

AVANÇOS RECENTES NO CONTROLO ANALÍTICO DOS VINHOS FACE ÀS EXIGÊNCIAS DO SEU CONSUMO

A. S. CURVELO-GARCIA

Estação Vitivinícola Nacional. Dois Portos, 2575 RUNA

RESUMO

Durante os últimos anos, têm significativamente aumentado as exigências dos laboratórios com responsabilidades no controlo analítico dos vinhos, reflexo aliás do que se passa no âmbito da generalidade dos bens alimentares. Essas exigências envolvem, cada vez mais, um maior número de parâmetros analíticos, impõem crescentes limitações a esses parâmetros e alargam esse controlo analítico a um cada vez maior número de situações. São, por sua vez, determinadas pelas também crescentes exigências de qualidade dos bens alimentares.

Nesta comunicação, é apresentada uma visão de conjunto de como a Ciência enológica, e em particular a Química Analítica aplicada à Enologia, tem, pelo seu desenvolvimento, sabido dar uma eficaz resposta às novas solicitações criadas, contribuindo assim para uma muito significativa elevação da qualidade dos vinhos; são sobretudo aprofundados e discutidos domínios onde o Departamento de Enologia da EVN tem ultimamente desenvolvido trabalho, em colaboração com outros centros de investigação, nacionais e estrangeiros.

Os temas discutidos são:

- Automatização da análise de vinhos em laboratórios de controlo de qualidade; informatização dos laboratórios.
- As técnicas de SNIF/NMR e a determinação da relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ aplicadas à caracterização da genuinidade dos mostos e vinhos.
- Doseamento do carbamato de etilo em vinhos e aguardentes.
- Os métodos instrumentais no doseamento de espécies químicas vestigiárias em vinhos.
- Caracterização analítica de vinhos rosados.

INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos, têm significativamente aumentado as exigências dos laboratórios com responsabilidades no controlo analítico dos vinhos, reflexo aliás do que se passa no âmbito da generalidade dos bens alimentares; envolvem essas exigências, e cada vez mais, um maior número de parâmetros analíticos, crescentes limitações aos diversos parâmetros envolvidos, alargamento do controlo analítico a um cada vez maior número de situações.

Parece incontroverso que poderá esse crescente aumento de exigências dificultar uma livre circulação dos bens (neste caso, dos vinhos), entre os diferentes mercados, ajudando à criação de novas barreiras alfandegárias entre os Estados. Não se poderá, contudo, circunscrever esses avanços — porque, de facto, de avanços qualitativos se trata — a estes aspectos. As bases fundamentais em que, de uma forma geral, assenta esse regular e crescente aumento de exigências são constituídas pelas também crescentes exigências da qualidade dos bens alimentares, aspecto em que as felizmente já poderosas organizações de consumidores têm assumido um importante e decisivo papel.

Essas crescentes exigências têm obtido uma resposta assinalável por parte da Ciência enológica, em especial por parte da Química analítica aplicada aos problemas que lhe têm sido colocados.

É uma visão de conjunto destes aspectos que se pretende aqui focar, exemplificando-a com alguns dos mais importantes problemas levantados (e resolvidos) durante os últimos anos, assinalando-se como a recente evolução científica no âmbito da Química analítica aplicada ao controlo de qualidade dos vinhos tem contribuído para uma muito significativa elevação dessa própria qualidade.

Análise automática em Enologia. Informatização dos laboratórios

Os progressos que, mais recentemente, se têm verificado no desenvolvimento e na generalizada aplicação dos métodos automáticos em Enologia, constituem certamente um dos mais notórios aspectos de como a Química analítica, enquanto Ciência, soube encontrar uma eficaz resposta a um dos mais importantes

problemas que hoje se colocam a um laboratório de controlo — a enorme quantidade de amostras que, num cada vez mais curto espaço de tempo, há que analisar, verificar, certificar.

Existem já hoje descritos na bibliografia muitos e diversificados métodos analíticos, mais ou menos automatizados, envolvendo diversos parâmetros analíticos, baseando-se em distintos princípios, possibilitando o recurso a várias cadências, exigindo meios instrumentais mais ou menos onerosos (Bouvier e Curvelo-Garcia, 1988). A demonstração efectiva das reais possibilidades e características dos métodos automáticos conduziu já à sua consideração formal por parte quer da Subcomissão de Métodos de Análise do OIV, quer do Comité de peritos de análise de vinhos da CEE.

Na EVN, temos fundamentalmente estudado métodos recorrendo ao fluxo contínuo segmentado. No doseamento colorimétrico dos açúcares redutores, com uma cadência de 40 amostras/h, verificámos (Curvelo-Garcia e Godinho, 1988*a*, 1988*b*), para teores de 0 a 5 g.dm⁻³, uma boa linearidade para a curva de calibração (coeficiente de correlação de 0,99997), uma boa repetibilidade de análise (desvios-padrão de 0,00 a 1,85 % dos valores médios para vinhos secos e inferiores a 1,00 % para vinhos doces) e uma exactidão nitidamente superior à dos métodos clássicos de doseamento. Na determinação enzimática dos ácidos L(-)-málico e L(+)-láctico, com uma cadência de também 40 amostras/h, verificámos (Curvelo-Garcia e Godinho, 1988*b*) boas linearidades para as curvas de calibração (coeficientes de correlação de 0,99970 e de 0,99843, respectivamente), boas repetibilidades de análise (desvios-padrão inferiores, respectivamente, a 5 % e a 2,5 % dos valores médios) e parâmetros de exactidão perfeitamente aceitáveis (~ 10 %). O doseamento colorimétrico do ácido L(+)-tartárico, para uma cadência de 40 amostras/h, com recurso ao método de Rebelein (1972) e para uma gama de concentrações de 0 a 8 g.dm⁻³, evidencia uma boa linearidade da curva de calibração apenas para valores superiores a 3 g.dm⁻³, o que implica a necessidade de determinar a relação funcional entre a concentração da espécie em análise (x g.dm⁻³) e a correspondente altura do pico registado (Y mm); para as condições em que trabalhamos, essa relação é expressa pela equação $Y = 1,5 x^2 + 15 x - 7,9$ (Curvelo-Garcia e Godinho,

1989); nestas condições, a repetibilidade de análise e a exactidão do método são suficientes para a generalidade das suas aplicações.

A análise em fluxo segmentado, com recurso a diferentes tipos de detectores, continua a ser o processo de automatização predominante nos laboratórios de controlo, acentuando-se hoje uma clara tendência para uma maior miniaturização dos equipamentos, bem como para um assinalável aumento das cadências empregues. Contudo, a análise por injeção em fluxo (FIA) parece já hoje poder constituir uma eficaz alternativa, com possibilidades de cadências de análise bastante superiores, de grande flexibilidade e envolvendo menores custos no equipamento necessário à montagem dos sistemas (Bouvier e Curvelo-Garcia, 1988; Lima, 1988).

Será ainda de referir, pelo enorme sucesso alcançado, o método iodo-amperométrico para o doseamento do dióxido de enxofre dos vinhos, método apenas parcialmente automatizado, apresentando boas características para uma generalizada aplicação e envolvendo reduzidos custos em equipamento (Pontallier *et al.*, 1982; Curvelo-Garcia e San Romão, 1985).

O recurso a cadeias de análise automática, com elevadas cadências, originou que os laboratórios de controlo se vissem rapidamente confrontados com um importante número de dados analíticos a tratar diariamente. Este facto, em ligação com o cada vez maior número de parâmetros que é necessário controlar e verificar, tem originado uma crescente tendência para a informatização dos laboratórios, resultado também dos vertiginosos avanços que se têm verificado nesta área (Bouvier, 1982; Dubernet, 1983; Rohlf, 1987; Bouvier e Curvelo-Garcia, 1988).

As técnicas de SNIF/NMR e a determinação da relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ aplicadas à caracterização da genuinidade de mostos e vinhos

A quantificação relativa de ^{13}C permite distinguir os fermentados e destilados provenientes de plantas diversas, em virtude do empobrecimento neste isótopo (relativamente ao dióxido de carbono atmosférico) variar em função do respectivo ciclo fotossintético. Nos produtos derivados da videira, da beterraba, da figueira e da cevada, como exemplos, o empobrecimento é mais elevado, situando-se os valores de ^{13}C próximos de -25/1000 relativamente ao padrão internacional PDB (Pee Dee

Belemnite), constituído pelo dióxido de carbono libertado pelo ataque do ácido fosfórico sobre calcite de uma belemnite, rocha característica da formação *Pee Dee* do Cretáceo Superior, no Estado Norte-americano da Carolina do Sul. Por outro lado, em produtos derivados de plantas como a cana-de-açúcar, o sorgo e o milho, esses valores são próximos de $-12/1000$. O empobrecimento de ^{13}C da amostra é dado pelo quociente das razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra e do padrão PDB, subtraído de uma unidade e multiplicado por 1000. Para produtos derivados da uva, está esse valor compreendido entre -25 e -29 (com uma variação de $\pm 0,5$), sendo valores mais elevados indicativos de que o produto vínico foi falsificado por adição de um produto derivado de outra matéria-prima. Em 1982, foi este método reconhecido oficialmente em Portugal (Portaria 985/82), facto que veio dotar os laboratórios oficiais de um importante instrumento para o combate às fraudes.

Contudo, a especificidade do método não permite a detecção de uma adição fraudulenta de determinados produtos, como seja de derivados da beterraba. No âmbito da CEE e do próprio OIV, o método hoje reconhecido oficialmente para detecção deste tipo de fraudes baseia-se nas técnicas, desenvolvidas por Martin *et al.* (1988), do fraccionamento isotópico natural específico por ressonância magnética nuclear. Segundo este método, é hoje possível detectar a adição de açúcar (exógeno à uva) a mostos e vinhos, bem como a adição de água ou um simples loteamento de vinhos de origem diversa. Constitui certamente este método um dos mais assinaláveis avanços técnico-científicos das últimas décadas, no âmbito do controlo analítico dos vinhos, resultados dos trabalhos desenvolvidos pela equipa do Prof. G. Martin (Universidade de Nantes) desde 1980, num projecto que teve a colaboração do Dep. Enologia da EVN (Martin *et al.*, 1988), se bem que modesta, e cujas potencialidades estão ainda longe de estar completamente concretizadas; o método está ainda sujeito a importantes limitações, como seja o facto do limite de detecção depender do nível de conhecimentos sobre a origem, o ano de proveniência, o tipo de vinificação usado, as castas empregues e os eventuais loteamentos sofridos pelo vinho em causa. A aplicabilidade do método exige a necessidade de se encontrar disponível uma poderosa base de dados, representativa das diferentes áreas geográficas e dos diferentes tipos

de vinho, facto para onde actualmente apontam os trabalhos desenvolvidos no âmbito da CEE e do OIV.

Doseamento do carbamato de etilo em vinhos e aguardentes

O doseamento do carbamato de etilo em vinhos e aguardentes constitui um dos mais recentes êxitos da Química analítica aplicada à Enologia, sendo de destacar as muito importantes contribuições já dadas pelo Instituto Max von Pettenkofer de Berlin (Junge, 1987) e pelo Institut d'Oenologie de Bordeaux (Bertrand e Barros, 1988), no âmbito dos trabalhos desenvolvidos pelo OIV nesta área.

Esse êxito decorre essencialmente da enorme rapidez como a comunidade científica respondeu a uma importante solicitação no âmbito da análise enológica, apresentando métodos analíticos com boas características de precisão e exactidão e aplicáveis generalizadamente aos laboratórios de controlo.

Designadamente o método estudado por Bertrand e Barros (1988) apresenta condições para a sua generalizada aplicação aos laboratórios de controlo, dado não necessitar de equipamento de espectrometria de massa, relativamente oneroso, e de ser simples, preciso e muito sensível, segundo os resultados obtidos por estes autores; recorre à cromatografia em fase gasosa capilar, utilizando um detector de ionização de chama do tipo NP e o carbamato de metilo como padrão-interno. Em aguardentes, o doseamento é realizado por injeção directa; em vinhos, procede-se a uma prévia extracção com éter (amostra desidratada com sulfato de sódio).

Os métodos instrumentais no doseamento de espécies químicas vestigiárias

O desenvolvimento dos métodos instrumentais de análise e da sua aplicabilidade aos vinhos tem originado um acentuado acréscimo das capacidades e potencialidades dos laboratórios de controlo para o doseamento de espécies químicas vestigiárias, facto que inclusivamente tem permitido um maior rigor no estabelecimento de limites para algumas delas, considerando designadamente as implicações de ordem toxicológica. Como exemplos, cita-se os casos dos limites máximos definidos muito recente-

mente pelo OIV para os teores de chumbo ($0,3 \text{ mg.dm}^{-3}$) e de flúor (1 mg.dm^{-3}).

Será provavelmente no âmbito das técnicas de espectrofotometria de absorção atômica, com e sem chama, onde mais sensíveis têm sido esses avanços. É assim hoje possível determinar analiticamente, com relativa facilidade, e recorrendo a métodos expeditos e fiáveis, diversos elementos metálicos com teores relativamente baixos, em alguns casos na ordem de ppb (Rb, Li, Cu, Mn, Pb, Cd, Co, As, Hg, Al, Al, Cr, Ni, Mo, Ag, Sn, V, Ti, Sb, Ba, Tl, U).

Caracterização analítica de vinhos rosados

Desde há cerca de uma década, tem sido preocupação de diversos centros de investigação a procura de uma metodologia que permita a caracterização analítica da genuinidade dos vinhos rosados, distinguindo-os designadamente de vinhos brancos lotados com vinhos tintos. Apesar dos enormes avanços já verificados, a dificuldade do problema levou o próprio OIV (1987) a considerar a questão insolúvel no actual estado dos conhecimentos científicos. Em Portugal, tem o problema continuado a ser estudado, em trabalho que temos desenvolvido na EVN com a colaboração da EAN, e recorrendo à aplicação das técnicas de taxonomia numérica. Os primeiros resultados publicados (Curvelo-Garcia *et al.*, 1987; Lima *et al.*, 1989) abrem animadoras perspectivas para alcançar os objectivos visados, revelando-se a metodologia usada, cuja descrição não cabe no âmbito deste trabalho, de grande utilidade na caracterização da origem dos vinhos, em especial no que se refere às variedades de uva e à tecnologia de fabrico. Os trabalhos prosseguem.

RÉSUMÉ

Les progrès récents dans le contrôle analytique des vins vis-à-vis les exigences de la consommation

Dans les années dernières, les exigences des laboratoires responsables par le contrôle analytique des vins ont augmenté significativement, résultat d'ailleurs de ce qui se passe dans le contrôle de l'ensemble des aliments. Ces exigences concernent, de plus en plus, grand nombre de paramètres, imposent des limitations croissantes pour ces paramètres et élargent ce contrôle analytique pour des nouvelles situations. Elles sont aussi une

conséquence des exigences, de même croissantes, de la qualité des denrées alimentaires.

Dans ce travail on présente une vue d'ensemble de la réponse efficace que la Science oenologique, en particulier la Chimie analytique appliquée à l'Oenologie, a su donner, par son développement, à les nouvelles sollicitations, contribuant ainsi pour une important élévation de la qualité des vins; les sujets que le Département d'Oenologie de l'EVN a étudié dernièrement, en collaboration avec d'autres centres de recherche, sont ici approfondis.

Les sujets discutés sont:

- Automatisation de l'analyse des vins dans les laboratoires de contrôle de qualité; informatisation des laboratoires.
- Les techniques de FINS/RMN et de la détermination du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ appliquées à la caractérisation de la gènuinité des moûts et des vins.
- Le dosage du carbamate d'éthyle dans les vins et dans les eaux-de-vie.
- Les méthodes d'instrumentation analytique dans le dosage des espèces chimiques vestigiaires des vins.
- Caractérisation analytique des vins rosés.

SUMMARY

Recent advances in wines analytical control in view of composition exigencies

The exigencies of the laboratories with responsibility in wines analytical control are always to rise, such as for the food in general. More and more these exigencies are concerning a greater amount of analytical parameters with increasing restrictions. Also more and more the analytical control concern a greater amount of situations. They are also determined by the increasing food quality exigencies.

The Enological Science and specially the Analytical Chemistry applied in Enology are returned important answers to the recent appeals created, increasing in this way the promotion of the wines quality.

In this paper these matters are discussed.

Subjects studied by the Department of Enology (EVN) in collaboration with other research centers are specially discussed and deepened.

The matters discussed are:

- Wines automatic analysis in quality control laboratories; the computing systems.
- The SNIF/NMR and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio techniques applied for the characterization of wines and musts authenticity.

- Ethyl carbamate determination in wines and brandies.
- Traces determination of chemical species by instrumental methods in wines.
- Analytical characterization of «rosé» wines.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertrand, A. e P. Barros
1988 Dosage du carbamate d'éthyle dans les vins et les eaux-de-vie. *Connaissance Vigne Vin*, 22 (1): 39-47.
- Bouvier, J. C.
1982 Le microprocesseur et l'analyse oenologique. *Rev. Fr. Oenologie*, 86: 51-60.
- Bouvier, J. C. e A. S. Curvelo-Garcia
1988 A análise automática em Enologia. *Enologia*, 12: 27-43.
- Curvelo-Garcia, A. S. e M. C. Godinho
1988a Le dosage colorimétrique en flux continu des sucres réducteurs dans les vins. *Feuillets verts de VOIV*, 823.
1988b A automatização da análise de vinhos por fluxo contínuo segmentado. *Comun. 2.12 a III Encontro Galego-Portugues de Química (Control de Calidad)*: 80-83 (Vigo).
1989 Doseamento do ácido tartárico dos vinhos por fluxo contínuo segmentado. Comunic. a «1.º Simpósio de Ciência e Tecnologia em Vitivinicultura», Bloco H, Dois Portos.
- Curvelo-Garcia, A. S.; M. B. Lima; M. I. Spranger-Garcia e D. Coelho
1987 Caracterização analítica de vinhos rosados por aplicação das técnicas de taxonomia numérica. *Ciência Téc. Vitiv.*, 6 (2): 79-97.
- Curvelo-Garcia, A. S. e M. V. San Romão
1985 O anidrido sulfuroso em mostos e vinhos. Estudo comparativo de métodos de análise. *Ciência Téc. Vitiv.*, 4 (1): 5-19.
- Dubernet, M.
1983 L'informatisation des laboratoires d'Oenologie. *Rev. Fr. Oenologie*, 89: 65-69.
- Junge, Ch.
1987 Dosage du carbamate d'éthyle dans les boissons alcoolisées par chromatographie en phase gazeuse et spectrometrie de masse. *Feuillets verts de VOIV*, 819.
- Lima, J. L. F. C.
1988 Análise por injeção em fluxo com detecção potenciométrica. Ponencia P. 3.1 a *III Encontro Galego-Portugues de Química (Control de Calidad)*, Vigo.
- Lima, M. B.; A. S. Curvelo-Garcia; M. I. Spranger-Garcia e D. Coelho
1989 The application of numerical taxonomic techniques for the characterization of some rosés wines. Comunic. a *IV Symposium International d'Oenologie*, Bordeaux.

- Martin, G. J.; C. Guillou; M. L. Martin; M.-T. Cabanis; Y. Tep e J. Aerny
1988 Natural factors of isotope fractionation and the characterization
of wines. *J. Agric. Food Chem.*, **36** (2): 316-322.

OIV

- 1987 C. R. de la 26^e Session de la Sous-Commission conventionnelle
d'unification des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins.
Bull. OIV, **60** (671-672): 83-130.
- Pontallier, P.; J. P. Callède e P. Ribéreau-Gayon
1982 Dosage de SO₂ libre dans les vins rouges par titrage potentiomé-
trique automatique. Mise en évidence d'un comportement spécifique
dans les vins jeunes. *Sci. Aliments*, **2** (3): 329-339.
- Rebelein, H.
1972 Dosage rapide de l'acide tartrique. *Feuillets verts de l'OIV*, 431.
- Röhlf, F. J.
1987 Computers in scientific research. *Ciência Téc. Vitiv.*, **6** (2): 45-65.