

9º SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO

15-16-17 MAIO
ÉVORA - PORTUGAL

LIVRO DE ATAS
VOLUME 1

2013



ESTABILIZAÇÃO PROTEICA DE VINHOS BRANCOS POR ADIÇÃO DE MANOPROTEÍNAS E IMPACTO NA QUALIDADE

Tânia RIBEIRO¹; Conceição FERNANDES¹; Fernando M. NUNES²; Luís FILIPE-RIBEIRO³; Fernanda COSME³

RESUMO

As proteínas, embora em reduzida concentração no vinho branco, podem ser fatores de instabilidade, e podem afetar a limpidez e/ou originar depósitos amorfos. Para prevenir a instabilidade proteica é tradicionalmente efetuada a colagem dos vinhos brancos com bentonite. Contudo, esta cola inorgânica apresenta algumas limitações, particularmente quando aplicada em doses elevadas. Neste contexto, foram avaliadas várias manoproteínas comerciais para a estabilização proteica dos vinhos, como possíveis alternativas à bentonite. Para o efeito caracterizaram-se onze manoproteínas, quanto à sua composição proteica e em açúcares. A sua eficácia foi avaliada relativamente ao seu potencial de estabilização proteica, bem como ao seu efeito no potencial de acastanhamento, composição fenólica e nas características sensoriais do vinho.

Palavras-chave: vinho branco; estabilidade proteica; manoproteínas; bentonite; composição fenólica, características sensoriais.

1 - INTRODUÇÃO

No vinho branco a instabilidade proteica é considerada um defeito que pode conduzir à rejeição do produto (RIBÉREAU-GAYNON *et al.* 2006; SAUVAGE *et al.* 2010). A desnaturação e consequente precipitação das proteínas instáveis presentes no vinho, podem originar turvação ou formação de depósitos amorfos após o engarrafamento (WATERS *et al.* 2005). A concentração de proteínas, assim como a composição das fracções proteicas, dependem da casta, condições climáticas, estado de maturação das uvas e pro-

¹Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária (CIMO-ESAB) Instituto Politécnico de Bragança, Portugal. email: conceicao.fernandes@ipb.pt

²Centro de Química de Vila Real (CQ-UTAD) Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. 5001-801 Vila Real, Portugal. email: fnues@utad.pt

³Instituto de Bioengenharia e Biotecnologia, Centro de Genómica e Biotecnologia, (IBB/CGB-UTAD) Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Edifício de Enologia, 5001-801 Vila Real, Portugal. email: fcosme@utad.pt; fmota@utad.pt

cesso de vinificação (PASHOVA *et al.* 2004; SAUVAGE *et al.* 2010). A colagem com bentonite é o processo mais comum na remoção de proteínas do vinho, porém a sua eficiência depende do tipo de bentonite, dose adicionada, composição do vinho em proteínas, temperatura e pH (RIBÉREAU-GAYNON *et al.* 2006). Pelo facto de a bentonite não apresentar especificidade para as proteínas instáveis do vinho (LAMBRI *et al.* 2010), a sua utilização pode conduzir a consequências indesejáveis, como remoção de moléculas relacionadas com a cor, aroma e sabor, modificando as características sensoriais (HØJ *et al.* 2000). Assim, têm sido estudadas alternativas, como por exemplo a aplicação de manoproteínas (GONZALEZ-RAMOS *et al.* 2008) que quando usadas como estabilizantes, podem prevenir a turvação (GONZALEZ-RAMOS *et al.* 2006) e eventualmente melhorar as características sensoriais do vinho (ESCOT *et al.* 2001).

O principal objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes manoproteínas, comparativamente à bentonite, na estabilização proteica e na qualidade final do vinho, nomeadamente na composição fenólica, características cromáticas e sensoriais em vinho branco.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Vinho

Foi usado um vinho branco da região Demarcada do Douro, da colheita de 2011, com as seguintes características físico-químicas: teor alcoólico 14,2 % (v/v); massa volúmica (20°C) 0,9890 g/cm³; acidez total 5,5 g/L (em ácido tartárico); pH 3,29, acidez volátil 0,31 g/L (em ácido acético) e o teste de estabilidade proteica (teste do calor 80 °C, 30 minutos, vinho instável se Δ NTU > 2 NTU), o vinho apresentou-se instável com 7,1 NTU.

2.2 - Ensaio de estabilidade proteica

Foram testadas onze manoproteínas (NS, VP, BM, Mb, B150, BB, NF, B20, PG, V, BA) diferentes quanto ao peso molecular e processo de extração, e uma bentonite (M –cálcica ativada). As 11 manoproteínas, foram aplicadas na dose máxima recomendada pelo fabricante e no caso da bentonite aplicou-se a dose média. As manoproteínas e a bentonite foram preparadas de acordo com as especificações dos fabricantes. Os ensaios de cola-

gem foram conduzidos em 375 mL de vinho à temperatura de 20 °C durante 7 dias. Todos os ensaios foram efetuados em duplicado.

2.3 - Caracterização das manoproteínas

A análise qualitativa e quantitativa em açúcares foi realizada por cromatografia de troca iónica com deteção amperométrica por pulsos, após hidrólise ácida. A concentração de proteína total foi determinada pelo método de Kjeldahl. Todas as análises foram realizadas em duplicado.

2.4 - Métodos analíticos

O teor alcoólico, a massa volúmica, a acidez total, a acidez volátil e o pH foram determinados num FTIR Baccus. A estabilidade proteica foi avaliada pelo teste do calor (RIBÉREAU-GAYON e PEYNAUD 1961). O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado pela medição da absorvância a 280 nm (RIBÉREAU-GAYNON *et al.* 2006). O potencial de acastanhamento foi determinado de acordo com SINGLETON e KRAM-LING (1976). As características cromáticas foram determinadas de acordo com os métodos da OIV (2012). Todas as análises foram realizadas em duplicado.

2.5 - Análise sensorial

A análise sensorial dos vinhos foi realizada por um painel de provadores treinados, tendo sido seleccionados quinze atributos: aspecto (limpidez, cor), aroma (intensidade aromática, frutado, floral, vegetal, oxidado, químico) e sabor (doçura, acidez, amargo, intensidade gustativa, volume gustativa, equilíbrio gustativo, persistência). Estes atributos foram quantificados através de uma escala de intensidade de dez pontos (ISO 4121, 2003).

2.6 - Análise estatística

Realizou-se uma análise de variância (ANOVA) aos dados físico-químicos e sensoriais, utilizando o programa Statistica versão 6. As diferenças entre os valores médios foram efetuadas com o teste Tukey ($p < 0,05$) para os dados das análises físico-químicas e com o teste de Duncan ($p < 0,05$) para os dados da análise sensorial.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Efeito da aplicação de manoproteínas na estabilidade proteica de vinhos

A estabilidade proteica dos vinhos aos quais foi adicionado bentonite e diferentes tipos de manoproteínas foi avaliada pelo teste do calor (Quadro 1).

Quadro-1-Teste de estabilidade proteica pelo calor aplicado ao vinho branco e volume de borras, após o tratamento com manoproteínas e bentonite.

	Controlo	Teste do calor		Volume de borra
		C	i	
Bentonite	M	s		0
	NS	s		++
	VP	s		-
	BM	s		-
	Mb	s		-
	B150	i		-
	BB	s		-
	NF	s		-
	B20	s		-
	PG	i		-
Manoproteínas	V	s		-
	BA	s		-

Testes de estabilidade: instável (i), estável (s). Volume de borras: inexistente (0); reduzido (-); médio (+); elevado (++)

Como esperado, a bentonite foi eficaz na remoção das proteínas instáveis do vinho. Também nove das onze manoproteínas testadas se mostraram eficientes na estabilização proteica do vinho. O volume de borras produzido pela aplicação da bentonite foi marcadamente superior ao resultante da aplicação das manoproteínas, o que implica potencialmente uma menor perda de vinho (Quadro 1).

3.2 – Caracterização das manoproteínas

Para compreender a relação entre a composição das manoproteínas e o seu efeito na estabilização proteica, estas foram caracterizadas quanto ao teor em açúcares totais, manose e glucose e proteína total (Figura 1).

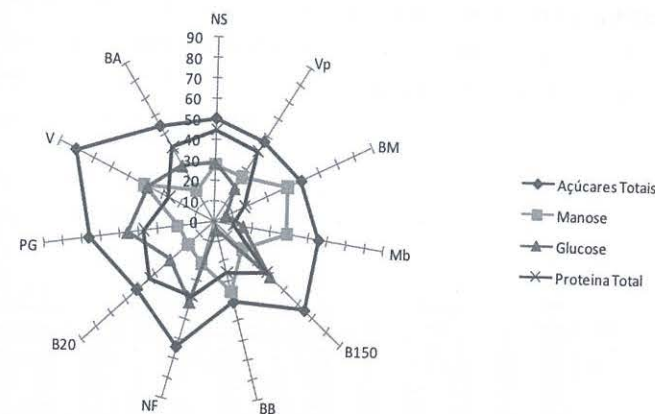


Figura - 1 Composição em açúcares totais, manose, glucose e proteína total (g/100 g) das manoproteínas testadas neste estudo. Manoproteínas (NS, VP, BM, Mb, B150, BB, NF, B20, PG, V, BA).

Os resultados obtidos sugerem que as manoproteínas mais eficazes na estabilização proteica dos vinhos são as que possuem uma maior concentração em manose e menor concentração de proteína total (Quadro 1).

3.3 – Efeito da aplicação da bentonite e das manoproteínas no índice de polifenóis totais e potencial de acastanhamento do vinho branco

Os resultados indicam que a bentonite testada não induz alterações significativas ($p > 0,05$) no índice de polifenóis totais, porém algumas manoproteínas provocaram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) (Figura 2).

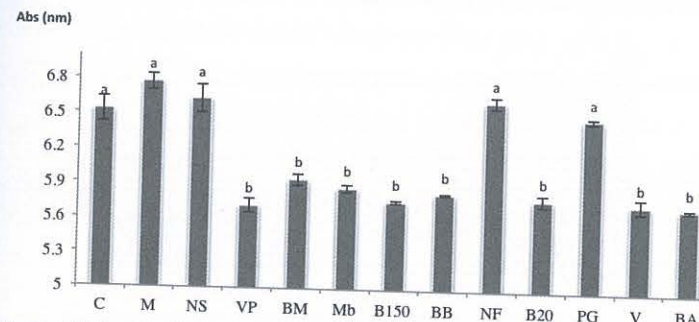


Figura - 2 Índice de polifenóis totais do vinho branco após a aplicação da bentonite e das manoproteínas.

Controlo (C), bentonite (M), manoproteínas (NS, VP, BM, Mb, B150, BB, NF, B20, PG, V, BA). Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes ($p < 0,05$) para o parâmetro avaliado (teste Tukey).

Os resultados obtidos para o potencial de acastanhamento mostraram um decréscimo após a aplicação de bentonite; o mesmo se verifica após a aplicação de manoproteínas, principalmente da NF e B20 (Figura 3).

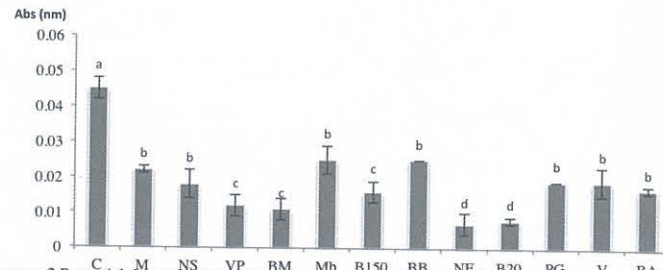


Figura - 3 Potencial de acastanhamento do vinho branco após a aplicação da bentonite e das manoproteínas. Controlo (C), bentonite (M), manoproteínas (NS, VP, BM, Mb, B150, BB, NF, B20, PG, V, BA). Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes ($p < 0.05$) para o parâmetro avaliado (teste Tukey).

3.4 – Efeito da aplicação da bentonite e das manoproteínas na variação da cor do vinho branco

Após aplicação do sistema CIELab, foi possível calcular a variação da cor (ΔE^*) dos vinhos tratados relativamente ao vinho sem tratamento. A variação da cor (ΔE^*) é a média geométrica de ΔL^* , Δa^* e Δb^* , esta pode ser visualmente discriminada pelo olho humano quando apresenta valores superiores a 2 unidades CIELab. Comparando os vinhos entre si, é possível verificar que os valores de ΔE^* mais elevados foram obtidos apenas para o vinho tratado com a manoproteína VP (Figura 4).

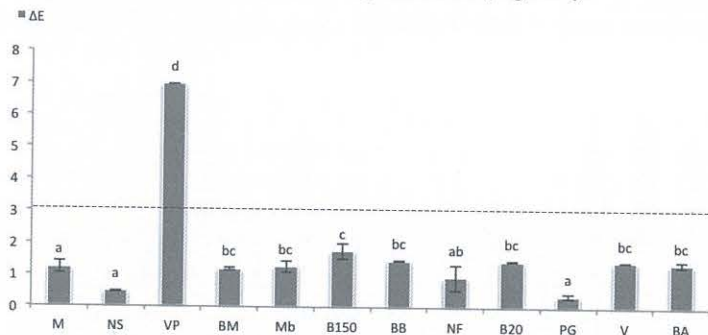


Figura - 2 Variação da cor do vinho branco após aplicação da bentonite e das manoproteínas.

Bentonite (M), manoproteínas (NS, VP, BM, Mb, B150, BB, NF, B20, PG, V, BA). Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes ($p < 0.05$) para o parâmetro avaliado (teste Tukey).

3.5 – Avaliação sensorial

Após análise sensorial do vinho submetido a diferentes tratamentos não se verificaram diferenças significativas (Quadro 2), contudo verifica-se uma maior pontuação total atribuída a alguns vinhos onde foram aplicadas manoproteínas.

Quadro-2 – Pontuações atribuídas a cada descritor após a análise sensorial dos vinhos antes e depois do tratamento com bentonite e manoproteínas (média \pm DP).

Descritores	Bentonite						Manoproteínas						
	C	M	NS	VP	BM	Mb	B150	BB	NF	B20	PG	V	BA
Cor	7 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*	8 \pm 2*
Limpidez	7 \pm 3*	8 \pm 2*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*	7 \pm 3*
Intensidade	7 \pm 2*	6 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	7 \pm 1*	7 \pm 1*	7 \pm 1*	7 \pm 1*	7 \pm 1*	6 \pm 1*
Aromática	7 \pm 2*	5 \pm 1*	6 \pm 2*	6 \pm 2*	6 \pm 2*	5 \pm 2*	6 \pm 1*	5 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	5 \pm 2*	6 \pm 1*
Frutado	5 \pm 2*	4 \pm 1*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	6 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	5 \pm 2*	6 \pm 1*
Floral	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 3*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	2 \pm 2*	2 \pm 2*	3 \pm 2*	2 \pm 2*
Vegetal	2 \pm 2*	2 \pm 2*	2 \pm 1*	2 \pm 2*	2 \pm 2*	2 \pm 2*	2 \pm 2*	2 \pm 2*	3 \pm 3*	2 \pm 2*	3 \pm 3*	3 \pm 2*	2 \pm 2*
Oxidado	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 3*	2 \pm 2*	3 \pm 2*	2 \pm 2*	2 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	2 \pm 2*
Químico	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	4 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*	5 \pm 2*
Doçura	7 \pm 1*	6 \pm 2*	7 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 2*	6 \pm 2*	6 \pm 2*	7 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 2*	5 \pm 2*
Acidez	4 \pm 2*	3 \pm 1*	3 \pm 1*	3 \pm 1*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 1*
Amargo	6 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	5 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	7 \pm 1*
Intensidade Gustativa	4 \pm 2*	3 \pm 1*	3 \pm 1*	3 \pm 1*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 2*	3 \pm 1*
Volume Gustativo	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	5 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	7 \pm 1*
Equilíbrio Gustativo	6 \pm 1 ^{abc}	6 \pm 1 ^{abc}	6 \pm 1 ^{abc}	7 \pm 1*	7 \pm 1*	6 \pm 1 ^{abc}	6 \pm 1 ^{abc}	6 \pm 1 ^{abc}	6 \pm 1 ^{abc}	6 \pm 1 ^{abc}	7 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 2*
Persistência	6 \pm 2*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	7 \pm 1*	7 \pm 1*	6 \pm 1*	6 \pm 1*	7 \pm 1*
Total	81	77	80	80	78	76	76	80	82	79	80	79	79

Controlo (C), bentonite (M), manoproteínas (NS, VP, BM, Mb, B150, BB, NF, B20, PG, V, BA). Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes ($p < 0.05$) para o descritor avaliado (teste de Duncan).

4 - CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a eficácia da bentonite na estabilidade proteica dos vinhos. Por outro lado, as manoproteínas também demonstraram uma influência positiva na estabilização proteica do vinho. Ao nível sensorial não se verificaram diferenças significativas ($p < 0.05$), à exceção do descritor equilíbrio gustativo, onde os vinhos estabilizados com as manoproteínas foram mais pontuados quanto aos descritores frutado e floral. As manoproteínas parecem poder ser uma alternativa eficaz ou um complemento ao método tradicional (colagem com bentonite), porém, convém salientar que estes resultados devem ser encarados como preliminares, sendo necessário realizar mais estudos com outros tipos de vinhos.

5 - AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi parcialmente financiado pela Unidade de Microbiologia e Biotecnologia do Vinho IBB/CGB-UTAD. Agradecimentos adicionais para a SAI, AEB Bioquímica Portuguesa, S. A e Enartis pelo fornecimento de agentes de colagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ESCOT S., FEULLIAT M., DULAU L., CHARPENTIER C. (2001). Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 153–159.
- GONZALEZ-RAMOS D., CEBOLLERO E., GONZALEZ R. (2008). A recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain overproducing mannoproteins stabilizes wine against proteins haze. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 5533–5540.
- GONZALEZ-RAMOS D., GONZALEZ R. (2006). Genetic determinants of the release of mannoproteins of enological interest by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9411–9416.
- HØJ P.B., TATTERSALL D.B., ADAMS K., POCOCK K.F., HAYASAKA Y., VAN HEESWIJCK R., WATERS E. (2000) The ‘haze proteins’ of wine – a summary of properties, factors affecting their accumulation in grapes, and the amount of bentonite required for their removal from wine. *Proceedings of ASEV 50th Anniversary Meeting*, Seattle, Washington, USA. *American Society of Enology and Viticulture*: Davis, California pp. 149–154.
- ISO 4121, 2003, Retrieved November 20, 2008 from <http://www.iso.org/iso/catalogue>.
- LAMBRI M., DORDONI R., SILVA A., FAVERI D.M. (2010). Effect of bentonite fining on odor-active compounds in two different white wine styles. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61, 225–233.
- OIV (Organisation International de la Vigne et du Vin). (2012). *Récueil de Méthodes Internationales d'Analyse des Vins et des Moûts*. Edition Officielle. Paris.
- PASHOVA V., GUELL C., LÓPEZ F. (2004). White wine continuous protein stabilization by Packed Column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1558–1563.
- RIBÉREAU-GAYON P., GLORIES Y., MAUJEAN A., DUBOURDIEU D. (2006). *Handbook of Enology. Volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments*. John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 1–426.
- RIBÉREAU-GAYONJ., PEYNAUD E. (1961). *Traité d'oenologie*. Vol II. Berauges, Paris.
- SAUVAGE F.X., BACH B., MOUTONET M., VERNHET A. (2010). Proteins in white wines: thermo-sensitivity and differential adsorption by bentonite. *Food Chemistry*, 118, 26–34.
- SINGLETON V.L., KRAMLING T.E. (1976). Browning of white wines and accelerated test for browning capacity. *American Journal of Enology and Viticulture*., 27, 157–160.
- WATERS E.J., ALEXANDER G., MUHLACK R., POCOCK K. F., COLBY C., O'NEILL B.K., HØJ P.B., JONES, P. (2005). Preventing protein haze in bottled white wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, 215–225.