



UNIVERSIDADE DE ÉVORA
ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
Departamento de Fitotecnia

CADERNOS DE ENOLOGIA

CLARIFICAÇÃO E ESTABILIZAÇÃO DE VINHOS

Maria João Cabrita

Universidade de Évora, 2024

ÍNDICE

Instabilidade e fenómenos coloidais.....	1
A clarificação de vinhos	3
A instabilidade tartárica em vinhos.....	10
A instabilidade proteica em vinhos.....	27
A instabilidade da matéria corante coloidal.....	32
As precipitações metálicas.....	34
Bibliografia.....	38

Instabilidade e fenómenos coloidais

Uma solução coloidal consiste em pequenas partículas sólidas, mantidas dispersas num líquido por um conjunto de forças que impedem a sua agregação e floculação. A floculação é a agregação de partículas de menor dimensão em flocos de maior dimensão, suficiente para precipitarem.

Podemos distinguir dois grupos de coloides de acordo com suas propriedades, e que são claramente diferenciados na sua composição:

- Coloides micelares - formados por agregados constituídos por um grande número de moléculas, mantidas juntas, não por ligações químicas covalentes, mas por ligações físicas de baixa energia (forças de Van der Waals, pontes de hidrogénio...). Por outras palavras, as partículas mantêm-se dispersas devido ao movimento browniano, mas quando a distância entre elas é pequena, as forças atrativas de Van der Waals predominam e formam-se os agregados de maior dimensão que precipitam. Estes coloides micelares podem formar-se naturalmente no vinho durante o envelhecimento (matéria corante coloidal), ou acidentalmente (fosfato férrico ou sulfureto de cobre).
- Coloides macromoleculares - são macromoléculas como polissacarídeos ou proteínas que apresentam carga elétrica que pode ser devido à dissociação de funções ácidas ou básicas. Esses coloides são hidrofílicos e, como resultado, dissolvem-se facilmente em água. Esta propriedade leva à sua hidratação, conferindo-lhes um segundo fator estabilizador além do efeito repelente das cargas elétricas. A floculação destes coloides pressupõe a eliminação destes dois fatores de estabilização. Isto significa, por exemplo, que uma gelatina carregada positivamente ao pH do vinho ao contactar com os taninos forma um complexo tanino-proteína carregado negativamente, e que é atribuído à desidratação da proteína. A floculação ocorre quando as cargas se anulam por ação de catiões existentes no vinho.
- Coloides protetores – polissacáridos que na presença de um coloide instável impedem a sua floculação. Eles promovem a estabilidade dos coloides micelares, revestindo-os e protegendo-os contra a precipitação.

Ao pH dos vinhos, as proteínas apresentam carga elétrica positiva. A bentonite, a matéria corante coloidal, o fosfato férrico, o sulfureto de cobre e ainda as leveduras e as bactérias, apresentam carga elétrica negativa.

Um outro fenómeno relevante é a floculação mútua de coloides. Quando dois coloides com a mesma carga elétrica se encontram em solução, eles mantem-se separados por forças electroestática e não precipitam. Mas se forem de cargas opostas podem precipitar-se mutuamente. A floculação mútua de coloides é o principal mecanismo envolvido numa colagem. Quando uma cola proteica flocula, são eliminadas partículas em suspensão e partículas coloidais, como resultado desta floculação mútua. Graças a este mecanismo, a colagem consegue ao mesmo tempo, contribuir para a clarificação e para a estabilização de um vinho.

A clarificação de vinhos

Os vinhos após a fermentação alcoólica ou malolática estão turvos e instáveis e é necessário clarificá-los e estabilizá-los antes do seu engarrafamento.

O objetivo da clarificação de vinhos é a remoção de partículas responsáveis pela formação de turvações ou precipitados. A clarificação dos vinhos pode acontecer de forma espontânea ou através do uso de colas, num processo a que se chama colagem.

O conceito de clarificação prende-se com a obtenção de vinhos límpidos e brilhantes. Este conceito não está dissociado do conceito de estabilização. Os tratamentos de estabilização são necessários para preservar as características e a qualidade dos vinhos engarrafados, quaisquer que sejam as condições de armazenamento e/ou transporte a que as garrafas são sujeitas. Assim o conceito de estabilização prende-se com evitar a formação de turvações ou precipitações, mantendo a limpidez dos vinhos e prevenindo alterações qualitativas de sabor, aroma ou cor, relacionados quer com alterações microbiológicas quer com alterações de natureza química. De uma forma simplificada, clarificar vinhos é torná-los límpidos e estabilizar vinhos é mantê-los límpidos.

A clarificação espontânea

Os vinhos clarificam de forma espontânea, ou seja, pela força da gravidade as partículas em suspensão depositam-se no fundo dos depósitos, de onde são eliminadas, por exemplo através de uma trasfega.

A sedimentação de partículas em suspensão obedece à lei de Stokes:

$$V = \frac{2 r^2}{9 \mu} \times (dp - dl) \times g$$

onde: V – velocidade de queda das partículas, r – raio da partícula, μ -viscosidade do líquido, dp – densidade da partícula, dl – densidade do líquido, g – força da gravidade.

O diâmetro das partículas tem um papel importante: partículas coloidais de muito pequena dimensão não sedimentam espontaneamente a não ser que floculem e se agreguem em partículas de maior dimensão.

A sedimentação espontânea é afetada pelas características dos vinhos: a densidade do vinho depende do seu teor alcoólico e da sua riqueza em açúcares; a carga elétrica das partículas em suspensão varia com o pH do vinho, sendo mais difícil a decantação

quando o pH é mais elevado; a viscosidade do vinho e a presença de coloides protetores também afetam este fenómeno. Outros aspetos a considerar é a não existência de CO₂, que se oporia à queda das partículas, o tempo, e o tamanho e geometria dos contentores (a clarificação espontânea é obviamente facilitada em contentores de menor dimensão). O nível de clarificação obtido desta forma será maior em vinhos a envelhecer em barricas do que o será em vinhos armazenados em depósitos de inox (geralmente de maior dimensão).

A colagem de vinhos

Os vinhos são colados porque frequentemente a clarificação espontânea não é suficiente para clarificar o vinho. A colagem é uma operação que consiste em adicionar a um vinho uma substância (cola) capaz de flocular e precipitar partículas em suspensão. Este tratamento envolve interações físico-químicas entre a cola e os componentes do vinho. Estas interações induzem a formação de agregados que floculam e precipitam. Os vinhos clarificados com colas são depois trasfegados ou filtrados para a separação das borras que decantaram.

Os objetivos de uma colagem são:

- Clarificar o vinho, promovendo a precipitação de partículas em suspensão
- Estabilizar o vinho, porque permite evitar futuras precipitações
- Melhorar sensorialmente o vinho, porque permite eliminar aromas de oxidação, por exemplo, ou suavizar a adstringência, removendo taninos.
- Reforçar a eficácia das filtrações, por exemplo quando se recorre a um filtro de placas onde é difícil filtrar, se o vinho estiver muito turvo.

O mecanismo envolvido na clarificação com colas não está completamente esclarecido. As partículas e os coloides em suspensão podem formar agregados interagindo diretamente com a cola, mas também podem ser arrastadas pelos agregados que se formam.

Nos vinhos tintos, a colagem é muitas vezes usada, não só para clarificar, mas também para remover taninos muito agressivos, e promover a estabilização dos vinhos relativamente à matéria corante coloidal. Deste ponto de vista as colas mais usadas são

as colas proteicas (gelatinas, albuminas...) porque interagem com os polifenóis, nomeadamente taninos e pigmentos poliméricos. Já no caso dos vinhos brancos as colagens são sobretudo dirigidas às proteínas, para contribuir para a estabilidade proteica, e por isso muitas vezes realizadas com uma cola mineral como a bentonite.

As colas proteicas

As proteínas em solução aquosa comportam-se como coloides hidrófilos de carga negativa que se transformam em coloides hidrófilos, mas de carga positiva ao pH dos vinhos. Na presença de taninos, as proteínas transformam-se em coloides hidrófobos de carga negativa que, em presença dos catiões do vinho, floculam e precipitam. As proteínas no vinho enquanto coloides hidrófilos de carga positiva também podem flocular e precipitar na presença de outras partículas de carga negativa como a bentonite ou alguns aniões.

Assim, os fatores que influenciam uma colagem proteica, ou seja, a maior ou menor eficácia de atuação de uma cola proteica, são:

- Acidez e pH dos vinhos - a interação entre as proteínas e os taninos é tanto maior e a precipitação mais rápida quanto mais baixa a acidez do vinho. Quando a mesma dose de cola é adicionada a quantidade de tanino eliminado aumenta com o pH do vinho. Em tintos quase duplica, entre pH 3,4 e pH 3,9.
- A presença de catiões - A presença de catiões é indispensável para a floculação e sedimentação das proteínas com os taninos;
- A temperatura - As precipitações são facilitadas a temperaturas baixas porque os movimentos brownianos do vinho diminuem.
- Potencial redox do vinho- Vinhos com potencial de oxidação elevado apresentam um melhor comportamento face a uma clarificação proteica, nomeadamente porque se encontra mais ferro na forma férrica (Fe^{3+}).

O teor em dióxido de enxofre também pode influenciar, porque privilegia o ferro na forma ferrosa (Fe^{2+}) assim como o teor alcoólico, a presença de açúcar e o teor em glicerol, porque aumentam a viscosidade do vinho, e ainda a presença de coloides protetores que se opõem e dificultam a floculação e precipitação de outros coloides.

1 - Gelatinas

A gelatina é resultado da hidrólise parcial do colagénio de ossos e cartilagens animais. Pode apresentar-se de várias formas por exemplo em pó solúvel em água ou numa solução coloidal. A gelatina pode ser usada para estabilização de matéria corante coloidal, remoção de taninos e ainda remoção de pectinas e coloides protetores em vinhos provenientes de uvas com um certo grau de podridão. Neste último caso, pode ser necessário adicionar primeiro um tanino. Apresenta tendência a sobrecolar.

2 - Cola de peixe – ictiocola ou isinglass

Obtida a partir das bexigas natatórias de peixes como o estrução. A cola de peixe é frequentemente encontrada na forma de solução coloidal pronta para uso, estabilizada por SO₂. É usada em vinhos brancos e rosados e elimina compostos fenólicos.

3 - Albumina

Obtida a partir da clara de ovo. Considera-se ser o melhor clarificante para vinhos de qualidade, elimina os taninos mais ásperos e agressivos, diminuindo a adstringência excessiva.

4 - Caseína e caseinato de potássio

A caseína é obtida a partir do leite e é insolúvel em água, mas na forma de caseinato de potássio torna-se solúvel em água. É usada para eliminar compostos fenólicos oxidados ou que se possam oxidar em vinhos brancos. Estas colas também eliminam os fosfatos, responsáveis pela casse branca e também eliminam parte do ferro.

5 - Proteínas vegetais

As proteínas de origem vegetal provêm do trigo, ervilha ou batata. Apresentam-se em pó solúvel em água.

A eficiência de uma colagem proteica é função da dose de cola a aplicar, mas também das características das colas e das características dos vinhos. As colas proteicas variam em função do teor de proteína (o teor em proteína total pode variar 1,5 vezes entre diferentes colas), da distribuição dos pesos moleculares das proteínas que constituem a cola (uma gelatina por exemplo é um conjunto de proteínas, péptidos e polipéptidos de diferentes pesos moleculares) e ainda da densidade de carga (quanto maior a densidade de carga maior é a capacidade de clarificação).

As colas minerais

De entre as colas minerais, a bentonite é das mais utilizadas. É uma argila montemorilonítica, um silicato de alumínio hidratado natural em que alguns átomos de alumínio e de silício foram naturalmente substituídos por outros átomos, tais como o magnésio e o ferro. A estrutura da montmorilonite consiste em duas camadas tetraédricas de sílica e uma camada octaédrica de alumina, combinadas numa unidade estrutural cristalina. Entre as camadas minerais encontram-se encerrados átomos de cálcio e de sódio. Existem diferentes tipos de bentonite: as bentonites sódicas naturais com elevado poder de adsorção de proteínas, as bentonites cálcicas naturais que são menos reativas, e as bentonites cálcicas ativadas que ficam com propriedades semelhantes às bentonites sódicas naturais.

Ao pH dos vinhos, a bentonite apresenta uma carga negativa e por isso vai ligar-se as proteínas que se encontram carregadas positivamente. A bentonite forma em água uma suspensão coloidal e comporta-se no vinho, como um coloide eletronegativo que floclula e precipita arrastando certos coloides naturais de carga elétrica contrária. É usada para prevenir as casses proteicas e as casses cúpricas, mas é maioritariamente usada em vinhos brancos para se alcançar a estabilidade proteica, embora possa também ser útil em vinhos tintos que apresentem uma elevada instabilidade de matéria corante coloidal.

Outra cola mineral muito usada é o dióxido de silício, que se apresenta em solução coloidal. É usada em vinhos brancos para remoção das proteínas e quase sempre aplicada em conjunto com uma gelatina, podendo ainda ser adicionada uma bentonite. Neste caso adiciona-se a bentonite e depois a gelatina e o dióxido de silício. A floclulação mútua destes dois coloides favorece a eliminação de pequenas partículas de bentonite e promove a clarificação do vinho.

As colas de síntese:

PVI/PVP é um co-polímero de polivinilimidazole e polivinilpirrolidona usado para remoção de metais pesados, cobre e ferro,

PVPP é um polímero de polivinilpolipirrolidona que fixa polifenóis e, por isso, é usado para controlar e eliminar o acastanhamento de vinhos brancos e corrigir a cor de vinhos

manchados. É mais usado em vinhos brancos do que em vinhos tintos, onde reduz a adstringência.

Tecnologia de colagem

Para se obterem bons resultados com uma colagem, é necessário fazer ensaios de colagens antes de se aplicar uma cola a um depósito de vinho. Um ensaio de colagem consiste em experimentar várias colas e várias doses de cada cola para se saber exatamente qual a cola e em que quantidade se obtém os melhores resultados. A figura 1 pretende exemplificar um ensaio de colagem em vinho branco utilizando doses crescentes de duas colas (bentonite do lado esquerdo e PVPP do lado direito, onde é mais visível o precipitado no fundo das provetas). A imagem foi obtida 5 dias depois da aplicação da cola a cada proveta.

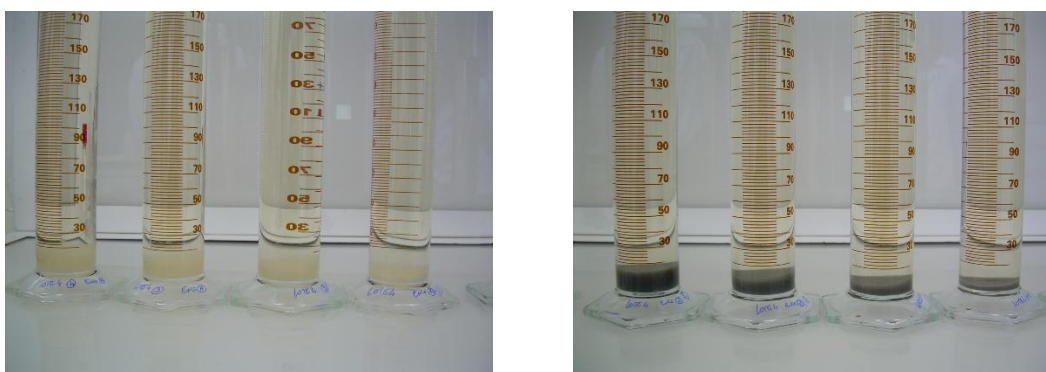


Figura 1 – exemplo de ensaio de colagem em vinho branco com duas colas diferentes aplicadas em 4 doses diferentes (falta uma testemunha que é uma proveta sem aplicação de cola)

O vinho de cada proveta deve ser observado, analisado e provado. Após a aplicação da cola, o vinho deve ser observado para se avaliar a rapidez de coagulação e a rapidez de precipitação, por exemplo 12 e 48h depois da aplicação da cola. A análise consiste em verificar o grau de limpidez obtido, e por exemplo tratando-se de uma colagem com o objetivo de estabilizar proteicamente o vinho, avaliar se ele ficou estável realizando outra vez um teste para avaliar a instabilidade proteica (teste do calor, por exemplo). O grau de limpidez avalia-se por nefelometria num turbidímetro sendo o objetivo que o vinho fique brilhante ($<2\text{NTU}$). A filtrabilidade do vinho também deve ser avaliada, bastando para isso medir o tempo que demora a filtrar 100mL de vinho (t_1) e o tempo

que demora a filtrar mais 100mL de vinho (t_2), procurando-se a maior relação t_1/t_2 . A análise sensorial tem aqui um papel importante. Devem-se provar os vinhos e avaliar o efeito da cola e da dose. Finalmente para algumas colas é necessário comprovar se houve sobrecolagem. Este fenómeno pode acontecer no caso de algumas colas proteicas. A cola e a dose eleita é a que origina o vinho mais brilhante, estável, melhor sensorialmente e que origine o menor volume de borras.

Uma vez escolhida a cola e a dose e para que tenha lugar uma correta clarificação é indispensável a distribuição uniforme da cola pela massa de vinho a clarificar. A distribuição da cola deve ser rápida e homogénea. Homogénea para que chegue a todo o vinho e rápida para que chegue antes de coagular. Para evitar que a cola chegue coagulada muitas vezes esta é diluída, e/ou adicionada pouco a pouco durante uma trasfega. Após a adição da cola o vinho deve ficar em repouso cerca de 1 semana para a cola atuar e depois o depósito formado tem de ser eliminado por trasfega e/ou filtração. Como a temperatura pode ter influência na forma como a cola atua devemos ter em atenção a que temperatura estão os vinhos que pretendemos colar e devemos ter o cuidado de realizar os ensaios de colagem à temperatura a que vamos colar os vinhos. Finalmente convém referir que normalmente uma só cola pode ser insuficiente para se alcançar a melhor clarificação do vinho e por esta razão é muito frequente a utilização de várias colas. Os produtos comerciais são na maioria das vezes o resultado da adição de vários produtos: caseinato de K, PVPP e sílica; albuminas, complexos proteicos, bentonite e carvão ativado; PVPP, albuminas, complexos proteicos.

A instabilidade tartárica em vinhos

Um problema recorrente em vinhos brancos engarrafados é o aparecimento de cristais de bitartarato de potássio (THK), e em menos extensão de tartarato de cálcio (TCa). Quando aparecem estes cristais em vinho engarrafados, e embora o consumidor possa não lhes atribuir grande importância porque o vinho continua límpido, é indicação que este vinho foi mal estabilizado antes do engarrafamento. Mas é importante salientar que este problema, a existir, não coloca em risco a saúde do consumidor. Assim, a estabilização tartárica de vinhos antes do seu engarrafamento é uma prática necessária quando pretendemos produzir um vinho estável e límpido. É importante também salientar que embora seja um problema mais frequente em vinhos brancos não é exclusivo de vinhos brancos, podendo por isso acontecer em vinhos tintos. Assim, as precipitações tartáricas são um fenómeno natural dos vinhos, podendo acontecer durante o processo de vinificação, durante o envelhecimento ou estágio, ou mesmo em garrafa, que é o que se pretende evitar.

O mecanismo das precipitações tartáricas.

O ácido tartárico é um dos principais ácidos orgânicos nos vinhos e tem duas origens: endógena, porque existe nas uvas, e exógena porque pode ser adicionado para a correção da acidez total de mostos. Nos vinhos podem existir diversos equilíbrios relacionados com a dissociação do ácido tartárico (H_2T):



do que resulta que a concentração de ácido tartárico seja o somatório das concentrações destas 3 espécies químicas:

$$c = [H_2T] + [TH^-] + [T^{2-}] \quad (\text{eq.2})$$

Quer o ião bitartarato (TH^-) quer o ião tartarato (T^{2-}) se podem insolubilizar na presença dos iões de potássio (K^+) (principal catião existente nos vinhos) e de cálcio (Ca^{2+}), formando os principais cristais responsáveis pela instabilidade tartárica, o bitartarato de potássio ou hidrogenotartarato de potássio (THK) e o tartarato de cálcio (TCa).

O processo de cristalização

O processo de cristalização que conduz à formação dos cristais de THK e de TCa envolve três fases distintas: a fase de sobressaturação, a fase de nucleação e a fase de crescimento dos cristais.

- A fase de sobressaturação

A solubilidade do THK em água a 20°C é de 5,70g/L. Já numa solução a 10% (v/v) de álcool é de 3g/L. Isto significa que a solubilidade do THK diminui com o aumento do teor alcoólico, diminuindo também como abaixamento da temperatura. Genericamente, em vinhos novos os teores de THK excedem os limites de solubilidade deste sal, o que significa que estamos num estado de sobressaturação tornando possível a ocorrência da cristalização.

- A fase de nucleação

Consiste na formação de um pequeno cristal, conhecido como núcleo. Existem dois tipos de nucleação:

- a nucleação primária ou espontânea - a cristalização dá-se a partir de núcleos formados espontaneamente por um abaixamento de temperatura. Esta nucleação primária dá origem a cristais de grande dimensão, que crescem muito lentamente.
- a nucleação secundária ou induzida - a formação de núcleos é induzida pela presença de partículas de dimensão muito pequena no vinho, geralmente através da adição de uma grande quantidade de cristais de bitartarato de potássio, finamente moídos.

- A fase de crescimento

Após a formação de núcleos estáveis, os cristais iniciam o seu crescimento, através da ligação de iões potássio e de bitartarato aos pontos ativos das superfícies dos núcleos de cristalização formados. A existência de proteínas (carregadas positivamente ao pH dos vinhos), e taninos aos quais os iões bitartarato se podem ligar pode dificultar o crescimento dos cristais. O caso dos taninos explica o porquê da cristalização em vinhos tintos ocorrer mais lentamente do que em vinhos brancos.

Assim, para que haja formação de cristais, têm de se verificar 3 condições: uma sobressaturação do vinho em bitartarato de potássio, existirem núcleos de cristalização, e não haver coloides protetores (que impedem a formação de cristais).

Fatores condicionantes da cristalização

Sendo um fenómeno imprevisível, a cristalização do THK no vinho está sujeita à influência de outros constituintes do mesmo, que podem favorecer ou impedir a nucleação e o crescimento dos cristais. Os fatores de maior importância que condicionam o processo de cristalização são:

- O teor alcoólico - O aumento do teor alcoólico aumenta a insolubilidade do THK. Durante a fermentação alcoólica, a solubilidade deste composto diminui com o aumento da concentração de etanol, por isso ocorre uma grande precipitação do mesmo durante e após a fermentação.
- pH – o pH do vinho tem influência sobre o equilíbrio de dissociação do ácido tartárico e consequentemente sobre as relações $\text{TH}_2/\text{TH}^-/\text{T}^{2-}$, que por sua vez têm impacto sobre o potencial de precipitação do THK. No intervalo de pH entre 3,5 e 4,0 a proporção de iões TH^- atinge o seu máximo, favorecendo a formação de THK. Este facto ajuda a explicar porque é que qualquer processo ou procedimento que culmine numa diminuição da acidez do vinho, a fermentação maloláctica por exemplo, favorecerá a sobressaturação e a posterior precipitação de THK.
- Temperatura - As baixas temperaturas induzem uma mais rápida cristalização, e se paralelamente ocorrer agitação do vinho, esta favorece a formação de núcleos de cristalização. A temperatura influencia claramente a solubilidade do THK, uma vez que temperaturas mais baixas dão origem à sua insolubilização. Compreende-se desta forma que o princípio geral da estabilização tartárica consista na diminuição da temperatura do vinho para valores próximos da sua temperatura de congelação, promovendo o aumento da sobressaturação e, desta forma, a possibilidade de formação de cristais e a sua precipitação.
- Agitação - A influência da agitação do vinho na cinética de cristalização pode verificar-se no favorecimento da formação de um maior número de núcleos de pequenas dimensões o que aumenta a área superficial e promove uma nucleação mais rápida. A agitação do vinho faz ainda com que haja uma uniformidade na distribuição dos núcleos, pela diminuição das distâncias de

difusão, requerendo assim menor energia potencial para ligação dos iões K^+ e TH^- aos vários pontos ativos do cristal.

- A composição coloidal do vinho - A presença de coloides protetores pode interferir na cristalização tendo um efeito inibidor sobre este processo. A influência no crescimento dos cristais é atribuída à sua adsorção nas suas faces de crescimento, bloqueando a integração de novas unidades na estrutura. Algumas destas macromoléculas têm origem diretamente das uvas, como é o caso dos taninos, dos polissacáridos pécticos e das proteínas. Outras têm origem fúngica, como é o caso das manoproteínas libertadas pelas leveduras ao longo da fermentação alcoólica. Estas apresentam propriedades estabilizantes ao nível das precipitações proteica e tartárica, explicando desta forma a melhoria espontânea destas estabilizações nos vinhos brancos durante o estágio em contacto com as borras.

Já o tartarato neutro de cálcio (TCa) é um sal insolúvel, cerca de dez vezes menos solúvel que o THK. A cristalização do TCa é um fenómeno análogo ao relatado para o THK, no entanto a prevenção do aparecimento destes cristais em vinhos embalados é mais difícil de realizar uma vez que a sua solubilidade não é muito afetada pelas baixas temperaturas, logo não poderem ser utilizadas as tecnologias de estabilização pelo frio para a estabilização deste composto.

A determinação da instabilidade tartárica

Existem metodologias analíticas para avaliar se um vinho tem ou não instabilidade tartárica. Na prática devemos avaliar se um determinado vinho está ou não estável, e caso apresente instabilidade recorrer a um sistema de tratamento dessa instabilidade, após o qual se deve voltar a analisar o vinho para verificar que este já não apresenta instabilidade tartárica.

O método mais simples para verificar a estabilidade tartárica de um vinho o teste de permanência no frio, no entanto dada a sua subjetividade, desenvolveram-se metodologias mais precisas baseadas na medição da condutividade, como os testes de minicontato (M_c) e temperatura de saturação (T_{sat}). No entanto, deve-se notar que ambos os testes são particularmente adequados para avaliar a estabilidade do vinho em

relação ao THK, apresentando ainda algumas dificuldades / limitações em relação ao TCa.

Teste do frio

Consiste em submeter o vinho a baixas temperaturas e observar se há ou não formação de cristais. É um método lento e pouco fiável por causa do carácter aleatório da cristalização espontânea. Mas não requer equipamento específico, apenas um frigorífico onde uma amostra de vinho é colocada durante 12 a 15 dias a uma temperatura entre 0 e 2°C. Se a temperatura for inferior, cerca de -4°C, o tempo diminui para 6 a 8 dias.

Teste do minicontacto

O teste de minicontato (Mc) mede a diminuição da condutividade de uma amostra de vinho mantido a baixa temperatura em contacto com THK adicionado. Baseia-se por isso na nucleação homogénea induzida. O vinho é mantido, sob agitação continua, a 0 °C na presença de THK para induzir a precipitação desse sal, que é quantificado pela medição da condutividade eléctrica ao longo do tempo. A condutividade eléctrica de um vinho é directamente proporcional à quantidade de iões nele existentes, em particular, do ião potássio. No final do teste obtém-se um gráfico da condutividade em função do tempo (figura 3), no qual se consegue medir o decréscimo de condutividade do vinho, e com esse valor sabe-se se o vinho está estável ou se existe risco de precipitação do bitartarato de potássio. Os valores obtidos para o Mc dependem das características químicas do vinho, independentemente do método de estabilização tartárica utilizado. Resultados obtidos no nosso laboratório mostram que, para vinhos submetidos à estabilização pelo frio os valores de Mc variam de 8,2 a 27,8 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para vinhos brancos, de 26,6 a 55,7 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para vinhos rosados e de 30,0 a 55,7 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para vinhos tintos. Com a adição de 10 g hL^{-1} de ácido metatartárico, foram obtidos valores menores, variando de 4,6 a 11,1 $\mu\text{S cm}^{-1}$ nos vinhos brancos, de 8,1 a 15,8 $\mu\text{S cm}^{-1}$ nos vinhos rosados e de 18,9 a 39,4 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para vinhos tintos.

O teste do minicontacto é realizado num equipamento Check-Stab (figura 2)



Figura 2– equipamento Check-Stab existente no Laboratório de Enologia Colaço do Rosário (MED-Universidade de Évora)

Na prática, medem-se 100 mL do vinho a analisar para o copo de vidro, coloca-se o THK na bandeja do dispensador automático do equipamento (1g para vinhos brancos e rosados, 2g para vinhos tintos), o equipamento espera até que a temperatura do vinho estabilize a 0°C e lê a condutividades ao longo do tempo. No final da análise aparece o gráfico (figura 3) dos valores de condutividade ao longo do tempo de análise. A interpretação dos valores é feita da seguinte forma (tabela 1 e figura 3):

Tabela 1 – interpretação dos valores de variação da condutividade

		Δ condutividade $\mu\text{S cm}^{-1}$	
		VB	VT e VR
Muito estável	variação até	25	30
Estável	variação entre	25 e 40	30 e 60
Em risco	variação entre	40 e 60	60 e 70
Não estável	variação maior	60	70

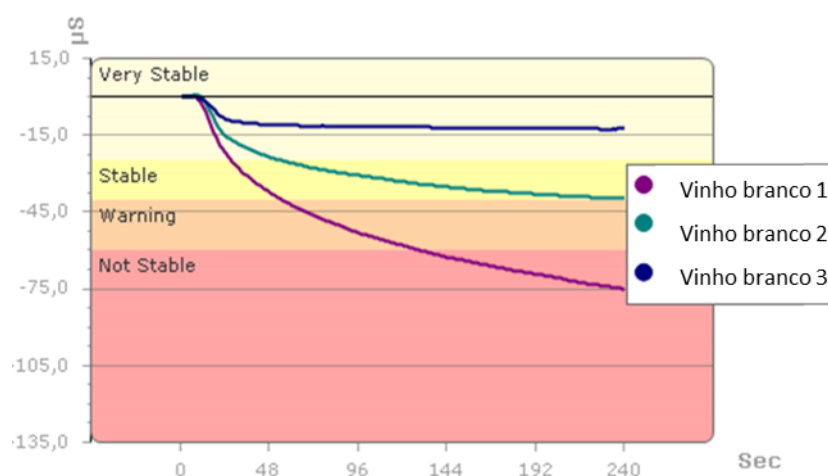


Figura 3 – Gráfico da variação de condutividade obtido pelo equipamento CheckStab

Estes valores são indicativos e podem ter outras interpretações em função do destino a dar ao vinho, da duração de tempo em garrafa ou da temperatura a que as garrafas vão ser armazenadas. Outra forma de usar estes valores é considerar um tratamento ao vinho se a descida da condutividade inicial for superior a 5% do valor inicial.

Temperatura de saturação

A temperatura de saturação (T_{sat}) para THK do vinho representa o nível de saturação deste sal no vinho. Corresponde à temperatura mínima à qual o vinho se encontra saturado de bitartarato de potássio e abaixo da qual este sal é solúvel no vinho.

Quanto mais THK for possível dissolver a baixas temperaturas, menos sobressaturado se encontra o vinho, e logicamente, quanto mais elevado for o valor de T_{sat} , mais sobressaturado está o vinho, logo maior é o risco de cristalização aquando de uma diminuição dessa temperatura. Pelo contrário, quanto menor for a T_{sat} , menos sobressaturado está o vinho e mais apto está para solubilizar o THK, logo maior será a sua estabilidade tartárica. Assim, valores baixos de T_{sat} indicam elevada estabilidade de um vinho.

Esta temperatura (T_{sat}) é determinada medindo a condutividade elétrica da amostra de vinho em duas fases diferentes durante um ciclo de temperaturas. É feita a comparação do aumento da condutividade do vinho quando é sujeito a uma subida da temperatura, com o aumento da condutividade desse mesmo vinho depois de serem adicionados cristais de THK. A temperatura de saturação é a temperatura à qual o valor das duas condutividades coincide (Figura 4).

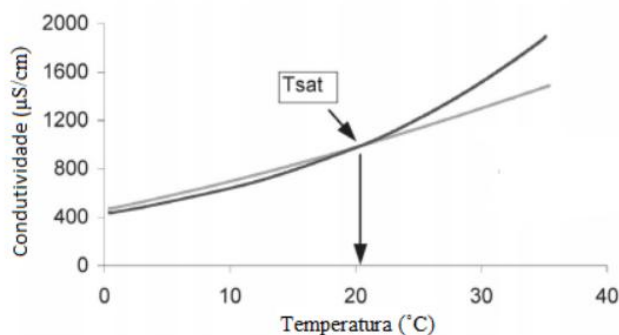


Figura 4 – Determinação da T_{sat} por medição da condutividade elétrica de um vinho, com e sem adição de cristais de THK

O problema com esse método é que frequentemente a T_{sat} não corresponde à temperatura de estabilidade real devido à grande estabilidade dos cristais e/ou à presença de inibidores de crescimento dos cristais, levando a diferenças que podem oscilar entre 6,0°C e 21,5°C para os vinhos brancos e de 8°C a 18°C para os vinhos rosados, enquanto os vinhos tintos apresentam sempre valores superiores, acima dos 20°C. Em suma, a T_{sat} de um vinho pode ser usada como um indicador da estabilidade desse vinho, sendo uma medição mais fiável para prevenção de precipitações a longo prazo (durante o armazenamento e envelhecimento), uma vez que é independente de qualquer reorganização coloidal.

Relação entre a temperatura de saturação e a temperatura de estabilização

A temperatura de saturação de um vinho, ou seja, aquela à qual o vinho é capaz da dissolução do THK, dá uma indicação do seu estado de sobressaturação, no entanto não fornece uma informação exata sobre a sua instabilidade, isto é, a temperatura abaixo da qual há risco de ocorrência de precipitações tartáricas, informação importante para os técnicos da enologia. Para contornar esta situação, foi estabelecida uma relação entre a temperatura da saturação (T_{sat}) e a temperatura de estabilidade (T_{est}), para vinhos brancos secos:

$$T_{est} = T_{sat} - 15 \text{ °C} \quad (\text{eq.4})$$

Assim, por exemplo para que um vinho esteja estável a -4° C, a temperatura de saturação não deverá exceder os 11 °C. Mas esta equação ignora totalmente o papel dos colóides protetores, e é apenas válida para um vinho com teor de álcool de 11 % (v/v). Para os vinhos brancos, com um teor de álcool superior a 12,5 % (v/v), a equação passa a ser a seguinte:

$$T_{est} = T_{sat} - 12 \text{ °C} \quad (\text{eq.5})$$

Esta equação mostra que, para que o vinho esteja estável a -4 °C, a temperatura de saturação não deverá exceder 8 °C.

Para os vinhos tintos foi proposto que a estabilidade tartárica esteja relacionada com dois parâmetros, a temperatura de saturação (T_{sat}) e o índice de polifenóis totais (IPT). Os vinhos tintos podem considerar-se estáveis se:

$$T_{\text{sat}} (^{\circ}\text{C}) < (10,81 + 0,297 \text{ IPT}) \quad (\text{eq.6})$$

Tomando como exemplo um vinho tinto com IPT = 60, este estaria instável se T_{sat} for superior a 28,6 °C.

É muito importante ter em atenção que estas regras, baseadas na solubilização do THK, fenómeno que não tem em conta a composição do vinho e o seu estado coloidal, são aplicáveis ao controlo de tratamentos de estabilização tartárica pelo frio.

Grau de instabilidade Tartárica (GIT)

Para vinhos que se pretendam estabilizar por electrodiálise aconselha-se calcular o seu grau de instabilidade tartárica (GIT):

$$\text{GIT}(\%) = \frac{(C_i - C_f(\text{inf}))}{C_i} \times 100$$

Onde C_i é a condutividade inicial e $C_f(\text{inf})$ é a condutividade final extrapolada matematicamente para um tempo infinito, calculadas numa amostra de vinho filtrado, colocado a -4°C em agitação, durante 4 horas, ao qual se adicionou 4gL⁻¹ de cristais de uma granulometria controlada.

Nestas condições, se $\text{GIT} < 5\%$, o vinho é considerado estável, se $\text{GIT} > 10\%$, o vinho é considerado instável, e nos valores intermédios o vinho considera-se ligeiramente instável e há que tomar uma decisão. O valor de GIT indica-nos a taxa de desionização a aplicar no tratamento de um vinho por electrodiálise. De notar que estes valores são meramente indicativos, pelo que, qualquer que seja o resultado deste teste, o enólogo deverá tomar uma decisão, tendo em atenção também o conhecimento que tem sobre outras características do vinho e do destino que lhe vai dar.

O tratamento das instabilidades tartáricas

Para evitar que ocorram precipitações tartáricas em vinho engarrafado, o ideal é resolver este problema de instabilidade antes do engarrafamento.

Existem três sistemas, com diferentes princípios, que nos permitem tornar um vinho estável ou prevenir problemas de instabilidade tartárica: 1 - Sistemas que insolubilizam e eliminam tartaratos dos vinhos (tratamento pelo frio); 2 - Sistemas que impedem a

precipitação tartárica (adição de ácido metatartárico, carboximetilcelulose (CMC), manoproteínas, poliaspartato de potássio); 3 - Sistemas que eliminam os catiões responsáveis pela PT (electrodialise, troca catiónica, osmose inversa)

O tratamento pelo frio

O tratamento de vinhos pelo frio consiste apenas em submeter o vinho a temperaturas baixas, com o objectivo de promover a cristalização e precipitação dos tartaratos de cálcio e potássio e a precipitação de coloides, o que contribui para a estabilização dos vinhos. Alguma da matéria corante dos vinhos tintos é coloidal, solúvel a temperaturas normais, mas precipitável a baixas temperaturas, podendo causar turvação nos vinhos. A técnica standard para estabilizar vinhos tintos são as colagens antes do engarrafamento para eliminar matéria corante coloidal. A estabilização pelo frio tem exatamente o mesmo efeito, mas esta estabilização é temporária porque se volta a formar matéria corante coloidal. Resulta durante meses, ou anos, mas em vinhos que permanecem longos anos em garrafa é normal voltar a aparecer um precipitado de matéria corante. A estabilização pelo frio também é parcialmente efetiva na prevenção de outras precipitações coloidais. Ajuda a prevenir a casse férica por insolubilização do fosfato férico em vinhos brancos e dos complexos tanato-férricos em vinhos tintos. Também contribui para a floculação e precipitação de proteínas, mas não o suficiente para assegurar uma estabilização proteica total.

Mas, com o objetivo de se alcançar a estabilidade tartárica em vinhos, o tratamento pelo frio é eficaz, e existem três alternativas:

- a) **Estabilização tartárica clássica ou de larga duração** – consiste em arrefecer o vinho a temperaturas perto do ponto de congelação durante vários dias para induzir a precipitação do THK

$$\text{Temperatura (}^{\circ}\text{C)} = - (\% \text{ álcool} / 2) + 1 \quad (\text{eq.3})$$

Geralmente um permutador permite levar progressivamente (com formação de cristais de grandes dimensões), ou rapidamente (com formação de pequenos cristais muito numerosos, que favorecem uma velocidade de cristalização mais elevada), o vinho a uma temperatura negativa (previamente determinada). O vinho é armazenado e mantido a esta temperatura durante 8 a 10 dias (vinhos

brancos) ou várias semanas no caso dos vinhos tintos, antes de se proceder à sua filtração à temperatura do tratamento.

Geralmente 1 ou 2 dias são suficientes para eliminar matéria corante coloidal de vinhos tintos, mas 5 ou 6 dias nem sempre são suficientes para permitir a precipitação do THK. Assim, este processo torna-se bastante lento, sendo necessárias na prática, aproximadamente duas a três semanas para se obter em teoria, uma completa estabilização tartárica.

b) Estabilização tartárica por contacto ou de curta duração;

Consiste no arrefecimento do vinho até uma temperatura próximo de 0 °C, o que apresenta vantagens económicas (ao nível do consumo energético), e adicionar-se-lhe cerca de 4 g/L de cristais de THK exógeno de granulometria inferior a 60 µm, originando desta forma uma superfície de cristalização considerável. O vinho é mantido sob agitação contínua, induzindo uma cristalização mais rápida. Com a adição de cristais a baixa temperatura é promovida a nucleação secundária homogénea. Estes cristais funcionam como núcleos de cristalização, desprezando-se deste modo a fase de indução. Também a agitação do vinho aumenta a quantidade de núcleos de cristalização e a velocidade de crescimento dos cristais. Após algum tempo de contacto para que ocorra crescimento dos cristais, o THK do vinho e o que foi adicionado são separados por sedimentação, centrifugação ou filtração.

Esta tecnologia utiliza um cristalizador (dotado de um permutador), equipado com um agitador e um fundo de forma cónica (para recolha de sedimentos) onde o vinho é mantido até que o sedimento tenha sido retirado, evitando novamente a dissolução de cristais.

c) Estabilização tartárica em continuo

É um método contínuo de estabilização tartárica em que se dá o arrefecimento rápido do vinho, e onde o tempo de tratamento é definido pelo caudal tratado em função do volume do cristalizador e pelo estado de sobressaturação do vinho. A circulação do vinho dá-se através de um permutador antes de entrar no cristalizador em agitação contínua. No permutador, é sujeito a um choque térmico até temperatura próxima do seu ponto de congelação, permanecendo aí algum tempo após o que sai, sendo filtrado ou centrifugado à temperatura do

tratamento, para evitar a dissolução do THK. A crioconcentração gerada pelo choque térmico leva a um aumento momentâneo do teor alcoólico favorecendo a sobressaturação necessária para a nucleação primária. Reúnem-se assim dentro do cristalizador as condições ideais para o rápido crescimento dos cristais devido ao estado de sobressaturação e à turbulência.

Em suma, quaisquer que sejam os processos, estão sempre envolvidas três etapas sequenciais:

1. Arrefecimento do vinho a uma temperatura próxima do seu ponto de congelação;
2. Manutenção do vinho à mesma temperatura durante o tempo necessário, (vários dias no processo estático, alguns minutos no processo dinâmico);
3. Filtração final do vinho a baixas temperaturas para separação dos cristais de THK formados.

Os sistemas que impedem a precipitação tartárica

Os aditivos utilizados como modo de tratamento de ação química, para inibição da cristalização, são:

a) Ácido metatartárico

Resulta de aquecer o ácido tartárico a 170°C produzindo-se entre as moléculas de ácido tartárico uma esterificação entre as funções ácidas e alcoólicas. A sua eficácia como inibidor depende do grau de esterificação que corresponde à percentagem de funções carboxílicas esterificadas. A percentagem mínima legalmente imposta é de 40%. Tende a hidrolisar-se ao longo do tempo e a reconverter-se em ácido tartárico, o que origina a perda do seu efeito inibidor e o aumento da acidez. Este fenómeno está diretamente relacionado com a temperatura, sendo acelerado a temperaturas mais elevadas. A estabilidade tartárica pode durar mais de dois anos se o vinho for mantido a 10-12°C, mas apenas cerca de 3 meses se o vinho estiver a cerca de 20°C. Está por isso indicado para vinhos de consumo rápido.

b) Manoproteínas

As manoproteínas são glicoproteínas que podem existir naturalmente no vinho provenientes das paredes celulares das leveduras, e libertadas durante a

fermentação alcoólica e/ou estágio sobre borras, como resultados da sua autólise. Podem ainda ser adicionadas diretamente ao vinho sob a forma de preparados comerciais. Estes compostos, extraídos das paredes de leveduras detêm um poder inibidor sobre a cristalização dos sais do ácido tartárico, uma vez que condicionam o crescimento dos cristais por se ligarem aos pontos de nucleação, impedindo a expansão da estrutura dos mesmos. Comparando o seu efeito temporal com o do ácido metatartárico, as manoproteínas são mais estáveis e têm um efeito de proteção tartárica duradouro. A utilização de manoproteínas é um tratamento limitado aos vinhos brancos porque em vinhos tintos estas podem reagir com os taninos e precipitar.

c) Carboximetilcelulose (CMC)

É uma celulose esterificada em C6 e em C2 com grupos carboximetilo, e cuja eficácia é função do grau de substituição e de polimerização. As CMCs apresentam ao pH do vinho, cargas negativas que atuam sobre os grupos carboxilos permitindo a adsorção sobre os cristais de THK, inibindo o seu crescimento. O mesmo acontece aos iões K^+ e Ca^{2+} , provocando a diminuição dos iões livres, que participam na cristalização. Em vinhos tintos, as CMCs interagem com compostos fenólicos aumentando a turvação destes e reduzindo o efeito inibidor e o desempenho da CMC. Por este motivo também são mais eficientes em vinhos brancos

d) Poliaspartato de potássio

O poliaspartato de potássio utilizado em enologia apresenta-se na forma de um pó castanho claro, inodoro, muito solúvel em água. Atua como coloide protetor e é eficaz na estabilização tartárica dos vinhos, sendo produzido exclusivamente a partir do ácido L-aspártico. Pensa-se que o modo de ação do poliaspartato seja semelhante à do ácido metatartárico e à da CMC, tendo estes uma carga negativa que interage com os iões de potássio existentes no vinho. Isto porque o poliaspartato de potássio é também carregado negativamente ao pH do vinho, afetando a precipitação de cristais de bitartarato de potássio e o crescimento destes.

Num ensaio, em 4 vinhos brancos, por nós realizado, testámos a aplicação de poliaspartato de potássio (PASP 1 e 2, dois produtos comerciais diferentes e duas diferentes quantidades aplicadas) e comparámos com a aplicação de ácido metatartárico (dose máxima recomendada). Os resultados do teste do minicontacto apresentam-se na tabela 2.

Tabela 2– Resultado do teste de minicontacto (variação da condutividade) em 4 vinhos brancos.

		Variação da condutividade eléctrica (μScm^{-1})				
	Testemunha	PASP1	PASP1	PASP2	PASP2	AMT
		50 mL/hL	100 mL/hL	50 mL/hL	100 mL/hL	100mg/hL
Vinho 1	83	22,2	18,7	28,2	20,7	13,35
Vinho 2	72	22,05	17,8	26,55	19,6	13,05
Vinho 3	108	27,25	22,05	42,55	24,75	14,15
Vinho 4	59	21,3	18,55	26,35	19,00	13,85

Da observação dos valores obtidos verifica-se que o tratamento com ácido metatartárico conduziu a vinhos muito estáveis ($\Delta C < 20 \mu\text{Scm}^{-1}$). Com a aplicação dos poliaspartatos houve diminuição da condutividade, mais acentuada no PASP1, e para ambos com a dose mais elevada obtiveram-se sempre variações de condutividade inferior a $25 \mu\text{Scm}^{-1}$.

Tabela 3 – Valores de condutividades em vinhos brancos, rosados e tintos obtidos pelo teste do minicontacto

	Ci(μS)	Cf (μS)	$\Delta C(\mu\text{S})$		Ci(μS)	Cf (μS)	$\Delta C(\mu\text{S})$
	Sem adição de ácido metatartárico				Com adição de ácido metatartárico		
VB1	1194.6	1120.2	74.4		1197.0	1190.5	6.5
VB2	1156.8	992.4	164.4		1165.3	1159.5	5.8
VB3	1407.4	1168.1	239.3		1407.5	1400.0	7.5
VR1	1148.4	942.8	205.6		1148.6	1133.8	14.8
VR2	1319.6	1012.1	307.5		1327.3	1312.2	15.1
VR3	1166.9	986.0	180.9		1166.2	1157.0	9.2
VT1	1872.9	1808.9	64.0		1871.1	1841.9	29.2
VT2	1445.5	1356.4	89.1		1448.6	1430.7	17.9
VT3	1587.4	1325.8	261.6		1584.9	1558.3	26.6

Legenda: VB – vinho branco; VR – vinho rosado; VT – vinho tinto; Ci – condutividade inicial; Cf – condutividade final; ΔC – variação da condutividade (Cf-Ci)

Na tabela 3 apresentam-se valores obtidos pelo teste do mini-contacto para vinhos brancos, rosados e tintos antes e depois da adição de 10g/hL de ácido metatartárico. Pela observação destes valores verifica-se que o grau de instabilidade é muito diferente entre os vinhos (observando a primeira coluna de $\Delta C(\mu S)$) e que a adição de ácido metatartárico conduz a vinhos estáveis (observando a segunda coluna de $\Delta C(\mu S)$).

Os sistemas que eliminam os catiões envolvidos nas precipitações tartáricas

a) Osmose inversa

A osmose inversa é um processo em que ocorre a concentração de uma solução por eliminação de água, sob a ação de uma pressão superior à pressão osmótica, e através de membranas específicas. Durante o processo dá-se o fracionamento temporário do vinho em duas fases: o permeado e o concentrado. O concentrado é a fração que contém os tartaratos. Esta fração sofre um arrefecimento durante um curto período de tempo para promover a cristalização dos sais tartáricos. É posteriormente filtrada para a remoção dos cristais e misturada com o permeado para a reconstituição do vinho. Este tratamento é eficaz apenas em relação ao THK.

b) Electrodialise

A eletrodialise é um processo que permite separar iões de moléculas neutras em solução de acordo com a sua carga elétrica. O processo acontece através de membranas de permeabilidade seletiva aos iões de acordo com a sua carga e sob ação da passagem de um campo elétrico. Os iões movem-se através do campo elétrico num sentido ou noutro, sendo assim possível extraí-los em grande quantidade da solução. O princípio da eletrodialise é baseado nas propriedades seletivas das membranas permitindo somente a passagem de catiões ou de aniões. Deste modo, os iões de K^+ e Ca^{2+} são eliminados através das membranas catiónicas e os iões de bitartarato (TH^-) são eliminados através das membranas aniónicas. Trata-se de um processo que se adapta ao equilíbrio físico-químico de cada vinho, eliminando somente a quantidade de potássio (e cálcio) e de ácido tartárico necessária à obtenção da estabilidade. Deste modo a intensidade do tratamento por

eletrodialise é “adaptável” em função da instabilidade tartárica de cada vinho, e é limitada à necessidade da prevenção dos riscos de aparecimento de cristais nos vinhos engarrafados. Para além disso, o tratamento elimina uma parte do cálcio, tornando os vinhos mais estáveis ao nível das precipitações de tartarato neutro de cálcio.

c) Troca iónica

A estabilização tartárica de vinhos mediante resinas de permuta iónica tem como princípio o intercâmbio reversível de catiões entre um líquido, o vinho, e um sólido, as resinas sintéticas insolúveis e permeáveis (resinas permutadoras de catiões). Este facto permite diminuir principalmente o K^+ e o Ca^{2+} , mas também outros catiões como o Na^+ e o Mg^{2+} , deixando o vinho mais estável do ponto de vista das precipitações tartáricas. Por haver diminuição do estado de sobressaturação do bitartarato de potássio e do tartarato neutro de cálcio, permitindo a sua solubilidade, evita-se a sua posterior cristalização e precipitação. A diminuição destes catiões, Ca^{2+} e K^+ , por permuta com H^+ (ou Na^+) contribui para a diminuição do pH dos vinhos tratados. Isto significa, por exemplo, que ao tratar um vinho com uma resina catiónica de sódio, o Na^+ é trocado com o K^+ (e outros catiões) do vinho, podendo dar origem a bitartarato de sódio, que é solúvel, logo não vai precipitar, e neste caso também há pouca alteração do pH, mas há um aumento do teor de sódio que pode ser indesejável. Se a resina catiónica for de hidrogénio, os catiões do vinho são trocados por iões H^+ e verifica-se uma diminuição do pH. Isto pode ser favorável, em vinhos de baixa acidez total e alto pH.

O Codex Enológico Internacional estabelece na sua Monografia Resinas Permutadoras de Catiões, as limitações de utilização das resinas permutadoras de catiões. Este tratamento não deve: 1. alterar as características do vinho; 2. diminuir a intensidade da cor do vinho; 3. diminuir a concentração de catiões metálicos no vinho abaixo de 300 mg/L; 4. fazer baixar o pH do vinho a menos de 3,0 e a diminuição do pH não deve exceder 0,3 unidades de pH. Além disso a resina não deve transmitir ao vinho, matérias ou outras características (resultantes do tratamento da própria resina) que naturalmente não existam no mesmo. Estas

resinas, de troca catiónica, devem ser regeneradas em ciclo ácido, e apenas uma parte do vinho, a necessária para se alcançar a estabilidade tartárica, passa pelas resinas.

Num ensaio por nós realizado com 4 vinhos tintos e dois vinhos brancos, utilizando um equipamento industrial de troca iónica verificámos alterações quer do pH quer to teor em K⁺ dos vinhos como se mostra na tabela 4:

Tabela 4 – valores de potássio e pH de vinhos antes e depois do tratamento por troca iónica

	Teor em potássio (mgL ⁻¹)		pH	
	VT	VR	VT	VR
Vinho tinto 1	1415 ^b ± 30	1081 ^a ± 6	3,87 ^b ± 0,01	3,56 ^a ± 0,01
Vinho tinto 2	1438 ^b ± 65	1261 ^a ± 90	3,84 ^b ± 0,01	3,54 ^a ± 0,01
Vinho tinto 3	1485 ^b ± 16	1079 ^a ± 13	3,78 ^b ± 0,01	3,43 ^a ± 0,01
Vinho tinto 4	1362 ^b ± 15	1240 ^a ± 1	3,77 ^b ± 0,01	3,63 ^a ± 0,01
Vinho branco 5	946 ^b ± 14	778 ^a ± 10	3,45 ^b ± 0,01	3,30 ^a ± 0,01
Vinho branco 6	936 ^b ± 7	756 ^a ± 9	3,52 ^b ± 0,01	3,42 ^a ± 0,01

Legenda: VT – vinho testemunha; VR – vinho testemunha loteado com vinho tratado por resinas de troca iónica. Letras diferentes na linha significam diferenças significativas a p<0,05.

A instabilidade proteica em vinhos

Outro problema de instabilidade que afeta sobretudo os vinhos brancos e rosado, é a instabilidade proteica. À semelhança do que acontece com a instabilidade tartárica, é um fenómeno natural, mas que o enólogo quer evitar que aconteça em vinhos engarrafados. Uma instabilidade proteica, vulgarmente designada casse proteica, significa que algumas proteínas existentes no vinho podem-se agregar e precipitar dando origem a um fenómeno de turvação que é de todo necessário evitar que aconteça a um vinho engarrafado. Muitas vezes o despoletar desta situação deve-se ao facto de o vinho ser sujeito a temperaturas elevadas, como acontece por vezes no transporte marítimo. Se o vinho apresentar uma turvação ou um depósito no fundo da garrafa, que turva o vinho quando se agita a garrafa, não é um bom indicador para o consumidor que procura um vinho límpido (figura 5).

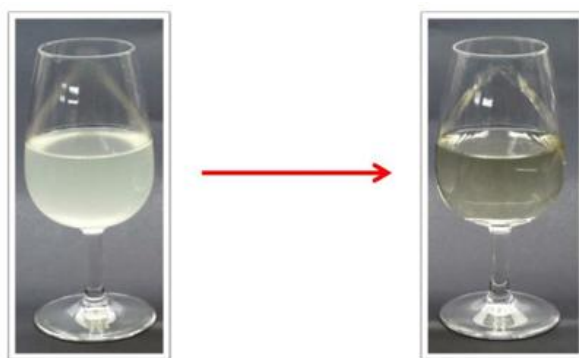


Figura 5 – Vinho branco turvo e límpido

Os vinhos têm proteínas em concentrações variáveis, dependentes da casta e do seu grau de maturação, visto que o teor em proteínas aumenta com o grau de maturação e com a tecnologia utilizada. A colheita mecânica pode dar origem a teores mais elevados de proteínas no mosto em relação à colheita manual. Os processos de maceração pelicular por exemplo aumentam o teor em proteínas de um mosto. A prensagem utilizada em uvas brancas para obtenção do mosto também condiciona o teor em proteínas. A utilização de alguns aditivos, como enzimas ou dióxido de enxofre, durante a obtenção dos mostos, também podem aumentar o teor em proteínas dos mostos. O processo que conduz a uma casse proteica está dependente de inúmeros fatores como a temperatura, o pH, a composição em proteínas do vinho, os ácidos orgânicos

existentes no vinho, o teor alcoólico, os compostos fenólicos entre outros. E é precisamente pela riqueza em compostos fenólicos dos vinhos tintos, nomeadamente o seu teor em taninos, que este fenómeno não acontece em vinhos tintos. As proteínas e os taninos, porque ao pH dos vinhos estão carregados positiva e negativamente, respetivamente, vão formando um complexo proteína-tanino que vai precipitando ao longo do processo de fermentação, e assim, um vinho tinto vai naturalmente eliminando as proteínas que poderiam vir a causar uma casse proteica.

O mecanismo de formação da casse proteica:

As proteínas presentes nos vinhos são maioritariamente as provenientes da própria uva e em menor extensão as provenientes da autólise das leveduras. Apresentam um peso molecular variado entre 6 e 200 kDa. As principais proteínas envolvidas na casse proteica são as proteínas do tipo taumatina e as quitinases que apresentam baixos pesos moleculares (até cerca de 30kDa). Por ação do calor as proteínas desenrolam-se, desnaturando-se, floculam dando origem a turvação e a precipitações.

A determinação da instabilidade proteica:

Existem vários testes para avaliar a estabilidade ou instabilidade proteica em vinhos, envolvendo a desnaturação das proteínas geralmente por aquecimento ou por adição de um ácido ou álcool. Mas estes testes não são específicos para proteína, por exemplo em testes baseados no calor, outros compostos como polissacáridos ou taninos podem influenciar o grau de turvação.

Teste de estabilidade proteica a quente

É um teste muito usado pela facilidade de execução e por fornecer resultados fiáveis. Não existe um protocolo oficial, mas esta metodologia assenta no princípio de que quando as proteínas são desnaturadas pelo calor, induz-se a sua precipitação. O aquecimento converte as proteínas em formas solúveis e quando a temperatura volta a baixar as proteínas floculam e precipitam. Um exemplo: uma amostra de vinho (cerca de 100 mL) é filtrada por uma membrana de 0,45mm. O vinho filtrado é colocado em 4 tubos de ensaio. Dois tubos colocam-se em banho-maria a 80°C durante 30 minutos, depois ficam em repouso 24H à temperatura ambiente, e após este tempo lê-se a

turbidez dos 4 tubos. Um vinho é considerado instável se houver um aumento maior que 2 unidades entre o valor da amostra não aquecida (testemunha) e a amostra aquecida do vinho.

Mas o critério pode ser de 1 ou 0,5 consoante o risco que se queira correr na potencial formação de turvação no vinho durante o armazenamento.

Nota: Na medição da turbidez e de acordo com a literatura, considera-se:

Vinhos Brancos - Brilhante se $< 1,0$ NTU Turvo se $> 4,4$ NTU

Vinhos Rosados - Brilhante se $< 1,2$ NTU Turvo se $> 4,8$ NTU

Vinhos Tintos - Brilhante se $< 2,0$ NTU Turvo se $> 8,0$ NTU

A figura 6 mostra um turbidímetro e os padrões usados para a sua calibração.



Figura 6 – Turbidímetro existente no Laboratório de Enologia Colaço do Rosário – Universidade de Évora

Teste do ácido tricloroacético (TCA)

Este teste baseia-se no princípio de que as proteínas precipitam na presença de um ácido. A 10 mL de vinho adiciona-se 1 mL de TCA a 55% (v/v), aquece-se em banho maria a 100°C durante 5 minutos, arrefece a temperatura ambiente e lê-se a turvação. Assume-se que se $\text{NTU} < 19$ o vinho está estável. Este teste tem tendência a sobrestimar a quantidade de um agente colante a adicionar ao vinho.

Bentotest

O bentotest é um reagente (solução de ácido fosfomolibdénico em HCl) que permite uma rápida identificação da presença de proteínas em vinhos brancos e rosados,

induzindo a sua precipitação pela agregação ao ião molibdénico. Uma vez que precipita todas as proteínas existentes nos vinhos, e não só as implicadas na instabilidade proteica, também sobrestima as doses de agentes colantes a aplicar. Uma vantagem é ser rápido, visto que a turvação demora apenas minutos a aparecer.

Teste do álcool

Este método baseia-se no princípio de que o álcool reduz a solubilidade das proteínas levando à precipitação das frações menos solúveis, ao pH do vinho. Porém são os polissacáridos existentes nos vinhos que mais precipitam por adição de álcool, seguidos das proteínas e de polifenóis. Na prática consiste em adicionar 2 mL de álcool a 77% (v/v) a 20mL de vinho a 5°C e ler a turbidez a temperatura ambiente. Se NTU < 10 assume-se que o vinho está estável.

O tratamento da instabilidade proteica:

A estabilidade proteica de um vinho consegue-se removendo as proteínas instáveis. Este processo, muitas vezes designado por colagem, consiste na adição de um agente que provoca a floculação e precipitação das proteínas, que assim se podem remover dos vinhos por filtração. Outra alternativa de remoção de proteínas dos vinhos é através de ultrafiltração. Alternativamente pode-se adicionar enzimas (protéases) com o intuito de degradar as proteínas transformando-as em péptidos que já não têm a capacidade de flocular.

A bentonite

A bentonite é uma argila montemorilonítica, um silicato hidratado de alumínio, que contém catiões de troca (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^{+}). As principais bentonites são cálcicas e sódicas, sendo as últimas mais usadas em enologia. Ao pH dos vinhos, a bentonite apresenta uma carga negativa permitindo que as proteínas existentes, carregadas positivamente se liguem. A utilização da bentonite tem inconvenientes: dá um grande volume de borras e não é selectiva provocando a perda de outros compostos para além das proteínas, como compostos fenólicos e compostos do aroma. Por outro lado, pode ser usada em vinhos e em mostos. Aquando da sua utilização em mostos recomenda-se a

sua aplicação ao mosto clarificado, mas após o final da fermentação alcoólica já não é conveniente que os vinhos fiquem sobre as borras.

Polissacáridos

A adição de quitosano ou de quitina-glucano, polissacáridos de origem fúngica (*Aspergillus niger* e *Agaricus bisporus*), permite reduzir a turbidez pela precipitação de partículas em suspensão. Podem ser usados para prevenir a casse proteica provocando a precipitação, embora que parcial, de proteínas em excesso. A quitina-glucano (precursor do quitosano) é um copolímero constituído por polissacáridos: quitina (unidade de repetição de N-acetil-D-glucosamina) e beta-(1,3)-glucano (unidade de repetição D-glucose). O quitosano é um polímero constituído por subunidades de N-acetil-D-glucosamina e de D-glucosamina obtida a partir da quitina.

Outros exemplos de polissacáridos são as manoproteínas, embora ainda não se saiba bem o seu efeito a longo prazo, e a carragenina, polissacárido proveniente de algas vermelhas. Em estudo estão produtos como o dióxido de zircónia, nanomateriais cerâmicos e nanopartículas magnéticas

A instabilidade da matéria corante coloidal

A instabilidade corante coloidal nos vinhos tintos é muitas vezes atribuída a agregação da matéria corante coloidal formando precipitados e depósitos de cor vermelha. Estes agregados podem formar-se durante as fermentações e o envelhecimento, ou mais tarde em garrafa.

Os coloides macromoleculares dos vinhos tintos são sobretudo polifenóis oligoméricos e poliméricos e polissacáridos. Em princípio, as proteínas precipitaram com os taninos durante os processos de vinificação e foram sendo removidas nas borras, razão pela qual os vinhos tintos tem poucas proteínas e a instabilidade proteica não é um problema.

Os polissacáridos e os polifenóis são complexas misturas de macromoléculas com diferentes estruturas. A sua composição depende da variedade da uva e grau de maturação, bem como do processo tecnológico. A duração da maceração, o uso de enzimas, a escolha da estirpe de levedura ou bactéria para a fermentação alcoólica ou maloláctica, a gestão do oxigénio, ou o envelhecimento sobre as borras, por exemplo, impactam a composição do vinho em polissacáridos e polifenóis e contribuem para aumentar a diversidade e complexidade do equilíbrio coloidal.

O desenvolvimento da instabilidade coloidal relacionada com a matéria corante coloidal está relacionado com a formação de espécies menos solúveis que tendem a formar agregados progressivamente durante o envelhecimento, dependendo de cinéticas relacionadas com a concentração e as condições físico-químicas. Os vinhos tintos novos, quando a baixa temperatura, turvam e deposita-se no fundo do depósito um precipitado que contém polissacáridos, procianidinas, taninos e sais tartáricos.

O teste mais rápido para verificar se há formação de um precipitado envolvendo matéria corante coloidal, é pelo frio, submetendo uma amostra de vinho a temperaturas baixas e observando se há formação de um precipitado.

Para se tratar um vinho que apresente instabilidade da matéria corante coloidal pode-se optar por uma colagem proteica, pela utilização do frio (embora esta estabilização seja temporária) ou ainda pelo uso de aditivos como a goma arábica que atua como coloide protetor. No caso de um vinho tinto com grande instabilidade recomenda-se uma colagem com bentonite. A utilização de um tanino enológico com o objectivo de

modificar o equilíbrio taninos/antocianinas, também pode contribuir para assegurar uma melhoria na estabilidade da matéria corante.

É importante frisar que durante o envelhecimento de um vinho em garrafa ocorrem reações de polimerização envolvendo compostos fenólicos, que se depositam sobre a forma de placas no vidro da garrafa. Mas são de natureza diferente da matéria corante coloidal, e é um acontecimento natural e consequência de longos períodos de evolução. A existência de um precipitado envolvendo matéria corante coloidal em vinhos novos é consequência de uma má estabilização do vinho e pode ter graves consequências económicas.

As precipitações metálicas

As precipitações metálicas dependem de 3 causas: a concentração de metais nos vinhos, o potencial de oxidação redução e a presença de substâncias ou condições que originem precipitações.

Os metais que podem originar precipitações são: o ferro quando se encontra em concentrações de 5 a 10 mg/L e quando pelas condições redox do meio esteja na forma de Fe^{3+} , e o Cobre quando presente em concentrações superiores a 0,3 a 0,5 mg/L e se encontre no estado reduzido Cu^+ .

Outros metais como o chumbo, cádmio, zinco e manganês podem originar instabilidades, mas a frequência de ocorrência é ainda mais baixa do que com o ferro ou o cobre. Quer a casse férrica quer a casse cúprica são acidentes raros, porque nas adegas modernas pouco contacto há com materiais contendo ferro ou cobre.

A casse férrica

Os vinhos contêm ferro em quantidades muito variáveis com a casta, o solo, alguns tratamentos e o possível enriquecimento quando uvas ou vinhos contactam com determinados materiais passíveis de os enriquecer em ferro (cada vez mais raro).

A casse férrica pode ser explicada através da figura 7.

O rácio $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ nos vinhos depende das condições de armazenamento, especialmente do SO_2 . Os vinhos são mais sujeitos a casses férricas depois de arejamentos porque aumenta a proporção de Fe^{3+} , o principal responsável pela casse férrica. No vinho, parte do ferro que se encontra na forma de Fe^{3+} está envolvido em complexos solúveis com ácidos orgânicos especialmente o ácido cítrico, e o vinho mantém-se límpido. Em vinhos brancos, o Fe^{3+} pode combinar-se com o ião fosfato, PO_4^{3-} , originando fosfato férrico, $\text{Fe}(\text{PO}_4)_3$, que inicialmente está na forma coloidal. Contudo, este flocula e precipita por intervenção de proteínas e certos catiões como o Ca^{2+} e K^+ . Em vinhos tintos o Fe^{3+} pode combinar-se com taninos originando a casse azul ou com matéria corante dando origem a casse negra.

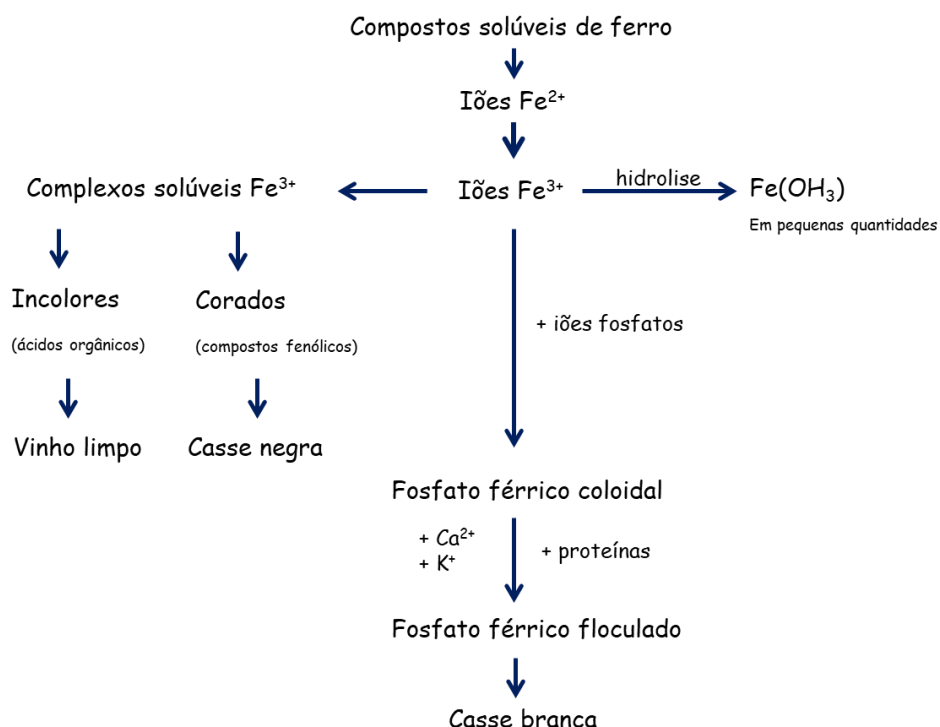


Figura 7 – O mecanismo da casse férrica

Existe um teste de estabilidade de um vinho face à casse férrica. Consiste em oxigenar uma amostra de vinho em recipiente de vidro branco (com oxigénio puro, ar comprimido ou agitação enérgica durante 30 seg.), deixar repousar, rolhado, (de cabeça para baixo, no frio e no escuro.) Geralmente usam-se garrafas transparentes, meia cheias. Passadas 48 horas, o vinho apresenta-se turvo, se o vinho tiver tendência a casses. Se o vinho se mantiver límpido durante uma semana considera-se que o risco é reduzido.

Os tratamentos preconizados passam por reduzir o teor em ferro (adição de fitato de cálcio, caseína ou ferrocianeto de potássio), tratamentos antioxidantes (adição de ácido ascórbico), tratamentos complexantes (adição de ácido cítrico) ou tratamentos protetores (adição de goma arábica).

Para vinhos tintos com excesso de ferro, o fitato de cálcio (éster hexafosfórico do inositol) reduz o teor de ferro por causa da afinidade do Fe^{3+} com os grupos fosfóricos. Para tal, depois de calculada a dose a adicionar é necessário arejar o vinho para promover a passagem do ferro ao estado férrico, adiciona-se o fitato de cálcio e depois é necessário efetuar uma colagem proteica para assegurar a floculação e precipitação dos coloides fitato-férricos. O inconveniente desta tecnologia é a necessidade de forte

arejamento ao vinho. A caseína, embora não sendo usada com esta finalidade, porque é uma fosfoproteína tem grande afinidade pelo ferro férrico e reduz o seu teor quando é aplicada em vinhos. A colagem com ferrocianeto de potássio, também chamada clarificação azul, promove a formação de coloides de ferrocianeto de ferro que são floculados e precipitados com proteínas após uma colagem proteica. A colagem com ferrocianeto de K é problemática: 1 – necessita de ensaios prévios para determinar a quantidade a adicionar; 2 – o resíduo é problemático do ponto de vista ambiental; 3 – situações de sobrecolagem com adições demasiado elevadas podem originar a formação de iões de cianeto livres; 4 – é difícil tratar vinhos cujo teor em cobre seja alto. Quanto aos tratamentos antioxidantes, a adição de ácido ascórbico, ao engarrafamento, baseia-se no princípio da diminuição da formação de ferro na forma férrica já que é um agente redutor. O ácido cítrico, tratamento complexante, baseia-se na afinidade do ferro férrico com os ácidos orgânicos formando complexos solúveis. Dos tratamentos protetores, a goma arábica é um coloide estável que se opõe à floculação de coloides instáveis, como é o caso dos coloides férricos. Não é suficiente para evitar a casse férrica, mas apresenta boa eficácia em associação com o ácido cítrico.

A casse cúprica

A maior parte do cobre existente nos mostos vai sendo eliminado durante a tecnologia de fabrico do vinho porque forma sais muito insolúveis que se eliminam com as borras. Os mostos podem ter teores neste elemento superiores a 5 mgL^{-1} , mas no vinho o limite legal máximo é de 1 mgL^{-1} . A casse cúprica pode ocorrer em vinhos brancos, sulfitados, com teor de cobre elevado, mantidos ao abrigo do ar e expostos à luz. Neste caso é o ião cuproso Cu^+ o principal interveniente do precipitado de cor castanho-avermelhado que se forma. A formação desta turvação depende:

- Do teor de cobre do vinho ($< 0,2 \text{ mgL}^{-1}$, não se forma turvação; $> \text{ou} = 0,5 - 0,6 \text{ mgL}^{-1}$ é possível a formação de turvação; $> \text{ou} = 1,2 \text{ mgL}^{-1}$ existe formação de turvação e precipitado);
- Do anidrido sulfuroso, dado contribuir para a formação de ambiente redutor;
- Da luz solar porque acelera os fenómenos de redução;
- Da temperatura - aumento da temperatura favorece a casse cúprica;
- Da presença de proteínas necessárias à floculação.

Por estes motivos é uma casse que pode acontecer em vinhos mantidos em garrafa durante muito tempo e com SO_2 .

A casse cúprica ocorre em duas etapas: primeiro forma-se um coloide instável de sulfureto de cobre, SCu , que numa segunda etapa flocula com a participação das proteínas, originando-se a turvação e a precipitação.

Existem dois testes para despistar a probabilidade de ocorrência de uma casse cúprica:

1 - Coloca-se o vinho a avaliar numa garrafa de vidro branco. Rolha-se. Mantém-se a garrafa deitada e exposta à luz solar indirecta. Se se mantiver límpido durante uma semana o risco de casse é reduzido. Este teste pode realizar-se com recurso à exposição da garrafa à radiação U.V. durante 24 horas.

2 - Outro teste consiste em colocar a garrafa numa estufa a 30°C , durante 3 - 4 semanas. Se o vinho se mantiver límpido é reduzido o risco de casse.

A utilização de resinas de troca iónica ou a aplicação do ferrocianeto de potássio podem ser usados para diminuir o teor em cobre de um vinho. A bentonite também pode ajudar a prevenir esta casse visto que elimina as proteínas necessárias para a floculação do coloide cúprico. E a goma arábica que, actuando como um coloide protector, bloqueia a floculação do coloide cúprico.

Bibliografia:

- Cabrita, M.J.; Garcia R.; Catarino, S. (2016) "Recent developments in wine tartaric stabilization" In Recent advances in wine stabilization and conservation technologies, pp 273. António Manuel Jordão e Fernanda Cosme Editors, Nova Science Publishers Inc., New York. Chapter 2, pp 49-64. ISBN: 978-1-63484-883-1
- Cameira dos Santos, P. J., Pereira, O. M., Gonçalves, F., Tomás Simões, J., de Pinho, M. N., (2000) Ensaio de estabilização tartárica em vinhos portugueses: Estudo comparativo da electrodiálise e de um método tradicional. *Ciência Téc. Vitiv.*, 15, 95–108.
- Crachereau, J.C., Gabas, N., Blouin J., Hébrard, B., Maujean, A., (2001) Stabilisation tartrique des vins par la carboxyméthylcellulose. *Bull. O.I.V.*, 841-842.
- Feuillat, M., (2003) Yeast macromolecules: origin, composition and enological interest. *Am. J. Enol. Vitic.*, 54, 211-213
- Flanzy, C., (2003) Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. 2ª Edição, AMV Ediciones; Ediciones Mundi Prensa. Madrid.
- García, J. M., Alcántara, R., Martín, J., (1991) Evaluation of wine stability to potassium hydrogen tartrate precipitation. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42, 336-340
- Gonçalves, F., Fernandes, C., Cameira dos Santos, P., Pinho, M.N., (2003) Wine tartaric stabilization by electrodialysis and its assessment by the saturation temperature. *J. Food Eng.*, 59, 229–235
- International Oenological Code (2015) International Organisation of Vine and Wine. Paris. ISBN 979-10-91799-42-3
- International Code of Oenological Practices (2015) International Organisation of Vine and Wine Paris. ISBN: 979-10-91799-35-5
- Lasanta, C., Gómez J., (2012) Tartrate stabilization of wines. *Trends Food Sci. Tech.*, 28, 52-59.
- Cosme F., Fernandes C., Ribeiro T., Filipe-Ribeiro L. and Nunes F.M. (2020) White Wine Protein Instability: Mechanism, Quality Control and Technological Alternatives for Wine Stabilisation—An Overview. *Beverages*, 6, 19; doi:10.3390/beverages6010019
- Steven C. Van Sluyter, Jacqui M. McRae, Robert J. Falconer, Paul A. Smith, Antony Bacic, Elizabeth J. Waters and Matteo Marangon (2015) Wine Protein Haze: Mechanisms of Formation and Advances in Prevention. *J. Agric. Food Chem.* 63, 4020–4030; doi: 10.1021/acs.jafc.5b00047
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., (2006) Handbook of Enology. Vol. 2. The chemistry of wine. Stabilization and Treatments. 2nd Ed. Wiley, England.
- Bin Tian and Roland Harrison. Pathogenesis-Related Proteins in Wine and White Wine Protein Stabilization. In: Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.92445>
- Cardoso, A.D. (2019) O vinho da uva à garrafa. 2ª edição. Quântica Editora, Conteudos Especializados Lda.