

CONTRIBUIÇÃO DA VARIEDADE E DA FERMENTAÇÃO MALOLÁCTICA PARA O PERFIL EM COMPOSTOS FENÓLICOS DE BAIXA MASSA MOLECULAR DE VINHOS VARIETAIS ALENTEJANOS

Raquel GARCIA¹; Fernando Rei²; Maria João CABRITA²

RESUMO

O presente trabalho teve como objectivo identificar a influência da variedade e o impacto da fermentação maloláctica, no perfil em compostos fenólicos de baixa massa molecular de vinhos varietais do Alentejo.

Para o efeito, foram doseados alguns compostos fenólicos (aldeído protocatéquico e ácidos gálico, protocatéquico, caftárico, vanílico, fertárico, siríngico, cafeico, *p*-coumárico, ferúlico e coutárico) em 81 vinhos varietais produzidos na Adega Experimental da Universidade de Évora, 48 da casta Trincadeira, e os restantes das castas Aragonez, Cabernet Sauvignon, Alfrocheiro, Castelão e Touriga Nacional.

A análise dos dados obtidos, através do método da partição de variância, permitiu identificar a variedade como a variável que mais influência teve no perfil em compostos fenólicos de baixa massa molecular dos vinhos varietais.

Palavras-Chave: vinhos varietais, fermentação maloláctica, compostos fenólicos de baixa massa molecular

1. INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos, metabolitos secundários que se caracterizam por terem um ou mais grupos fenol na sua estrutura, têm grande importância nos vinhos dada a sua contribuição para a cor, sabor e adstringência. Embora presentes em pequenas quantidades, os compostos fenólicos de baixa massa molecular, compostos não-flavonoides, apresentam também um papel importante nas características dos vinhos. Os principais ácidos fenólicos existentes nos vinhos são ácidos hidroxibenzóicos (estrutura em C6-C1) e hidroxicinâmicos (estrutura em C6-C3). Estes últimos existem também na forma de ésteres tartáricos, nomeadamente os ácidos fertárico, coutárico e caftárico, que prevalecem nos vinhos antes da fermentação maloláctica (FML), sendo as suas formas livres, ácidos ferúlico, *p*-coumárico e cafeico, predominantes em vinhos que sofreram a FML (Cabrita et al. 2008).

A tecnologia, nomeadamente a FML, e a variedade de uva são dois factores fundamentais que afectam o teor em compostos fenólicos dos vinhos. Diferentes abordagens estatísticas têm sido utilizadas para avaliar o efeito destes factores no perfil fenólico dos vinhos. No presente trabalho, optou-se por uma abordagem estatística não usual, a partição de

¹ IIFA, Universidade de Évora, Núcleo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal. raquelg@uevora.pt

² Escola de Ciências e Tecnologia Departamento de Fitotecnia, ICAAM, Universidade de Évora, Núcleo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal. frei@uevora.pt; mjbc@uevora.pt

variância, que representa uma opção estatística mais eficiente que uma simples análise em componentes principais.

O método da partição de variância (PV) é um procedimento estatístico que pretende quantificar os efeitos de um conjunto de variáveis explanatórias, que são genericamente variáveis ambientais quando esta análise é utilizada em estudos de Ecologia e ajudam à interpretação de um determinado fenómeno biológico (Borcard et al. 1992, Borcard and Legendre 1994, Liu 1997, Cushman and McGarigal 2002, Vandvik and Birks 2002). O objectivo desta análise é perceber a variabilidade associada às variáveis em estudo e quantificar a contribuição de cada variável explanatória para esta variabilidade num determinado fenómeno biológico (variável de resposta). Em relação a outros métodos não paramétricos, como a análise em componentes principais (PCA), a PV permite recolher muito mais informação sobre os dados originais, nomeadamente a contribuição de cada variável explanatória para a variabilidade associada a um grupo de variáveis de resposta.

Esta abordagem estatística permitiu concluir que a variedade tem, de facto, um papel mais importante do que a FML, no perfil em compostos fenólicos de baixa massa molecular em vinhos tintos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Os vinhos

Neste trabalho foram utilizados vinhos varietais produzidos na Adega experimental da Herdade da Mitra, Universidade de Évora, tendo sido estudados dois grupos: 36 vinhos das castas Trincadeira, Aragonez, Cabernet Sauvignon, Alfrocheiro, Castelão e Touriga Nacional, de 3 anos consecutivos, e 45 vinhos da casta Trincadeira, dos quais 15 realizaram a FML espontaneamente e 30 com adição de bactérias lácticas *Biolact Acclimatée* e *Biolact Acclimatée 4R* da AEB (Brescia, Italy). Em todos os vinhos foram colhidas amostras antes e depois da FML.

2.2. Determinação dos compostos fenólicos de baixo peso molecular

Realizou-se uma extracção líquido-líquido de acordo com o protocolo proposto por Malavaná et al (2001): a 5 mL de vinho com o pH ajustado a 2, adicionaram-se duas vezes 5 mL de éter dietílico, com agitação durante 10 minutos. O extracto orgânico obtido foi evaporado sob corrente de azoto, e o resíduo foi resuspenso em 1mL de metanol-água (1:1, v/v) e filtrado para posterior análise por HPLC.

Uma alíquota de 20 μL de cada extracto foi injectada numa coluna Superpher® 100, C18 (5 μm tamanho de partícula, 250 mm x 4.6 mm diâmetro interno) (Merck, Darmstadt, Germany) e analisados de acordo com o método cromatográfico descrito em Cabrita et al (2008): solvente A (água : ácido acético, 98:2, v/v), solvente B (água : metanol : ácido acético, 68:30:2, v/v/v) com o seguinte programa de gradiente para o solvente A: de 95% a 70% (12 min); de 70% a 45% (15 min); de 45% a 23% (6 min); isocrático durante 9 min; de 23% a 0% (8 min); isocrático durante 5 min.

A identificação dos picos foi feita por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de UV-Vis dos compostos com padrões. Os comprimentos de onda usados foram 280, 254 and 320 nm e foram registados os espectros de cada pico entre 190 e 40nm. As concentrações dos compostos (expressas em mgL^{-1}) foram determinadas a partir das rectas de calibração obtidas pela injeção de soluções padrão com diferentes concentrações. Os ácidos caftárico, coutárico e fertárico foram isolados a partir de vinho de acordo com Singleton et al. (1978) e os espectros foram usados para identificação. A quantificação destes compostos foi expressa em ácido cafeico, *p*-coumárico e ferulico.

2.3. Tratamento dos dados

O método da partição de variância foi realizado com recurso ao programa estatístico Canoco para Windows v. 4.5 (Microcomputer Power, Ithaca, NY, USA), de acordo com o procedimento descrito por Lepš and Šmilauer (2003). A variabilidade total associada aos vinhos das diferentes variedades foi decomposta em duas variáveis explanatórias, a variedade e a FML, pela realização de análises de redundância (RDA) parciais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método da partição de variância (Figura 1), permitiu decompor a variabilidade existente entre as amostras em estudo considerando os seguintes efeitos: o efeito apenas atribuído à variedade (A); o efeito apenas atribuído à fermentação maloláctica (B), o efeito combinado destes dois factores (C), e ainda, uma parte da variabilidade que não é explicada por estes factores (D).

Utilizando a variedade e a fermentação maloláctica como variáveis explanatórias, foi possível explicar 70.4% da variabilidade total das amostras com base nestes dois factores. Por sua vez, a análise dos dados, considerando-se a variedade como variável explanatória e a FML como co-variável, permitiu explicar 63.3% da variabilidade total. Quando a FML foi considerada como variável explanatória e a variedade como co-variável, verificou-se que apenas 4.0% da variabilidade total foi explicada pela variável FML. Foi ainda

observado que 2,8% de variabilidade resulta da interacção das duas variáveis, não sendo possível atribuí-la a nenhuma delas. Os resultados desta análise permitem afirmar que a variedade tem de facto, um efeito mais pronunciado do que a fermentação maloláctica, no perfil em compostos fenólicos de baixa massa molecular de vinhos varietais.

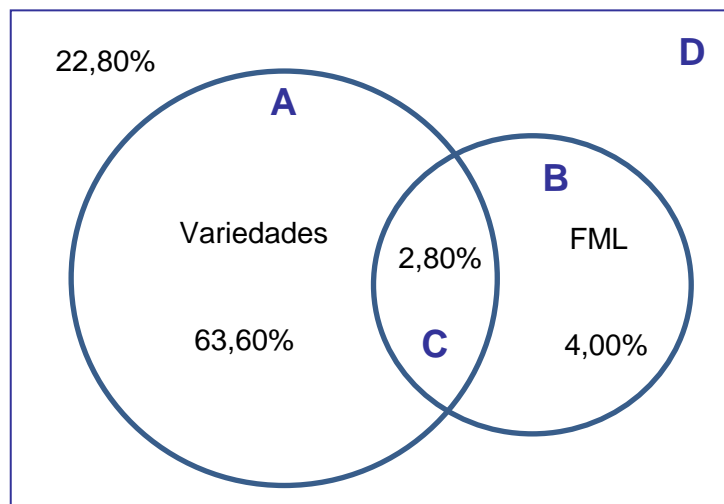


Figura 1 – A composição do vinho em compostos fenólicos de baixa massa molecular explicada pelas variáveis explanatórias variedade e FML através da partição de variância

Na figura 2 apresentam-se exemplos de perfis dos vinhos depois da fermentação maloláctica das várias castas em estudo. A sua observação mostra que os perfis apresentam-se diferentes consoante a casta de origem. O efeito do ano (dados que não se apresentam) verifica-se mais em termos quantitativos do que qualitativos, significando que o perfil de cada vinho se mantém mais ou menos semelhante de ano para ano.

Na figura 3 apresenta-se um efeito da FML sobre o perfil em compostos fenólicos de baixa massa molecular no vinho da casta Touriga Nacional. Por acção do metabolismo das bactérias lácticas que ocorre com o decurso da FML, espontânea ou não, verificou-se que os teores em ácido gálico, ácido siríngico, ácido protocatéquico e ácido vanílico têm tendência a aumentar, enquanto que os teores de ácido caftárico, coutárico e fertárico têm tendência a diminuir, e nos casos em que isto acontece verifica-se um aumento de ácido cafeico, *p*-cumárico e ferulico. Já em trabalhos anteriores havíamos referido o efeito da FML na libertação dos ácidos cafeico, ferúlico e *p*-coumárico a partir dos respectivos ácidos hidroxicinâmicos (Cabrita et al, 2008).

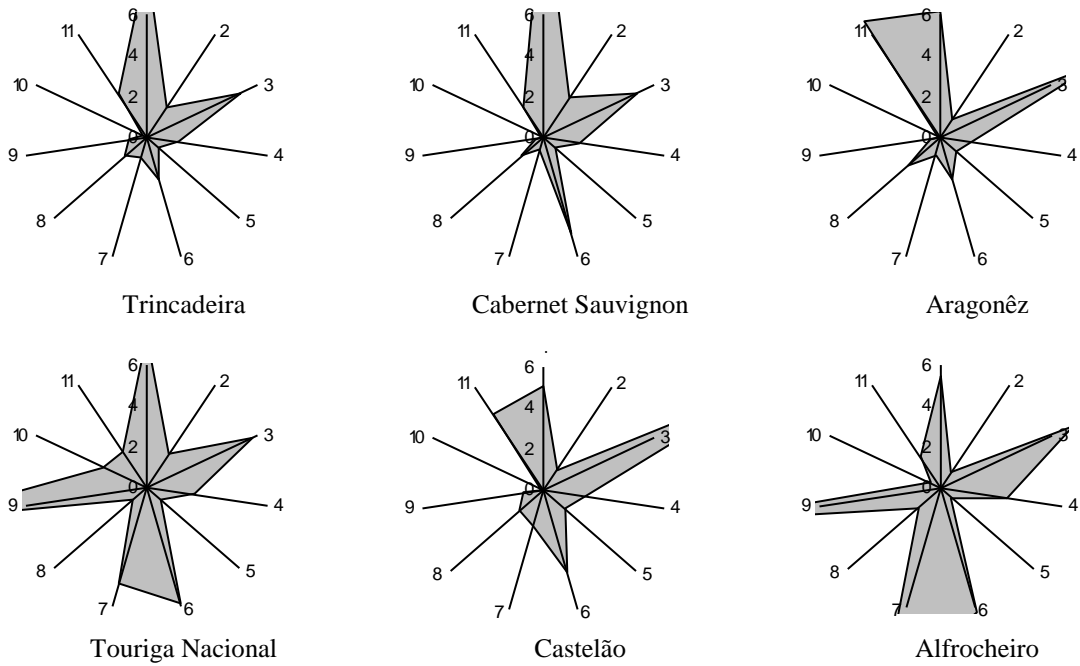


Figura 2 – O efeito da variedade nos compostos fenólicos de baixa massa molecular

Legenda: 1 – ácido gálico, 2 – ácido protocatéuico, 3 – ácido caftárico, 4 – ácido vanílico, 5 – ácido fertárico, 6 – ácido siríngico, 7 – ácido cafeíco, 8 - aldeído protocatéuico, 9 – ácido p-coumárico, 10 – ácido ferúlico, 11 – ácido coutárico.



Figura 3 – O efeito da FML nos compostos fenólicos de baixa massa molecular

4. CONCLUSÕES

Apesar do impacto da FML sobre as características dos vinhos, nomeadamente sobre o seu perfil em compostos fenólicos de baixa massa molecular, a variedade tem de facto um elevado efeito sobre as características finais dos vinhos.

O conhecimento das características químicas de cada casta, quer respeitante aos compostos fenólicos, quer respeitante a outros compostos importantes como por exemplo os compostos voláteis varietais, reveste-se assim de grande importância, por poder ser encarado pelos enólogos como mais uma ferramenta para retirar de cada casta todo o seu potencial enológico e adaptar as tecnologias às características da matéria-prima.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Borcard, D. and Legendre, P. (1994) Environmental control and spatial structure in ecological communities: an example using oribatid mites (Acari, Oribatei). *Environmental and Ecological Statistics* 1, 37–61.

Borcard, D., Legendre, P. and Drapeau, P. (1992) Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology* 73, 1045–1055.

Cabrita, M.J., Torres, M., Palma, V., Alves, E., Patão, R. and Costa Freitas, A.M. (2008) Impact of malolactic fermentation on low molecular weight phenolic compounds. *Talanta* 74, 1281–1286.

Cushman, S.A. and McGarigal, K. (2002) Hierarchical, multiscale decomposition of species-environment relationships. *Landscape Ecology* 17, 637–646.

Lepš, J. and Šmilauer, P. (2003) Multivariate analysis of ecological data using CANOCO (Cambridge University Press, Cambridge, UK).

Liu, Q. (1997) Variation partitioning by partial redundancy analysis (RDA). *Environmetrics* 8, 75–85.

Malovaná, S., Montelongo, F.J.G., Pérez, J.P. and Rodríguez-Delgado, M.A. (2001) Optimisation of sample preparation for the determination of trans-resveratrol and other polyphenolic compounds in wines by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 428, 245–253.

Singleton, V.L., Timberlake, C.F. and Lea, A.G.H. (1978) The phenolic cinnamates of white grapes and wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29, 403–410.

Vandvik, V. and Birks, H.J.B. (2002) Partitioning floristic variation in Norwegian upland grassland into within-site and between-site components: are the patterns determined by environment or by land use? *Plant Ecology* 162, 233–245.