

INFLUÊNCIA DA DEFECAÇÃO E DO USO DE BENTONITE NO TEOR EM COLÓIDES POLISSACARÍDICOS E PROTEÍCOS DE VINHOS BRANCOS

ILDA M. J. CALDEIRA e A. PEDRO BELCHIOR

Estação Vitivinícola Nacional, Dois Portos, 2575 Runa, Portugal

RESUMO

Avaliou-se o efeito da defecação estática e da adição de bentonite aos mostos, na estabilização coloidal de vinhos brancos. Para tal procedeu-se ao doseamento dos coloides solúveis totais, glucanas, proteínas, volume máximo filtrado-Vmax e turbidância dos vinhos ensaiados, e à análise estatística dos resultados. Estes evidenciaram a importância daquelas operações pré-fermentativas na clarificação e estabilização dos vinhos.

INTRODUÇÃO

A defecação dos mostos brancos e a adição de bentonite são duas operações correntes na tecnologia de fabrico dos vinhos brancos. A primeira realiza-se com o objectivo de eliminar as partículas em suspensão nos mostos, possibilitando uma melhoria na qualidade dos vinhos, e a segunda para reduzir os teores de proteínas dos vinhos. Os coloides polissacarídicos e proteicos provêm fundamentalmente das uvas e das leveduras. No entanto, nos vinhos obtidos de uvas atacadas de podridão poder-se-á encontrar uma glucana (em β -1,6 e com ramificações em β ,1-3) e outros heteropolissacáridos segregados pelos fungos da podridão, tendo sido particularmente estudada a glucana de *Botrytis cinerea* por Dubourdieu (1978 e 1982) e San Romão (1987) iniciou a caracterização dos heteropolissacáridos segregados por *Mucor*, *Penicilium* e *Botrytis*.

O interesse do estudo dos coloides polissacarídicos resulta da acção determinante que desempenham na estabilização. Com efeito, os coloides polissacarídicos dificultam o processo de

clarificação natural dos vinhos e reduzem, devido ao seu elevado poder colmatante, o rendimento da filtração, o que também pode ocorrer, embora em menor escala, com os coloides proteicos, que em teores elevados poderão originar a «casse proteica».

O estudo prévio dos métodos de doseamento dos coloides (Caldeira, 1989) tornou possível a sua aplicação a este trabalho.

Assim, pretendeu-se avaliar, num primeiro estudo em vinhos portugueses, qual o efeito da defecação estática dos mostos (com utilização de baixas temperaturas e de sulfuroso) e da adição de bentonite, no teor em coloides dos vinhos obtidos, assim como no grau de clarificação e estabilização dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio realizados

Na vindima de 1987, efectuou-se um ensaio de microvinificação (volume — 20 dm^3) com um mosto de uvas brancas (mistura de castas da vinha da EVN), previamente sulfitado (100 mg.dm^{-3}), tendo em conta que o mesmo provinha de uvas atacadas de podridão.

O ensaio considerou as seguintes modalidades:

- tipo de defecação: defecação pelo frio (24 horas a 0°C) e a defecação pelo sulfuroso (adição de 200 mg.dm^{-3});
- bentonite — sem adição e com adição de 1 g.dm^{-3} após defecação;
- temperatura de fermentação: 15°C e 22°C .

Todos os vinhos foram inoculados com uma levedura da coleção da EVN (2% de inóculo).

Com o objectivo de confirmar os resultados obtidos em 87, realizaram-se em 1988 dois novos ensaios: um com mosto de uvas brancas sãs (casta Alicante), onde se ensaiou os dois processos de defecação do ensaio de 1987; outro obtido de uvas atacadas de podridão (mistura de várias castas), com a modalidade de emprego de bentonite nas doses de 0, 0.5 e 1 g.dm^{-3} .

Os mostos e vinhos serão designados por códigos com os seguintes significados:

- M — mosto;
B — presença de bentonite (1 g.dm^{-3}) [ensaio de 87];
P — proveniência de uvas com podridão;
F — defecação pelo frio;
S — defecação pelo sulfuroso;
15, 22 — temperaturas de fermentação ($^{\circ}\text{C}$);
0, 0.5 e 1 — dose de bentonite (g.dm^{-3}) [ensaio 1988];
T — vinho testemunha, obtido de mosto não defecado, não tratado com bentonite e que fermentou a 22°C .

Métodos analíticos

Coloides solúveis totais — método gravimétrico, após separação dos coloides por precipitação com etanol (Usseglio-Tomasset, 1976) tendo-se utilizado a liofilização dos precipitados (Caldeira, 1989).

Glucanas — método gravimétrico, após separação das glucanas pelo etanol (Dubourdieu, 1978).

Proteínas — método descrito por Caldeira (1989) utilizando a precipitação das proteínas segundo Datounachvili e Pavlenko (1970) e o seu doseamento colorimétrico segundo Harris (1987).

Volume máximo — *Vmax* — método volumétrico, após filtração sobre membranas de $0,45 \mu\text{m}$ (Mourgues e Benard, 1982).

Turbidância — avaliada por espectrofotometria a 650 nm , em percurso óptico de 10 mm .

Teste de estabilidade proteica — aquecimento do vinho a 80°C durante 30 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das determinações efectuadas aos vinhos de 1987 são apresentados no Quadro I.

Efectuou-se a análise de variância (Quadro II) e a comparação estatística das médias, dos valores de coloides solúveis totais, glucanas, proteínas e *Vmax* obtidos nos vinhos de 1987.

Verificou-se que a temperatura não teve efeito sobre o teor de coloides solúveis totais, glucanas e proteínas.

QUADRO I

Resultados das determinações efectuadas aos vinhos do ensaio de 1987
Résultats des déterminations réalisés sur les vins de l'essai de 1987

	VINHOS									
	F15	F22	S15	S22	FB15	FB22	SB15	SB22	T	
Coloides solúveis totais (mg.dm ⁻³)	288,4	276,1	701,3	471,1	225,2	311,3	367,2	330,0	356,7	
Glucanas (mg.dm ⁻³)	131,7	110,5	112,5	152,5	54,1	45,2	81,6	65,2	73,8	
Proteína (mg BSA.dm ⁻³)	90,5	94,6	119,2	106,6	0	0	0	0	154,4	
Vmax (cm ³)	37,4	36,3	34,4	38,6	57,2	64,1	44,3	45,4	272,6	
Turbidância	0,0725	0,0825	0,088	0,078	0,055	0,0475	0,055	0,0515	0,083	
Teste de estabilidade proteica	—	—	—	—	+	+	+	+	—	

QUADRO II

Resultados da análise de variância efectuada aos valores de: colóides totais, glucanas, proteínas e Vmax dos vinhos de 1987

GL — Graus de liberdade; VR — Variância residual; * — significativo; ** — altamente significativo

Resultats de l'analyse de la variance realisé sur les valeurs de: colloides solubles totaux, glucanes, protéines et Vmax des vins de 1987

GL — Degrés de liberté; VR — Variance residual; * — significative; ** — hautement significative

	Colóides solúveis totais		Glucana		Proteínas		Vmax	
	GL	VR	GL	VR	GL	VR	GL	VR
Defecação	1	17.37**	1	5.57*	1	98.44**	1	82.82**
Bentonite	1	7.45*	1	77.54**	1	10024.00**	1	328.70**
Temperatura	1	1.10	1	0.06	1	4.21	1	9.72*
Def. × Bent.	1	5.88*	1	0.70	1	98.44	1	75.30**
Def. × Temp.	1	3.43	1	3.28	1	16.50**	1	0.01
Bent. × Temp.	1	2.50	1	2.10	1	4.21	1	1.95
Def. × Bent. × Temp.	1	0.26	1	5.35	1	16.50	1	9.72
Erro	8		8		24		8	
Total	15		15		31		15	

NOTA: *f0.05(1,8) = 5.32

*f0.05(1,24) = 4.26

**f0.01(1,8) = 11.26

**f0.01(1,24) = 7.82

Relativamente à defecação constatou-se que:

- os mostos defecados pelo frio deram origem a vinhos com menores teores em colóides totais, no entanto este efeito só se mostrou altamente significativo nos vinhos sem bentonite;
- a defecação pelo frio deu origem a vinhos mais pobres em proteínas e em glucanas do que a defecação pelo sulfuroso, sendo este último efeito significativo, apenas nos vinhos que foram tratados com bentonite.

Com o objectivo de esclarecer um pouco mais o efeito da defecação sobre o teor de colóides solúveis totais, realizou-se, em 1988, um novo ensaio cujos resultados se apresentam no Quadro III.

QUADRO III

Teor de colóides solúveis totais do mosto, obtido de uvas sãs (ensaio 1—1988), antes e após defecação

Teneur en colloïdes solubles totaux du moût, obtenu de raisins sains (essai 1—1988), avant et après le débourage

	Colóides totais (mgdm ⁻³)	Varição do teor em colóides totais (%)
Mosto inicial	873.50	—
Mosto def. p/ frio	775.84	11.18
Mosto def. p/ SO ₂	623.42	28.63

A defecação estática, quer pelo frio, quer pelo sulfuroso, reduziu o teor de colóides totais do mosto. Resultados semelhantes tinham sido encontrados, em vinhos franceses, por Gaillard (1977) e Gizy (1984). No entanto, e em contradição aparente com os resultados do ano de 1987, foi a defecação pelo sulfuroso que provocou um maior decréscimo do teor de colóides totais do mosto. Dado que não se dispunha de informação sobre o teor de colóides totais dos mostos do ensaio de 1987, colocaram-se duas hipóteses para explicar essa contradição: em 1987 a defecação teve um efeito diferente na redução do teor de colóides totais relativamente ao ano de 1988, devido

à composição coloidal dos mostos iniciais serem diferentes; ou a defecação teve efeito idêntico ao que ocorreu no ano de 1988, mas durante a fermentação alcoólica a produção de coloides, pelas leveduras, foi maior nos vinhos defecados pelo sulfuroso.

Tendo em conta que as gomas, de acordo com Usseglio-Tomasset (1976), não sofrem grandes transformações durante a defecação, a diminuição dos coloides totais, será devida em grande parte a uma degradação das substâncias pécnicas, por acção das enzimas pectolíticas. Estas enzimas, de acordo com Ribéreau-Gayon *et al.* (1976), têm um intervalo óptimo de temperatura entre 35° C e 50° C, apresentando, abaixo de 10° C, uma actividade muito reduzida; não são influenciadas pelo SO₂, sendo necessários teores muito elevados para inibirem a sua actividade (> 300 mg.dm⁻³). Assim, esta actividade é mais afectada pelas baixas temperaturas do que pelo teor de sulfuroso, donde será de esperar uma maior degradação das pectinas, nos mostos defecados pelo sulfuroso. Em face do que se afirmou anteriormente e em face dos resultados obtidos por Charpentier e Feuillat (1988), os quais constataram que nos mostos mais empobrecidos em coloides totais a libertação de coloides pelas leveduras era maior, parece-nos mais provável a segunda hipótese.

Perante estes resultados, que devem ser testados em mais vinhos, pois a amostragem efectuada neste trabalho foi muito restrita, a defecação confirma-se como uma operação que, para além de originar vinhos mais frescos, com aroma frutado mais nítido, cor mais clara e com teores de ferro mais baixos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976), apresenta ainda a vantagem de reduzir o teor de coloides totais. No entanto, essa redução de coloides não deverá ser excessiva, pois poderá provocar uma perda de fermentiscibilidade (Olivier *et al.*, 1987), além de poder induzir a uma maior produção de coloides por parte das leveduras (Charpentier e Feuillat, 1988).

A adição de bentonite confirma-se como uma boa prática para evitar a «casse proteica», efeito referido por vários investigadores (Ferenczy, 1966; Feuillat, 1987; Hsu e Heatherbell, 1987; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976 e 1977). De facto, todos os vinhos tratados com bentonite apresentaram-se sem proteínas e estáveis relativamente às mesmas. Para além disso, a adição de bentonite aos mostos defecados, reduziu significativamente

o teor em coloides totais dos vinhos obtidos, mas este efeito foi apenas altamente significativo nos vinhos defecados pelo sulfuroso. Por outro lado, também as glucanas se apresentaram com menores teores nos vinhos obtidos de mostos tratados com bentonite, relativamente aos vinhos obtidos de mostos não tratados. O segundo ensaio realizado em 1988, cujos resultados são apresentados no Quadro IV, confirmam o efeito da bentonite na redução do teor de glucanas. Quando se comparam as médias, verificou-se que são significativamente diferentes os vinhos P0 e P1, P0 e P0.5, não se diferenciando os vinhos P0.5 e P1.

QUADRO IV

Teor de glucanas do mosto — MP, obtido de uvas atacadas de podridão (ensaio 2, de 1988) e de três vinhos dele obtidos: P0, P0.5 e P1

Teneur en glucanes du moût — MP, obtenu de raisins attequés de pourriture (essai 2, de 1988) et de trois vins — P0, P0.5, P1 — obtenus à partir de MP

	Glucanas (mgdm ⁻³)
MP	255.55
P0	214.72
P0.5	178.28
P1	192.61

O Vmax apresentou-se como uma variável influenciada pelos três factores ensaiados. Os mostos tratados com bentonite, de acordo com o que os resultados anteriores fariam prever, originaram vinhos com menor poder colmatante (maior Vmax) do que os não tratados, sendo este efeito altamente significativo. O mesmo se passou com a defecação pelo frio que originou vinhos com maior Vmax (menor poder colmatante), sendo este efeito apenas significativo no caso dos vinhos sem bentonite.

A temperatura influenciou significativamente o Vmax, verificando-se que os vinhos que fermentaram à temperatura de 22° C apresentavam, nalguns casos, valores mais elevados de Vmax, do que os que fermentaram a 15° C.

A bentonite afectou também, de forma evidente, a limpidez dos vinhos, verificando-se que à sua presença corresponderam valores de turbidância mais baixos, ou seja vinhos mais límpidos.

Um caso interessante foi o vinho testemunha que apresentou o valor mais elevado de V_{max} , e um teor de coloides totais e de glucanas inferior ao de alguns dos outros vinhos.

CONCLUSÕES

A adição de bentonite aos mostos de uvas brancas, atacadas de podridão, provocou um decréscimo do teor de glucanas dos mesmos, assim como dos respectivos vinhos. Esta prática, para além de se confirmar como um processo eficaz na remoção das proteínas termoinstáveis do vinho, originou vinhos mais pobres em coloides totais, mais filtráveis e mais límpidos.

A defecação estática dos mostos provocou um decréscimo do teor de coloides solúveis totais dos mesmos, sendo este efeito bastante acentuado nos que foram defecados pelo sulfuroso. No entanto, foram os vinhos obtidos de mostos defecados pelo frio, os que apresentavam menor teor em coloides totais. Este tipo de defecação originou também vinhos com menores teores em proteínas e mais filtráveis.

Concluiu-se, assim, da importância destas operações pré-fermentativas na clarificação e estabilização dos vinhos.

RÉSUMÉ

Influence de le débouillage et de l'emploi de la bentonite sur les colloides polysaccharidiques et proteiques des vins blancs

On a étudié l'effect de le débouillage statique et de l'action de la bentonite aux moûts, dans la stabilisation des vins blancs. Pour cela, on a fait le dosage des colloides solubles totaux, des glucanes, des proteines, du volume maximum filtré- V_{max} et de la turbidité et on a réalisé l'analyse statistique des résultats. On a mis en evidence l'importance de ces opérations pré-fermentaires pour la clarification et la stabilisation des vins blancs.

SUMMARY

Effect of must defecation and addition of bentonite on the white wine polysaccharidics and proteic colloids

The effect of must defecation and the addition of bentonite at the musts on the white wine stabilisation was studied. Determinations of totals soluble colloids, glucanes, proteins, filterability (V_{max}), turbidity

and the statistic analysis of results were made. The results were showed the advantages of these operations (defecation et addition of bentonite) to the wine stability.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caldeira, I. M. J.
1989 *Coloides polissacarídicos e proteicos de vinhos brancos. Influência da tecnologia de defecação e de fermentação*. Relatório do Curso de Eng.º Agro-Industrial, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Charpentier, C. e M. Feuillat
1988 Les colloïdes des levures. *In: colloïdes du vin et les techniques modernes de filtration*. 3-Oenologie. 68.º Assenblée Generale du O. I. V., Paris.
- Cordonnier, R.
1956 Étude des protéines et des substances azotées. Leur évolution au cours des traitements oenologiques. Conditions de la stabilité protéique des vins. *Bull. O. I. V.*, **39** (430): 1475-1489.
- Datounachvili, M. E. N. e N. M. Pavlenko
1970 Dosage des proteines. *Feuillet vert*, n.º 380.
- Dubourdieu, D.
1978 *Étude des polysaccharides secrétés par Botrytis cinerea dans la baie de Raisin—Incidence sur les difficultés de clarification des vins de vendanges pourries*. Thèse de Docteur-Ingénieur, Université de Bordeaux, II, Bordeaux.
1982 *Recherches sur les polysaccharides secrétés par Botrytis cinerea dans la baie de raisin*. Thèse de Docteur d'Etat es Sciences, Université de Bordeaux, II, Bordeaux.
- Feuillat, M.
1987 Stabilisation et clarification des vins: aspects colloïdaux. *Revue des Oenologues*, **45**: 7-17.
- Ferenczy, S.
1966 Étude des protéines et des substances azotées. Leur évolution au cours des traitements oenologiques. Conditions de la stabilité protéique des vins. *Bull. O. I. V.*, **39** (429): 1311-1336.
- Gaillard, M.
1977 *Étude des colloïdes glucidiques des mouts et des vins. Relation avec la filtrabilité*. Memoide pour l'obtention de le Diplome National d'Oenologie, Institut d'Oenologie de l'Université de Bordeaux, Bordeaux.
- Gizy, A.
1984 *Contribution à l'étude des colloïdes des vins effervescents*. Thèse de troisième cycle en Nutrition et Alimentation. Université de Dijon, Dijon.
- Harris, D. A.
1987 Spectrophotometric Assays. *In: Harris, D. A. e Bashford, C. L., Spectrophotometry & Spectrofluorimetry. A practical approach*. IRL Press, Oxford.

- Hsu, J.-C. e D. A. Heatherbell
1987 Heat-Unstable Proteins in Wine. I. Characterization and Removal by Bentonite Fining and Heat Treatment. *Am. J. Enol. Vitic.*, **38** (1): 11-16.
- Mourgues, J. e P. Bénard
1982 Effects du chauffage de la vendange sur la solubilisation des polyosides et sur la clarification des moûts, des mutés et des vins. *Sci. Aliments*, **2** (1): 83-98.
- Olivier, Ch.; Th. Stonestreet; F. Larue e D. Dubourdiou
1987 Incidence de la composition colloïdale des moûts blancs sur leur fermentescibilité. *Conn. Vigne Vin*, **21** (1): 59-70.
- Ribéreau-Gayon, J.; E. Peynaud; P. Ribéreau-Gayon e P. Sudraud
1976 *Sciences et Techniques du Vin*. Vol. 3, Vinifications. Transformations du vin. Dunod, Paris.
1977 *Sciences et Techniques du Vin*. Vol. 4, Clarification et stabilisation. Matériels et installations. Dunod, Paris.
- San Romão, M. V. G.
1987 *A influência das uvas no metabolismo das bactérias lácticas. Incidência na fermentação maloláctica do vinho*. Dissertação para obtenção do grau de Doutor, Instituto Nacional de Investigação Agrária — Estação Vitivinícola Nacional.
- Usseglio-Tomasset, L.
1976 Les colloïdes glucidiques solubles des moûts et des vins. *Annali dell'Instituto Sperimentale per Enologia*, **7** (429): 101-136.

