

ÉVORA. PORTUGAL

10º SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO
10TH ALENTEJO VINE AND WINE SYMPOSIUM

10º SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO

10TH ALENTEJO VINE AND WINE SYMPOSIUM

4-5-6 / 05 / 2016

ÉVORA. PORTUGAL

VOLUME I

ORGANIZAÇÃO



PATROCÍNIOS



APOIOS



VOLUME
I

LIVRO DE ATAS

10º SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO (1º Volume)

4 – 5 – 6 DE MAIO 2016

Organizado por:

ATEVA – Associação Técnica dos Viticultores do Alentejo

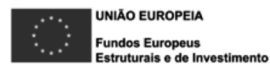
CVRA – Comissão Vitivinícola Regional Alentejana

CCDRA – Comissão de Coordenação e Desenvolvimento da Região Alentejo

DRAPAL – Direção Regional de Agricultura e Pescas do Alentejo

UE – Universidade de Évora

Com o patrocínio de:



Com o apoio de:



ATAS

Comissão Executiva

ATEVA – Francisco Mata

CVRA – Francisco Mateus

CCDRA – Francisco Sabino

DRAPAL - Francisco Murteira

UE – João Mota Barroso

Conselho Científico

Professora Helena Oliveira – Instituto Superior de Agronomia

Professor António Mexia - Instituto Superior de Agronomia

Professora Cecília Rego - Instituto Superior de Agronomia

Dr. António Sérgio Curvelo Garcia – Estação Vitivinícola Nacional

Professor Dr. Jorge Ricardo Silva - Instituto Superior de Agronomia

Professor Antero Martins - Instituto Superior de Agronomia

Dr. José Eduardo Jorge Eiras-Dias - Estação Vitivinícola Nacional

Professor Rogério Albino Neves de Castro - Instituto Superior de Agronomia

Professor João Manuel Mota Barroso – Universidade de Évora

Professora Raquel Ventura - Universidade de Évora

Professor Dr. José Veríssimo – Instituto Superior de Economia e Gestão

Professora Maria João Cabrita - Universidade de Evora

Professor Carlos Lopes - Instituto Superior de Agronomia

SESSÃO I

Sessão de Abertura - Presidida por Sua Ex^a Ministro da Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural, Dr. Luís Manuel Capoulas Santos

Alocações de Boas Vindas e de Introdução ao Simpósio pelas Entidades Organizadoras

- Dr. Roberto Grilo - Presidente da Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Alentejo
- Prof. Ana Costa Freitas - Reitora da Universidade de Évora
- Eng^o Francisco Mateus – Presidente da Direcção da Comissão Vitivinícola Regional do Alentejo
- Eng^o Francisco Murteira – Diretor Regional de Agricultura e Pescas do Alentejo
- Sr. Hernâni Ventura Capucho – Presidente da Direcção da Associação Técnica dos Viticultores do Alentejo

APLICAÇÕES DE FTIRATR PARA CONTROLO DE QUALIDADE DE AGUARDENTES

Ofélia ANJOS^(1,2); António J. A. SANTOS⁽²⁾; Leticia M. ESTEVINHO⁽³⁾; Ilda

RESUMO

Neste trabalho pretendese demonstrar a eficácia da aplicação da técnica de espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier com reflectância total atenuada (FTIRATR) para determinação rápida do teor alcoólico e do teor de vários compostos voláteis, designadamente metanol, acetaldeído e álcoois superiores em aguardentes vnicas e bagaceiras, com e sem envelhecimento.

A medição dos parâmetros referidos por FTIRATR demonstrou ajustarse bem para a quantificação destes compostos, tendo sido encontrados valores de desvio residual de previsão (RPD) a variar entre 12,8 para o teor de metanol (em g/hL P.A.) e 4,1 para o teor de 2+3metil-1butanol (em g/hL P.A.). Os valores do coeficiente de determinação (R^2) variaram entre 99,4 % e 94,1 % respetivamente para os compostos anteriormente referidos.

Neste trabalho são ainda comparados os tempos de resposta e custos de análise comparativamente à técnica de FTIRATR e métodos padrão.

Os resultados mostram que é possível aplicar esta técnica como análise rápida para a determinação do teor alcoólico, do metanol, acetaldeído e álcoois superiores em aguardentes vnicas e bagaceira, com e sem envelhecimento e para alguns parâmetros os modelos apresentam robustez suficiente para serem utilizados nos laboratórios de controlo destes produtos.

Palavras chave: Aguardente; controlo de qualidade, FTIRATR

⁽¹⁾ Instituto Politécnico de Castelo Branco, Apartado 119, 6001909 Castelo Branco. Portugal

⁽²⁾ Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 1349 017 Lisboa. Portugal

⁽³⁾ CIMO – Centro de Investigação de montanha. Departamento de Biologia e biotecnologia. Instituto Politécnico de Bragança/Escola Superior Agrária, Campus Santa Apolónia E 5301 855 Bragança. Portugal.

⁽⁴⁾ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Tecnologia e Segurança Alimentar Laboratório de Enologia Unidade de Investigação de Viticultura e Enologia, Dois Portos, Quinta da Almoinha, 2565191 Dois Portos. Portugal

⁽⁵⁾ ICAAM – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Apartado 94, 7002554 Évora. Portugal

1. INTRODUÇÃO

O controlo de qualidade de aguardentes revestese de extrema importância por razões de saúde pública devido à toxicidade de alguns dos seus constituintes. Para além do controlo de qualidade destes produtos, a sua caracterização em termos de composição volátil é muito importante dado que muitos dos compostos voláteis estão muito relacionados com tecnologias de fermentação e destilação e com as características sensoriais.

As técnicas analíticas utilizadas, de acordo com os métodos analíticos de referência são metodologias alternativas, rápidas e com elevada precisão analítica.

A espectroscopia de infravermelho tem sido uma ferramenta analítica amplamente utilizada em várias áreas, devido à rapidez com que as amostras podem ser caracterizadas quase sem manipulação (BLANCO E VILLARROYA, 2002).

A espectroscopia de infravermelho é um método não invasivo que se baseia na análise das vibrações moleculares resultantes da excitação provocada por um feixe de radiação na zona do infravermelho (CORDELLA *et al.* 2002).

A informação analítica dos espectros é analisada e interpretada recorrendo a métodos de quimiometria. A análise espectral é raramente efetuado com os espectros originais, sendo geralmente transformados antes da análise multivariada (BRERETON, 2003).

Em espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR) a transmissão e a reflexão total atenuada (ATR) são as técnicas mais utilizadas para a obtenção dos espectros.

O método de FTIRATR provou ser muito robusto em estudos de controlo de qualidade e composição de alimentos (ANJOS *et al.*, 2015; GOUVINHAS *et al.*, 2015) bebidas alcoólicas (ANJOS *et al.* 2016; LACHENMEIER, 2007; PALMA, 2002) e na deteção de adulterações dos mesmos (VERSARI *et al.* 2014).

Com este trabalho pretendese efetuar a divulgação dos resultados publicados por ANJOS *et al.* (2016) onde se demonstra a eficácia da aplicação da técnica de espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier com reflectância total atenuada (FTIRATR) no controlo de qualidade de aguardentes vnicas e bagaceiras, com e sem envelhecimento, no que se refere à sua composição volátil e teor alcoólico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foi avaliado o teor alcoólico, metanol, acetato de etilo, acetaldeído e álcoois superiores (1propanol, 1butanol, 2butanol, 2metil1propanol e 2+3metil1-butanol) de 140 aguardentes vnicas e bagaceiras com e sem envelhecimento.

A quantificação da componente volátil foi realizada por cromatografia gás-líquido de alta resolução (CGLAR), de acordo com a NP 3263 (CT83, 1990). Esta metodologia foi descrita e validada para aguardentes vnicas e bagaceiras por LUIS *et al.* (2011).

A determinação do teor alcoólico foi efetuada por destilação e densimetria eletrónica de acordo com o método padrão proposto por OIV (2014).

Os espectros das amostras foram adquiridos com um espectrómetro FTIR Bruker (alfa) com uma resolução de 4 cm^{-1} na região do infravermelho no comprimento de onda de $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, utilizando um diamante como dispositivo de reflectância total atenuada (ATR). Efetuaram-se dois espectros por amostra, com 32 scans. Foi efetuada a calibração cruzada com 50 % das amostras e com os outros 50 % a validação dos modelos, cada grupo foi selecionado aleatoriamente, de modo a garantir uma dispersão adequada e semelhante nos dois grupos amostrais.

No processo de otimização dos modelos, foi utilizado como pré-processamento dos espectros: Correção multiplicativa de dispersão; Correção da linha de base; Normalização pelo mínimo e máximo; Normalização vetorial; Primeira derivada; Primeira derivada + Correção multiplicativa de dispersão; Primeira derivada + Correção da linha de base; Primeira derivada + Normalização vetorial; Segunda derivada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros adquiridos para as diferentes amostras (aguardente vínica e Aguardente bagaceiro com e sem envelhecimento) são muito similares pelo que se optou por não diferenciar os modelos por tipo de aguardente (Figura 1).

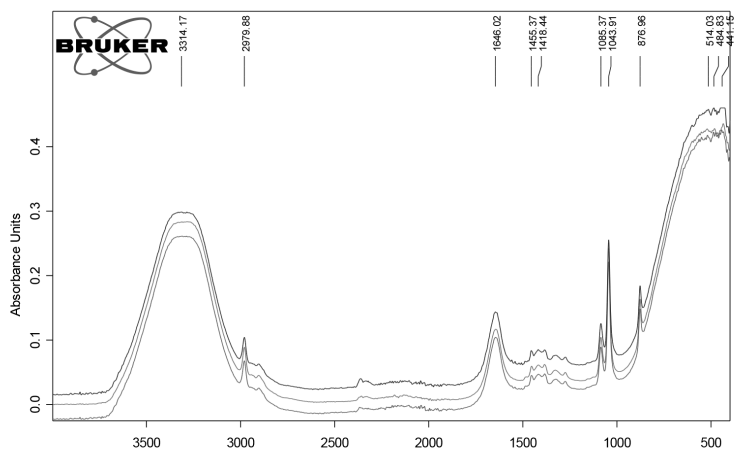


Figura 1 – Espectro médio obtido em FTIRATR para as aguardentes analisadas, pela seguinte ordem: linha superior Aguardente bagaceira, linha intermédia aguardente bagaceira envelhecida e aguardente vínica envelhecida.

Os espectros apresentam picos características dos compostos a analisar:

- 1500 a 900 cm^{-1} \Rightarrow vibrações das ligações C-C e C-O, a 1456 cm^{-1} deformação da ligação C-OH (Lachenmeier, 2007);
- 3314 e 1646 cm^{-1} corresponde OH- alongamento e OH- torção (Shurvell, 2001);
- 1646 cm^{-1} deformação da ligação O-H (Nagarajan *et al.*, 2006).

Na Tabela 1 estão representados os parâmetros estatísticos referentes às amostras analisadas onde se pode observar uma boa distribuição dos dados, necessário para a obtenção de bons modelos de calibração.

Tabela 1 – Parâmetros estatísticos referentes às determinações analíticas para o teor alcoólico, metanol, acetato de etilo, acetaldeído e álcoois superiores (adaptado de ANJOS *et al.*, 2016).

Determinações analíticas	Média \pm desvio padrão	Mínimo-máximo	Coefficiente de variação
Teor Alcoólico (%)	38,7 \pm 2,2	34,3 - 45,8	5,7
Metanol (g/hL A. P.)	468 \pm 417	30 - 2227	89,0
1-Butanol (g/hL A. P.)	2,09 \pm 0,52	1,10 - 3,02	24,8
1-Propanol (g/hL A. P.)	40,4 \pm 12,8	22,5 - 79,4	31,6
2-Butanol (g/hL A. P.)	7,36 \pm 5,31	1,24 - 23,3	72,2
Acetato de etilo (g/hL A. P.)	191 \pm 143	10,9 - 500	74,7
Acetaldeído (g/hL A. P.)	115 \pm 78,2	13,6 - 261	68,3
2-Metil-1-propanol (g/hL A. P.)	67,5 \pm 17,3	34,9 - 100	25,7
2+3-Metil-1-butanol (g/hL A. P.)	217 \pm 44,0	127 - 271	20,0

Os modelos de calibração obtidos para os diferentes parâmetros analisados nas aguardentes (Tabela 2) mostram que os parâmetros estatísticos analisados apresentam robustez suficiente para poderem vir a ser utilizados em laboratório de controle de qualidade.

Os valores do coeficiente de correlação dos modelos variam entre 91,0% e 99,4% e os valores de RPD entre 3,4 e 12,8. O valor mais baixo de RPD é observado para o 2butanol, para o qual não houve número de amostras suficientes para efetuar a validação, tendo-se apenas efetuado a calibração cruzada. Para este parâmetro é necessário efetuar mais ensaios para efetuar toda a metodologia proposta para os outros compostos.

Os valores de RPD para o metanol são superiores aos observados por alguns autores para outros tipos de aguardentes (COLDEA *et al.* 2013; LACHENMEIER, 2007).

Tabela 2 – Modelos de calibração obtidos referentes aos parâmetros analisados (adaptado de ANJOS et al., 2016).

	Região espectral (cm ⁻¹)	Pre-processamento	N	Rk	r ²	RMSECV	RPD
Metanol (g/hL A.P.)	1607-977	MSC	166	7	99,4	32,4	12,8
Teor alcoólico (%)	3057-2864 + 2236-1920 + 1292-663	1stDer	140	2	97,2	0,37	6,0
1-Butanol (g/hL PA)	3998-3638 +1839-758	1stDer+MSC	94	7	96,8	0,092	5,6
2-Butanol (g/hL PA)	3100-2495 +1283-681	1stDer+MSC	52	5	91,0	1,58	3,4
1-Propanol (g/hL PA)	2450-2198+1839-758	1stDer+SLS	94	7	97,4	1,65	6,2
Acetato de etilo (g/hL PA)	2919-2558+1839-1118	SLS	95	7	97,1	24,3	5,9
Acetaldeído (g/hL PA)	3998-3638+1839-758	MSC	95	8	98,2	10,4	7,5
2-Methyl-1-propanol (g/hL PA)	3998-3638 +2919-758	MSC	99	8	95,7	3,56	4,9
2+3-Methyl-1-butanol (g/hL PA)	3998-3638 +2919-758	2ndDer	83	9	94,1	10,7	4,1

MSC - Correção multiplicativa de dispersão; 1stDer – Primeira derivada; 1stDer+MSC - Primeira derivada + Correção multiplicativa de dispersão; 1stDer+SLS - Primeira derivada + Correção da linha de base; SLS - Correção da linha de base; 2ndDer – Segunda derivada; N – número de amostras; Rk – número de componentes principais; r² – coeficiente de determinação; RMSECV - erro quadrático médio da validação cruzada; RPD - desvio residual de previsão.

Em relação às vantagens desta metodologia temos a referir o ganho de tempo. Segundo o método clássico são necessários cerca de 3 dias de trabalho para efetuar as referidas análises enquanto no método utilizando os modelos de calibração em FTIRATR serão necessários apenas 15 minutos contando com os tempos de preparação dos equipamentos para análise. É de referir ainda que no método clássico, os equipamentos afetos às determinações são mais dispendiosos que o espectrómetro FTIRATR.

Quanto aos consumos de reagentes, para os métodos clássico necessitamos dos padrões para GC e de vários reagentes nomeadamente etanol e metanol. A manipulação destes reagentes requer muito cuidado devido aos níveis de toxicidade de alguns deles e geram resíduos ambientalmente problemáticos e que necessitam de tratamento apropriado. No caso das medições em FTIRATR esses problemas não se colocam pelo facto de não ser necessário qualquer reagente para análise ou preparação de amostra.

4. CONCLUSÕES

A metodologia apresentada para avaliação do teor alcoólico e concentração de metanol,

acetaldeído e álcoois superiores em aguardentes víquicas e bagaceiras com e sem envelhecimento é válida e robusta.

Os valores do desvio residual de previsão (RPD) estão compreendidos entre 3,4 e 12,8 garantindo que a maioria dos modelos pode ser usada em laboratórios de controle de qualidade.

Para o 2 butanol, e dado que muitas das amostras analisadas apresentavam concentração inferior ao limite de quantificação, serão necessários mais ensaios para conseguir modelos mais robustos.

Esta técnica tem a grande vantagem de não necessitar de reagentes poluentes e de o tempo de análises ser extramente inferior ao necessário com os métodos clássicos.

REFERÊNCIAS

- ANJOS, O., CAMPOS, M. G., RUIZ, P. C., & ANTUNES, P. (2015). Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. *Food Chemistry*, 169, 218–223. doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.138
- ANJOS, O., SANTOS, A.J.A., ESTEVINHO, M.L., CALDEIRA, I. (2016). FTIRATR spectroscopy applied to quality control of grape-derived spirits. *Food Chemistry*, in press.
- BLANCO, M. & VILLAROYA, I. (2002). NIR spectroscopy: a rapid response analytical tool. *Trends in Analytical Chemistry*, 21, 240250.
- BRERETON, R. G. (2003). *Chemometrics. Data analysis for the laboratory and chemical plant*, Wiley & Sons. Chichester.
- COLDEA, T. E., SOCACIU, C., FETEA, F., RANGA, F., POP, R. M., & FLOREA, M. (2013). Rapid Quantitative Analysis of Ethanol and Prediction of Methanol Content in Traditional Fruit Brandies from Romania, using FTIR Spectroscopy and Chemometrics. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 143–149.
- CORDELLA, C., MOUSSA, I., MARTEL, A.C., SBIRRAZZUOLI, N., & LIZZANI, GOUVINHAS, I., DE ALMEIDA, J. M. M. M., CARVALHO, T., MACHADO, N., & LACHENMEIER, D. W. (2007). Rapid quality control of spirit drinks and beer using multivariate data analysis of Fourier transform infrared spectra. *Food Chemistry*, 101(2), 825–832.
- LUÍS, A., MOTA, D., ANJOS, O., CALDEIRA, I. (2011). Single laboratory validation of determination of acetaldehyde, ethyl acetate, methanol and fusel alcohols in wine spirits, brandies and grape marc spirits using GC/FID. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 26(2), 69–76.
- NAGARAJAN, R., GUPTA, A., MEHROTRA, R., & BAJAJ, M. M. (2006). Quantitative analysis of alcohol, sugar, and tartaric Acid in alcoholic beverages using attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry*, 2006, 45102.
- OIV (2014). *Compendium of International Methods of Spirituous Beverages of Vitivinicultural Origin*. OIV, Paris.
- PALMA, M. (2002). Application of FTIR spectroscopy to the characterisation and classification of wines, brandies and other distilled drinks. *Talanta*, 58(2), 265–271. doi:10.1016/S00399140(02)002448
- SHURVELL, H. F. (2001). *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. (John Wiley & Sons, Ed.). New York, NY, USA.
- VERSARI A., LAURIE V. F., RICCI A., LAGHI L., PARPINELLO G. P., 2014. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches. *Food Research International*, 60:218.