

## PADRONIZAÇÃO DO ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS DESTINADAS AO CONTROLO ANALÍTICO DE VINHOS

### SAMPLE CONDITIONING STANDARDIZATION FOR ANALYTICAL CONTROL OF WINES

ISABEL F. ESTEVES<sup>1,2</sup> e A. S. CURVELO-GARCIA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Estação Vitivinícola Nacional (INIA), 2560 Dois Portos, Portugal.

<sup>2</sup> Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2825 Monte da Caparica, Portugal (Bolseira da Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica).

#### RESUMO

Com o objectivo de padronizar as condições de acondicionamento das amostras de vinho em laboratório, este estudo pretende avaliar, utilizando métodos de análise de dados multidimensional, a influência que algumas dessas condições, nomeadamente a temperatura de conservação e o material, cor e capacidade do recipiente de conservação (garrafa), exercem sobre 32 parâmetros analíticos, considerando-se três matrizes distintas - um vinho tinto, um vinho branco seco e um vinho licoroso. Os ensaios decorreram durante aproximadamente um ano, realizando-se três amostragens durante esse período. Concluiu-se que, de entre as modalidades consideradas, a que conduz a uma menor variação dos parâmetros analíticos, permitindo por consequência uma melhor conservação das amostras, é a que corresponde a garrafas de vidro de cor verde esmeralda, de capacidade de 0,75 L, conservadas a uma temperatura de 4 °C. Concluiu-se ainda que as características cromáticas do vinho branco evoluem mais rapidamente que as do vinho tinto e do vinho licoroso, sobretudo quando a temperatura de conservação das amostras for relativamente elevada (20 °C) e na presença de luz (garrafas incolores).

**Palavras chave:** Vinhos, controlo analítico, padronização do acondicionamento de amostras.

**Key words:** Wines, analytical control, sample conditioning standardization.

#### INTRODUÇÃO

Constitui hoje uma realidade sempre presente que os progressos

conseguidos na elevação da qualidade dos vinhos deverão ser permanentemente acompanhados por um mais rigoroso e cientificamente baseado controlo da qualidade, entendido por sua vez como agente ou factor da própria qualidade. Assim, no âmbito das diversas instâncias com responsabilidades no controlo analítico e na certificação dos vinhos e de outros produtos de origem vitícola, tem vindo a assumir crescente relevância a preocupação de garantir a qualidade dos resultados obtidos, promovendo-se a validação dos métodos analíticos, a acreditação dos laboratórios e mesmo, em complemento, a adopção por estes de *Boas Práticas de Laboratório*, acções estas conducentes no fundo à certificação e consequente reconhecimento universal dos dados analíticos produzidos.

Em todo este envolvimento, existe um aspecto, generalizadamente reconhecido como deveras importante e sobre o qual não existe muito conhecimento: qual a melhor forma de acondicionar as amostras (de vinho), desde a sua recepção no laboratório até ao momento do seu respectivo tratamento analítico. É evidente que a solução óptima será de certo, e na generalidade dos casos, a de se proceder, de imediato, à análise das amostras, o que frequentemente não é possível. É evidente também que muito conhecimento existe hoje disponível sobre a evolução de diversos parâmetros analíticos dos vinhos, ao longo da sua conservação sob a influência de diversas condições físicas. O problema que contudo se coloca é o de otimizar as condições de conservação da amostra desde o momento da sua recepção no laboratório até à data do seu tratamento analítico, minimizando a sua evolução para a generalidade dos parâmetros em apreciação, o que constitui objectivo do presente trabalho.

Por estas razões, neste estudo, foi considerado um número relativamente exaustivo de parâmetros analíticos (32), julgados como alguns dos principais e dos mais frequentes em laboratórios de controlo, sendo igualmente considerada a sua evolução conjunta, por forma a poder-se otimizar as condições de conservação com aplicação generalizada, e não apenas a sua aplicação a um reduzido número de parâmetros. Por estas razões, optou-se pois por basear o tratamento dos dados em métodos de análise multidimensional, considerando-se que seriam os que melhor poderiam dar resposta aos objectivos pretendidos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram ensaiados 3 vinhos, produzidos na Estação Vitivinícola

Nacional (Dois Portos), um vinho branco (de 1992), um vinho tinto (de 1992) e um vinho licoroso (de 1991).

Utilizou-se, para a conservação das amostras dos vinhos, garrafas de vidro verde esmeralda (com 0,33 L e 0,75 L de capacidade), garrafas de vidro incolor (das mesmas capacidades), garrafas de PVC<sup>1</sup> de 0,33 L de capacidade e garrafas de PET<sup>2</sup> de 1,00 L de capacidade.

As garrafas de vidro foram vedadas com rolha de cortiça (mecanicamente, excepto as garrafas de vidro verde esmeralda e de capacidade de 0,33 L, cujo rolhamento foi feito manualmente). As garrafas de plástico (PVP e PET) foram vedadas com cápsulas roscadas, do mesmo material).

Cada modalidade (vinho x recipiente) foi submetida a duas diferentes condições de conservação: 4 °C (permanentemente na obscuridade) e 20 °C (com cerca de 10 h por dia na obscuridade).

No Quadro I, indica-se os códigos utilizados para as diferentes condições de conservação das amostras.

Os diferentes vinhos foram analisados inicialmente (T0), ao fim de 3 a 4 meses (T1) e de 6 a 8 meses de conservação (T2).

Os 32 parâmetros analíticos considerados foram os seguintes (indicando-se, entre parêntesis, os códigos utilizados para cada um deles e as respectivas referências bibliográficas dos métodos aplicados):

#### QUADRO I

Códigos das condições de conservação das amostras

*Codes of the samples conservation conditions*

Material	Temperatura	4 °C			20 °C		
	Capacidade	0,33 L	0,75 L	1,00 L	0,33 L	0,75 L	1,00 L
<i>Vidro incolor</i>		gvi4	GVI4	-	gvi20	GVI20	-
<i>Vidro verde</i>		gvv4	GVV4	-	gvv20	GVV20	-
<i>PVC</i>		gp4	-	-	gp20	-	-
<i>PET</i>		-	-	GP4	-	-	GP20

(<sup>1</sup>) PVC - polícloro de vinilo.

(<sup>2</sup>) PET - polietileno tereftalato.

- teor alcoólico em volume (*grau*) (CT83, 1997); cloretos (*clor*) (CT83, 1988b); fluoretos (*fluor*) (CT83, 1993b); dióxido de enxofre livre, combinado e total, por recurso ao método iodo-amperométrico (*livre, comb e total*, respectivamente) (CT83, 1988a; Curvelo-Garcia, 1988); intensidade e tonalidade de cor, pelo método usual do OIV (*inten e tonal*, respectivamente) (OIV, 1990); luminosidade, cromaticidade e pureza das características de cor, segundo o método de referência do OIV (*lumin, crom e pure*, respectivamente) (OIV, 1990); luminosidade, saturação, tonalidade e valores de *a e b*, por aplicação do método CIELab à definição das características cromáticas (*lumi, satur, tona, a e b*, respectivamente) (Ribeiro, 1993; Soares, 1996); índice de polifenóis totais, pela determinação da absorvência a 280 nm (*absor*) (Curvelo-Garcia *et al.*, 1988); ácido tartárico (*tarta*) (Curvelo-Garcia e Godinho, 1990); açúcares redutores (*redu*) (Silvestre *et al.*, 1993); constituintes voláteis (etanal, acetato de etilo, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol + 3-metil-1-butanol) (*etanal, acet, met, prop, metil e meti*, respectivamente) (CT83, 1990a); sódio (*Na*) (CT83, 1990b); potássio (*K*) (CT83, 1991); ferro (*Fe*) (CT83, 1988c); cobre (*Cu*) (CT83, 1988d); magnésio (*Mg*) (OIV, 1990); cálcio (*Ca*) (1993a); zinco (*Zn*) (CT83, 1988e).

A análise multidimensional dos dados obtidos foi realizada com recurso ao programa NTSYS-pc, versão 1.80 (Rohlf, 1993). Obteve-se primeiramente as matrizes de distâncias e as matrizes de correlações (Cabras *et al.*, 1977; Curvelo-Garcia *et al.*, 1987), a partir das matrizes de dados originais (modalidades de acondicionamento x determinações analíticas, para as diferentes amostragens e para os diversos vinhos). Seguidamente, procedeu-se à análise de grupos por recurso ao método de agregação UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic averages*) e à análise em componentes principais, ACP (Curvelo-Garcia *et al.*, 1987).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por forma a facilitar a leitura e interpretação dos resultados obtidos, sem sobrecarregar demasiadamente o texto, apresenta-se seguidamente apenas alguns dos fenogramas obtidos (por aplicação do método UPGMA) e as projecções dos pontos correspondentes às

diferentes modalidades de conservação e aos diversos parâmetros analíticos nos planos definidos pelas duas primeiras componentes principais; apresenta-se apenas os casos considerados mais relevantes para os objectivos deste estudo.

### Vinho branco

Nas figuras 1 e 2, apresenta-se os fenogramas correspondentes às matrizes de distâncias, respectivamente para os tempos T1 e T2. Os

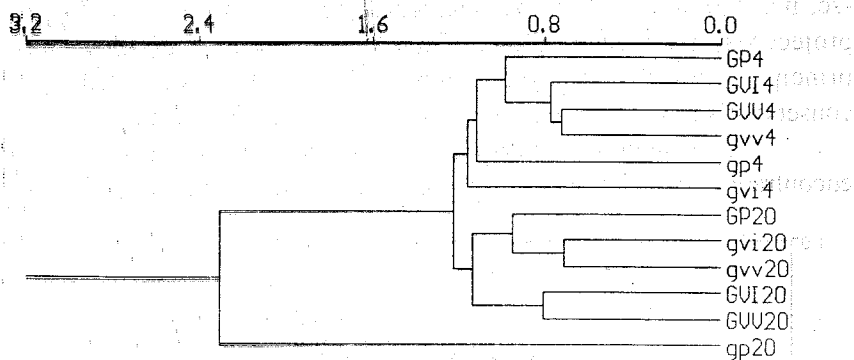


Fig. 1 - Fenograma obtido usando o método UPGMA aplicado à matriz de distâncias (vinho branco, tempo de conservação T1).  
*Phenogram based on UPGMA clustering of the distance matrix (white wine, conservation time T1).*

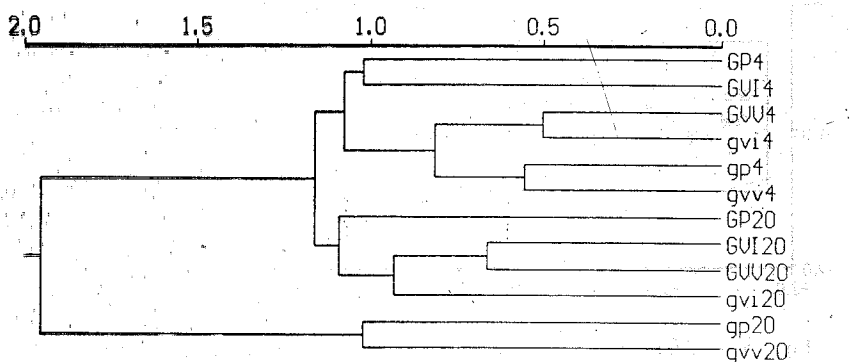


Fig. 2 - Fenograma obtido usando o método UPGMA aplicado à matriz de distâncias (vinho branco, tempo de conservação T2).  
*Phenogram based on UPGMA clustering of the distance matrix (white wine, conservation time T2).*



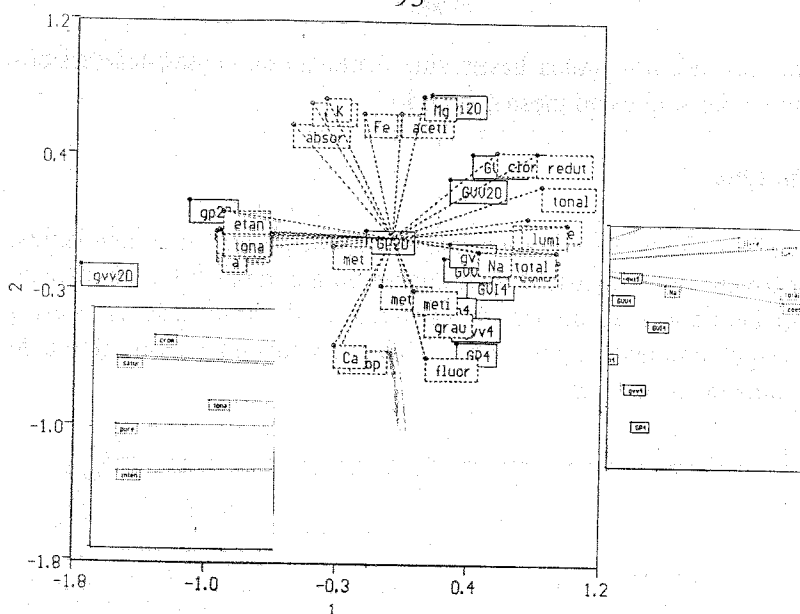


Fig. 4 - ACP. Projecções no plano definido pelas duas primeiras componentes principais (vinho branco, tempo de conservação T2).  
PCA. Projections onto the plane defined by the two principal axes (white wine, conservation time T2).

para cada componente principal, que as duas primeiras componentes são responsáveis por cerca de 61,7% da variância total e que a primeira componente é responsável por cerca de 46,1%. Para o tempo T2, estas percentagens são, respectivamente, de 67,4% e de 50,3%.

Para o tempo T1, o eixo 1 traduz essencialmente as características cromáticas e os níveis de dióxido de enxofre, enquanto que o eixo 2 está altamente correlacionado com os teores em potássio e em ácido tartárico. Para o tempo T2, confirma-se de uma forma geral estes aspectos, devendo contudo ainda referir-se que se verifica elevadas correlações do teor em etanol com o eixo 1 e dos teores em acetato de etilo e magnésio com o eixo 2. Parece encontrar-se uma tendência para que os vinhos acondicionados a 4 °C (na obscuridade) estejam associados a valores mais elevados de luminosidade, enquanto que os acondicionados a 20 °C apresentem mais elevados valores de ácido tartárico e de potássio. Parece haver ainda uma correspondência entre os agupamentos verificados nos tempos T1 e T2, com reduzidas exceções.

Comparando as matrizes de correlação referentes aos tempos T1 e T2, verificámos um grau de correlação de  $r=0,68$  que, não sendo embora

muito elevado, nos indica haver uma evolução da composição físico-química dos vinhos no mesmo sentido.

### Vinho tinto

Nas figuras 5 e 6, apresenta-se os fenogramas correspondentes, respectivamente, à matriz de correlações para o tempo T1 e à matriz de distâncias para o tempo T2. Os coeficientes de correlação cofenética são, respectivamente, 0,85 e 0,80, reflectindo pois uma certa fidelidade reltivamente às matrizes.

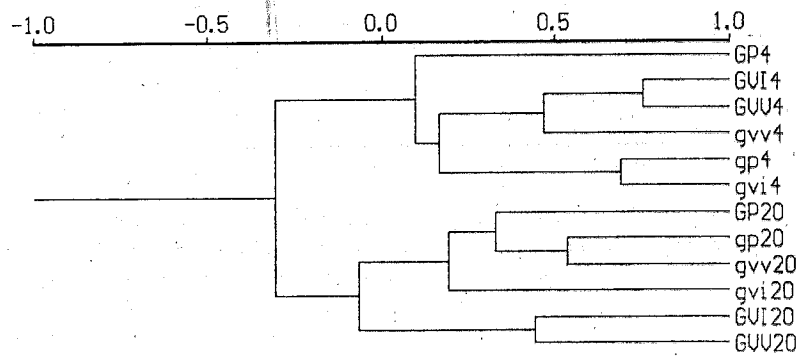


Fig. 5 - Fenograma obtido usando o método UPGMA aplicado à matriz de correlações (vinho tinto, tempo de conservação T1).

*Phenogram based on UPGMA clustering of the correlation matrix (red wine, conservation time T1).*

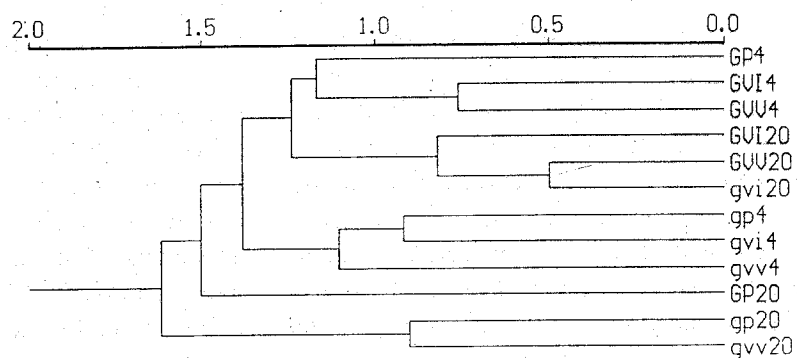


Fig. 6 - Fenograma obtido usando o método UPGMA aplicado à matriz de distâncias (vinho tinto, tempo de conservação T2).

*Phenogram based on UPGMA clustering of the distance matrix (red wine, conservation time T2).*



Para o tempo T1, verifica-se igualmente o aparecimento de dois grupos principais, determinados pela temperatura (e nível de obscuridade) na conservação das amostras. Para o tempo T2, parece já não ser este factor tão determinante, parecendo verificar-se já uma influência apreciável da capacidade das garrafas.

No que se refere à análise em componentes principais, apresenta-se, nas figuras 7 e 8, respectivamente para os tempos T1 e T2, as projecções, nos planos definidos pelas duas primeiras componentes principais, dos pontos correspondentes às diversas modalidades de conservação das amostras e aos diferentes parâmetros analíticos.

Para o tempo T1, verifica-se, com base nos valores próprios encontrados e respectivas percentagens da variância total determinadas para cada componente principal, que as duas primeiras componentes principais são responsáveis por cerca de 56% da variância total e que a primeira componente é responsável por cerca de 39,2%. Para o tempo T2, estas percentagens são, respectivamente, 57,7% e 33,7%. São pois valores significativamente inferiores aos encontrados para os vinhos brancos.

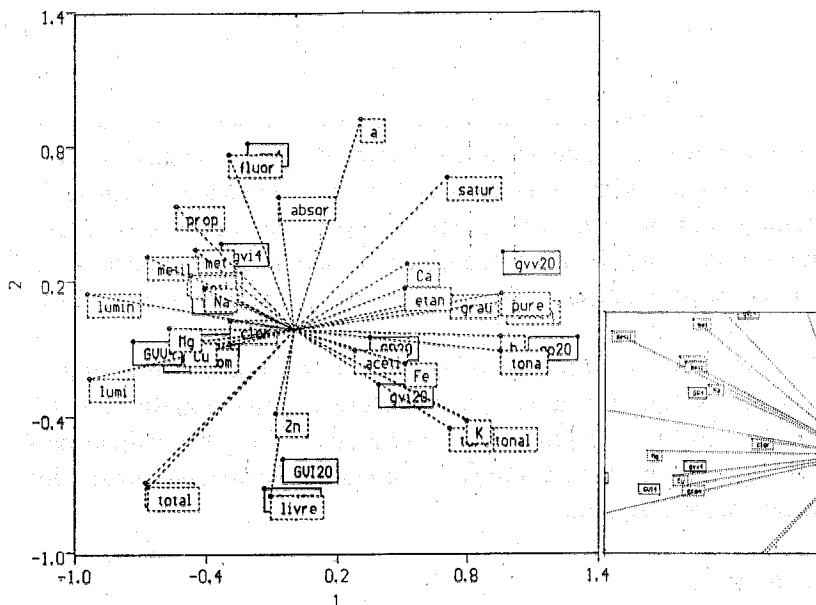


Fig. 7 - ACP. Projecções no plano definido pelas duas primeiras componentes principais (vinho tinto, tempo de conservação T1).  
PCA. Projections onto the plane defined by the two principal axes (red wine, conservation time T1).



coeficientes de correlação cofenética são, respectivamente, 0,83 e 0,82, reflectindo uma certa fidelidade em relação às matrizes.

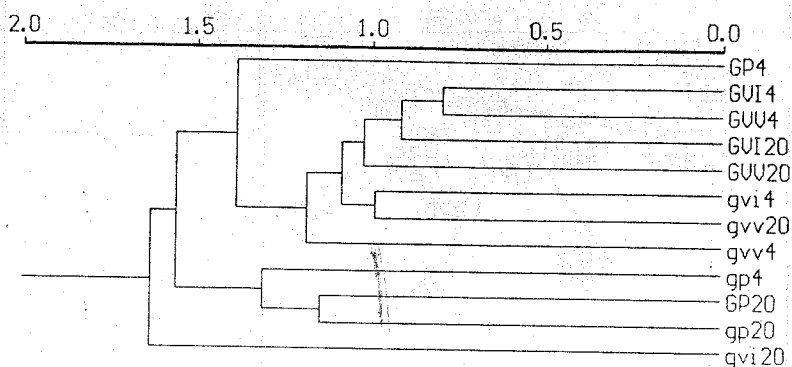


Fig. 9 - Fenograma obtido usando o método UPGMA aplicado à matriz de distâncias (vinho licoroso, tempo de conservação T1).  
*Phenogram based on UPGMA clustering of the distance matrix (fortified wine, conservation time T1).*

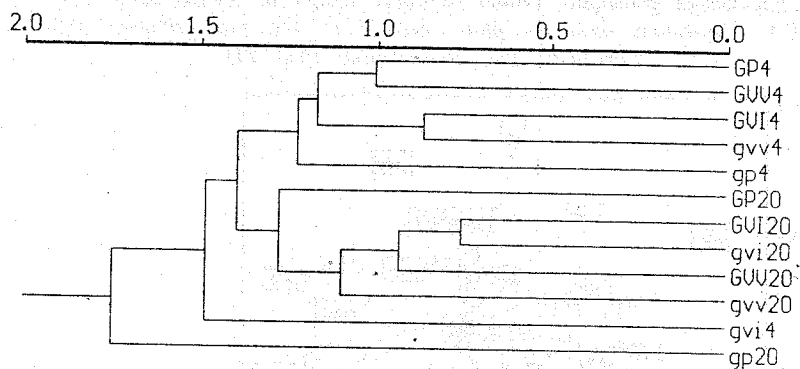


Fig. 10 - Fenograma obtido usando o método UPGMA aplicado à matriz de distâncias (vinho licoroso, tempo de conservação T2).  
*Phenogram based on UPGMA clustering of the distance matrix (fortified wine, conservation time T2).*

Neste caso, a influência da temperatura (e nível de obscuridade) só ao tempo T2 é que se vem a verificar. No tempo T1, parece ser a influência do material da garrafa (vidro ou plástico) o factor mais importante.

Para a análise em componentes principais, apresenta-se nas figuras 11 e 12, respectivamente para os tempos T1 e T2, as projecções, nos planos definidos pelas duas primeiras componentes principais, dos

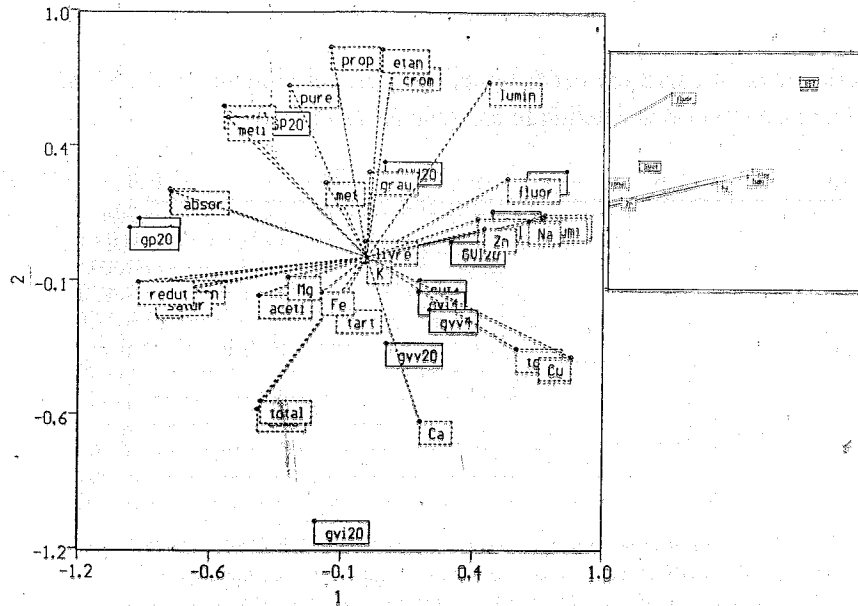


Fig. 11 - ACP. Projecções no plano definido pelas duas primeiras componentes principais (vinho licoroso, tempo de conservação T1).  
 PCA. Projections onto the plane defined by the two principal axes (fortified wine, conservation time T1).

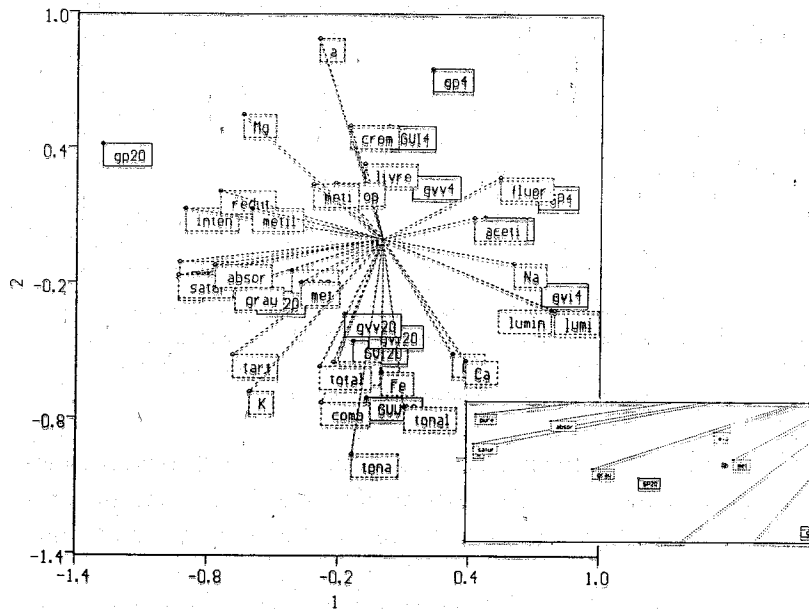


Fig. 12 - ACP. Projecções no plano definido pelas duas primeiras componentes principais (vinho licoroso, tempo de conservação T2).  
 PCA. Projections onto the plane defined by the two principal axes (fortified wine, conservation time T2).

pontos correspondentes às diferentes modalidades de conservação das amostras e aos diferentes parâmetros analíticos.

Novamente se verifica que a primeira componente principal está altamente correlacionada com as características cromáticas; no tempo T1, está também correlacionada com os teores em açúcares redutores e em cloretos. Neste caso, e para o tempo T1, os componentes do aroma parece terem pela primeira vez uma posição de relevo, apresentando uma elevada correlação positiva com a segunda componente principal. Mais uma vez se verifica uma notável influência da temperatura (e nível de obscuridade), parecendo que a conservação a baixas temperaturas permite uma melhor manutenção das características cromáticas do vinho (mantendo-se elevado o índice de luminosidade).

Comparando as matrizes de correlação referentes aos tempos T1 e T2, verificámos um grau de correlação de  $r = 0,42$ , demonstrando haver uma evolução da composição físico-química do vinho licoroso não uniforme.

#### CONCLUSÕES

De um modo geral, a temperatura (associada ao nível de obscuridade) é um factor de primordial importância na evolução das alterações ocorridas nos vinhos, principalmente se se verificar a presença de oxigénio. Temperaturas mais elevadas favorecem a ocorrência de reacções de condensação e de polimerização (reacções endotérmicas), originando uma evolução mais rápida das características cromáticas, contrariando a sua estabilização, dado induzirem também reacções irreversíveis de degradação das antocianinas, bem como as verificadas entre as pro-antocianidinas e as estruturas macromoleculares (polissacáridos e polipeptidos). Verificou-se ainda que a evolução da cor do vinho branco foi mais rápida do que para os outros dois.

O tipo de recipiente onde se verifica uma maior estabilização das amostras é a garrafa de vidro, preferencialmente de vidro verde esmeralda, com capacidade de 0,75L. Pelo contrário, as garrafas de material plástico são as que conduzem a uma mais rápida evolução das características dos vinhos, certamente devido à influência do oxigénio.

Resumidamente, de entre as modalidades estudadas para a conservação das amostras, a que conduz a uma menor evolução é: garrafa de vidro verde esmeralda, de 0,75L de capacidade, conservada a baixa temperatura (e na obscuridade).

### AGRADECIMENTOS

À *Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica*, pela concessão de uma Bolsa para Curso de Mestrado, facilitando assim a realização deste trabalho.

Aos Departamentos de Química Enológica e de Tecnologia Enológica da Estação Vitivinícola Nacional, pelos apoios concedidos à realização de algumas determinações analíticas.

### RÉSUMÉ

#### **Standardization du conditionnement des échantillons pour le contrôle analytique des vins**

Avec l'objectif de standardiser les conditions du conditionnement des échantillons de vin, au laboratoire, cet étude a poursuivi l'influence de quelques de ces conditions (comme la température de conservation et le matériel utilisé, la couleur et la capacité des récipients de conservation) sur 32 paramètres analytiques, en utilisant les méthodes d'analyse de données multidimensionnelle, et en appliquant à 3 vins - un vin blanc, un vin rouge et un vin de liqueur. Les résultats ont été obtenus pendant une année, avec trois prises d'échantillons.

On a conclu que la meilleure forme de conditionner les échantillons est leur conservation en bouteilles de verre vert avec une capacité de 0,75 L, à une température relativement basse (environ 4 °C). On a conclu encore que les caractéristiques chromatiques du vin blanc évoluent plus rapidement que celles du vin rouge et du vin de liqueur, surtout quand la température de conservation est relativement élevée (environ 20 °C) et l'influence de la lumière est plus sensible.

### SUMMARY

#### **Sample conditioning standardization for analytical control of wines**

With the purpose of standardize the conditions in which the sample of wines are conditioned in laboratory this study pretends to evaluate, using the methods of multivariate analysis, the influence of some of those conditions, namely conservation temperature and packaging material, colour and capacity of the bottle, over 32 analytical measures done separately for a red wine, a white wine and a fortified wine. The sampling period has the duration of approximately one year through which there will be made three samples.

As the principal conclusion, it's referred that the best conditions for the sample conditioning are the use of green glass bottles with a capacity of 0,75 L, conserved at low temperature (as 4 °C). It's also verified that the colour evolution

of the white wine is more rapid, comparatively with the colour evolution of the red wine and the fortified wine, essentially for the relatively high temperature (as 20 °C) and when the light influence is important.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cabral, J.M.P.; Carvalho, A.H.; Lima, M.B., 1977. Aplicação de métodos de taxonomia numérica na classificação de águas minerais de Portugal Continental, *Comunicações dos Serviços Geológicos Portugueses*, **61**, 343-363.
- CT83, 1987. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor alcoólico em volume (grau alcoólico volumétrico)*. NP 2143, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1988a. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação dos teores de anidrido sulfuroso (dióxido de enxofre) livre, combinado e total*. NP 2220, 5 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1988b. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Método potenciométrico*. NP 2226, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1988c. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de ferro por espectrofotometria de absorção atômica*. NP 2280, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1988d. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de cobre por espectrofotometria de absorção atômica*. NP 2442, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1988e. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de zinco por espectrofotometria de absorção atômica*. NP 2444, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1990a. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação dos teores de etanal, acetato de etilo, metanol, 2-butanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-propeno-1-ol, 1-butanol, 2-metil-1-butanol + 3-metil-1-butanol*. NP 3263, 6 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1990b. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de sódio. Método espectrofotométrico de absorção atômica*. NP3594, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1991. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de potássio. Método espectrofotométrico de absorção atômica*. NP 3685, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1993a. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de cálcio. Método espectrofotométrico de absorção atômica*. NP 4082, 4 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1993b. *Norma Portuguesa. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação*

- do teor de fluoretos. Método potenciométrico, NP 4084, 5 pp, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- Curvelo-Garcia, A.S., 1988. *Controlo de Qualidade dos Vinhos. Química Enológica. Métodos Analíticos*, 420 pp, Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa.
- Curvelo-Garcia, A.S.; Godinho, M.C., 1990. Doseamento do ácido tartárico nos vinhos por fluxo contínuo segmentado, *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **9**, 115-120.
- Curvelo-Garcia, A.S.; Lima, M.B.; Spranger-Garcia, M.I.; Coelho, D., 1987. Caracterização analítica de vinhos rosados por aplicação das técnicas de taxonomia numérica, *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **6**, 79-97.
- Curvelo-Garcia, A.S.; Spranger-Garcia, M.I.; Godinho, M.C., Os métodos para a determinação dos polifenóis totais em vinhos tintos e brancos, *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **7**, 11-18.
- OIV, 1990. *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*, Office International de la Vigne et du Vin, Paris.
- Ribeiro, M., 1993. Colorimétrie CIELab appliquée au Vin de Porto, *Feuille Vert de l'OIV*, 934.
- Rohlf, F., 1993. *NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80*, Exeter Software, New York.
- Silvestre, J.M.; Godinho, M.C.; Cameira-dos-Santos, P.J.; Curvelo-Garcia, A.S., 1993. Método de determinação do teor em açúcares redutores em mostos por fluxo contínuo segmentado, *Actas do II Simpósio da Vitivinicultura do Alentejo*, Évora.
- Soares, O., 1996. Spectrocolourimetry in wines, *Feuille Vert de l'OIV*, 1017.