transformations au cours de l'élaboration des vins et leurs effets sur la qualité, 56e Assemblée Générale de l'OIV, Ljubljana (Yougoslavia) 30 août-4 septembre.
- Baurzeix, M. e N. Heredia  
1985 Estimation qualitative de la matière colorante du vin rouge. *FV 796*. OIV, Paris.
- Brun, S.  
1979 Détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu (d'après Blouin, Llorca, Montreau, Dufour et Mazot). *FV 681*, OIV, Paris.
- Castino, M.  
1979 Sulla valutazione dei polifenolici totali nei vini rossi. *Riv. Vitic. Enol.*, 32 (10): 404-413.
- Cornwell, C. e R. Wrolstad  
1981 Causes of browning of pear juice concentrate during storage. *J. Food Sci.*, 26 (2): 515-518.
- Gigliotti, A.  
1973 La determinazione dei composti polifenolici totali nei vini rossi. *Riv. Vitic. Enol.* 26 (5): 183-193.
- Glories, Y.  
1978 *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse d'Etat. Univ. Bordeaux II.  
1982 Reactions protéines-tanins; le problème de l'astringence des vins rouges. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols*, 11, Toulouse: 577-582.  
1984a La couleur des vins rouges. I—Les équilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. Vigne Vin*, 18 (3): 195-217.  
1984b La couleur des vins rouges. II—Mesure, origine et interprétation. *Conn. Vigne Vin*, 18 (4): 253-271.
- Heroui, E., T. Popescu e E. Vartolas  
1984 L'influence de l'anhydride sulfureux sur le dosage des composés phénoliques totaux dans les moûts et les vins par la méthode Folin-Ciocalteu. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols*, 12, Plovdiv: 554-555.
- Montreau, F. R.  
1972 Sur le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins par la méthode Folin-Ciocalteu. *Conn. Vigne Vin*, 6 (4): 397-404.

- Moutounet, M.  
1981 Dosages des polyphénols des moûts de raisin. *Conn. Vigne Vin*, **15** (4): 287-301.
- Myers, T. E. e V. L. Singleton  
1979 The nonflavonoid phenolic fraction of wine and its analysis. *Am. J. Enol. Vitic.*, **30** (2): 98-102.
- Pesez, M. e P. Poirier  
1954 *Méthodes et réactions de l'analyse organique III. Réactions colorées et fluorescences*. Masson et Cie, éd., Paris.
- Pompei, C. e C. Peri  
1971 Determination of catechins in wines. *Vitis*, **9**: 312-316.
- Puisais, J., A. Guiller, J. Lacoste e P. Huteau  
1968 Dosage spectrophotométrique des tanins. *Ann. Technol. Agric.*, **17** (4): 277-285.
- Ribéreau-Gayon, J., E. Peynaud, P. Sudraud e P. Ribéreau-Gayon  
1982 *Sciences et Techniques du Vin*. Tome I, Dunod, Paris.
- Ribéreau-Gayon, P.  
1954 Evolution de l'acide malique des vins par chromatographie sur papier. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **47** (541-542): 3.  
1970 Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal.*, **52** (6): 627-631.
- Ribéreau-Gayon, P. e E. Stonestreet  
1965 Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, **9**: 2649-2652.  
1966 Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chim. Anal.* **48** (4): 188-196.
- Ricardo-da-Silva, J. M., M. Bourzeix, J. P. Cathala, N. Heredia e J. M. Herail  
1986 Erros das determinações relativas aos compostos fenólicos, aos taninos e à cor dum mosto, provocados pelo ácido salicílico utilizado como conservante. *Ciência Téc. Vitiv.*, **5** (1): 13-24.
- Singleton, V. L. e J. A. Rossi  
1965 Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic.*, **16** (3): 144-158.
- 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.
- Somers, T. C. e G. Ziemelis  
1980 Gross Interference by sulphur dioxide in standard determinations of wine phenolics. *J. Sci. Fd. Agric.*, **31**: 600-610.
- Sudraud, P.  
1958 Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges. *Ann. Technol. Agric.*, **7**: 203-208.