

Influence of vinification stages for the acidity of *Vitis labrusca* wines

Influência de etapas do processo de vinificação na acidez de vinhos elaborados com uvas *Vitis labrusca*

Títulos abreviados:

Acidity evaluation in common wines

Avaliação da acidez em vinhos comuns

Bruna Carla Agustini¹, Daniel Braga de Lima¹, Debora Brand¹ e Tania M. B. Bonfim¹

ABSTRACT

Acidity is one of the most important parameters for sensorial profile of wines and is measured through the presence of organic acids, especially malic and tartaric acids, and of cations such as potassium. This study has used a high performance liquid chromatography methodology to evaluate the malic, lactic and tartaric acid concentrations in common wines elaborated with Terceira grapes (*Ives*), to verify their influence in wine acidity and pH. Additionally, the potassium content was measured by spectrometry of atomic emission. The generated data were used in the principal component analysis (PCA) and in the determination of the correlation between the analyzed parameters. The occurrence of malolactic fermentation was able to alter wine composition leading to the separation of the samples in two clusters by PCA analysis. The overall samples presented acid characteristics, apart from the fact of completing malolactic fermentation. The correlation analysis made feasible the determination of the influence of malolactic fermentation in the wine acidity and pH, but no influence was noticed related to potassium and tartaric acid concentrations.

Keywords: malolactic fermentation; Terceira (*Ives*) grapes; chemometric segregation.

RESUMO

A acidez é um dos parâmetros mais importantes para o perfil sensorial dos vinhos, sendo determinada pela presença de ácidos orgânicos, principalmente os ácidos málico e tartárico, e de cátions, como o potássio. O presente trabalho utilizou uma metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência para avaliar as concentrações dos ácidos málico, láctico e tartárico em vinhos comuns elaborados com uva Terceira, para verificar a influência destes compostos na acidez e no pH dos vinhos. Ainda, determinou-se a concentração de potássio por espectrometria de emissão atômica. Os dados gerados foram utilizados na análise de componentes principais (PCA) e na determinação da correlação entre os parâmetros analisados. A ocorrência da fermentação maloláctica foi capaz de alterar a composição dos vinhos de modo a separá-los em dois grupos, resultantes da análise de PCA. Independentemente dos vinhos terem passado pela fermentação maloláctica completa, apresentaram características ácidas. Pela análise de correlação foi possível determinar a influência da fermentação maloláctica na acidez e no pH dos vinhos, ao contrário do que foi observado quando da análise das concentrações de potássio e de ácido tartárico.

Palavras-chave: fermentação maloláctica; uvas Terceira (*Ives*); segregação quimiométrica.

¹ Universidade Federal do Paraná – Departamento de Farmácia
Av. Lothario Meissner, 632. Jd. Botânico – 80210-170 – Curitiba – PR -
E-mail: tbonfim@ufpr.com

No Brasil, 80 % dos vinhos consumidos são elaborados de cultivares híbridos ou americanos (PROTAS; CAMARGO; MELLO, 2002). No estado do Paraná, o cultivar conhecido como “Terci” abrange uma grande extensão em área plantada. Devido ao extenso território brasileiro e seus regionalismos, este cultivar é também chamado “Bordo (Ives)” no Rio Grande do Sul ou “Folha de Figo” em Minas Gerais (CAMARGO, 2003; HOFFMANN; CAMARGO; MAIA, 2005).

Os ácidos orgânicos são fundamentais para a composição do vinho (especialmente os vinhos brancos), estabilidade e perfil sensorial dos mesmos. A estabilidade microbiológica e físico-química é aumentada em virtude da ação conservante destes ácidos (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006). A acidez do mosto e do vinho pode ser avaliada por meio da acidez titulável, da concentração dos ácidos orgânicos e da acidez real (expressa pelo pH). O pH do vinho depende do tipo e da concentração dos ácidos orgânicos, e da concentração de cátions, especialmente o potássio (RIZZON; MIELE, 2002).

Entre os fatores que interferem no equilíbrio ácido-base e que modificam o pH estão a dissolução dos minerais e ácidos orgânicos da película e da polpa da uva durante o contato da casca com o mosto; a síntese de ácidos orgânicos durante a fermentação alcoólica; a degradação do ácido málico em ácido láctico durante a fermentação maloláctica; e a precipitação do ácido tartárico na forma de bitartrato de potássio e tartarato neutro de cálcio (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Sendo assim, o presente estudo objetivou avaliar a acidez dos vinhos comuns paranaenses e verificar a possível influência de etapas do processo de vinificação neste parâmetro.

Foram analisados 25 vinhos tintos secos elaborados com uvas Terci da safra de 2009 oriundos de municípios situados na região metropolitana de Curitiba, estado do Paraná.

Estes vinhos foram submetidos à análise de pH utilizando potenciômetro 330i (WTW, Alemanha), à análise do teor de potássio determinada por espectrometria de emissão atômica com atomização em chama (PERKIN-ELMER, 1976) e, por último, tiveram a concentração de ácido tartárico, málico e láctico determinada por cromatografia líquida de alta eficiência. As análises cromatográficas para identificação e quantificação de ácidos orgânicos foram realizadas pelo método descrito por Zotou, Loukou e Karava (2004). Cada amostra

passou por um pré-tratamento para retirada de polifenóis e substâncias neutras que poderiam causar interferência na quantificação. Em seguida 10 mL de amostra foram transferidos para frasco de Erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,5 g de polivinilpirrolidona, o qual foi levado ao agitador-incubador por 15 minutos a 150 rpm. Em seguida, o conteúdo do frasco de Erlenmeyer foi submetido à centrifugação (Bio Eng, modelo BE 6000) durante 15 minutos a 2100 x g. O sobrenadante foi removido, filtrado a 0,45 µm (PVDF, Millipore, USA) e diluído na proporção de 1:2 com água ultrapura. Em seguida corrigiu-se o pH desta diluição para $9,0 \pm 0,5$ com solução aquosa de hidróxido de sódio 1 M. Paralelamente, acondicionou-se os cartuchos de extração em fase sólida (SPE-SAX, Phenomenex) com 1 mL de metanol e, depois, 1 mL de água ultrapura. Então, adicionou-se 0,5 mL da amostra, a qual foi eluída com 1,5 mL de água ultrapura para a retirada dos compostos neutros e com 2,5 mL de ácido clorídrico 1 M para a eluição dos ácidos orgânicos. Esta última eluição foi filtrada novamente a 0,45 µm (PVDF, Millipore, USA) diretamente a um frasco analítico e submetida à análise cromatográfica. Para esta análise foi utilizada uma coluna cromatográfica C-18 (250 x 4,6 mm; 5 µm) (Waters, Brasil) acoplada ao cromatógrafo Agilent 1100 (Waldbronn, Alemanha) equipado com bomba quaternária G1311A, desgaseificador G1379A, injeção automática G1320A e detector de arranjo de fotodiodos G1315B.

Todos os resultados referentes à concentração de ácidos orgânicos, pH e teor de potássio foram utilizados para a construção da matriz da Análise de Componentes Principais, PCA (Matlab v.7.01). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados representam a média dos seus resultados (Tabela 1).

Tabela 1. Concentrações médias de ácido málico (g.L⁻¹), láctico (g.L⁻¹) e tartárico (g.L⁻¹), teores médios de potássio (mg.L⁻¹) e valores médios de pH dos vinhos analisados.

Amostra	Ácido Málico	Ácido Láctico	Ácido Tartárico	Potássio	pH
1	0,16	4,65	3,66	720	3,37
2	1,39	0,68	3,55	655	3,22
3	0,82	1,86	4,34	790	3,41
4	0,71	1,95	4,69	640	3,07
5	0,05	3,29	2,37	720	3,43
6	1,93	1,60	3,42	645	3,16
7	1,20	2,27	3,69	705	3,20
8	0,59	3,43	4,84	680	3,26

continua

continuação

9	1,07	2,95	4,13	595	3,25
10	1,23	4,55	5,02	750	3,32
11	0,14	4,17	3,43	655	3,24
12	0,47	2,06	2,10	705	3,40
13	0,12	1,53	3,89	685	3,28
14	0,45	1,88	3,07	690	3,31
15	0,21	1,72	3,57	760	3,43
16	0,29	3,45	3,60	795	3,34
17	3,81	0,61	3,66	845	3,12
18	1,75	1,10	2,88	640	3,00
19	1,44	1,46	2,79	635	3,16
20	2,80	0,32	4,94	710	2,98
21	0,13	2,39	5,31	720	3,18
22	0,12	6,88	4,86	575	3,27
23	0,14	2,54	3,98	715	3,54
24	0,05	3,34	3,44	855	3,47
25	0,43	2,09	4,30	860	3,18

O estudo de Rizzon e Miele (2002) acompanhou a evolução da acidez desde a etapa de esmagamento da uva Isabel até o fim da fermentação maloláctica e estabilização tartárica e verificou o aumento do teor de potássio e de ácido tartárico durante as primeiras fases do processo de vinificação em virtude da liberação destas substâncias da película da uva para o mosto. No entanto, à medida que a vinificação prossegue nota-se uma redução do teor de potássio e ácido tartárico, evidenciando o predomínio dos fatores responsáveis pela precipitação tartárica (ex. síntese de etanol) em relação à extração de potássio da parte sólida da uva.

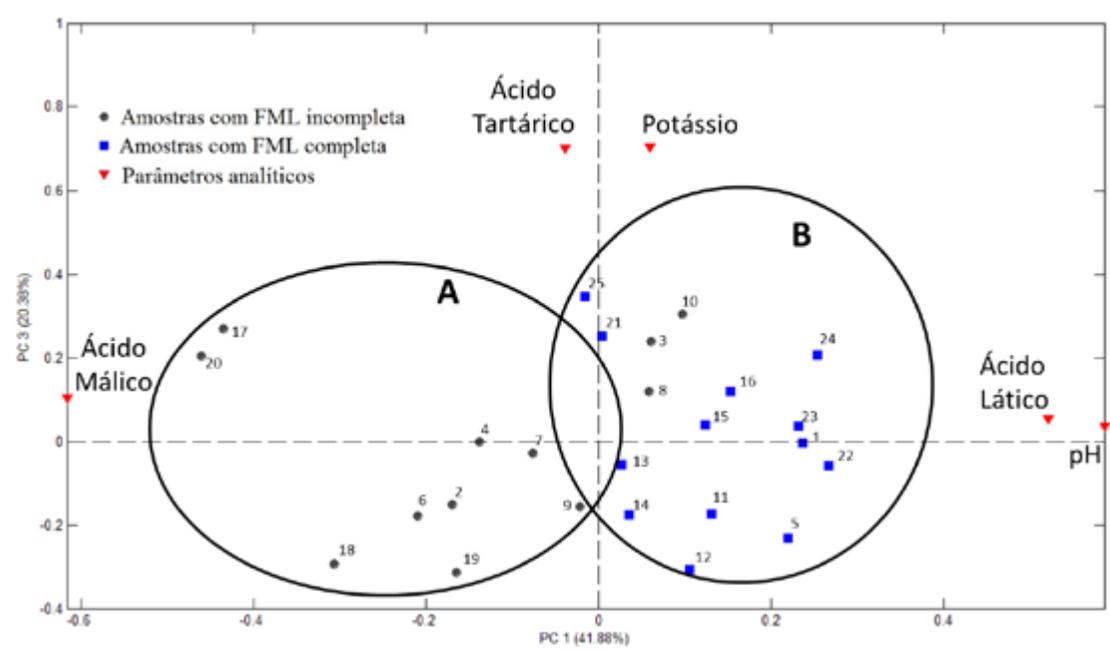
A média da concentração de potássio dos vinhos analisados foi de 710 mg.L⁻¹. Estes valores são ligeiramente inferiores àqueles observados por Rizzon e Miele (2006), 840 mg.L⁻¹, resultante de vinhos de três safras elaborados da variedade Isabel, também um cultivar de *Vitis labrusca*. O potássio é um mineral importante no que diz respeito à tecnologia de produção, uma vez que o excesso desse cátion no mosto acarretaria diminuição da acidez do vinho e tornaria necessária a correção com ácido tartárico. A depleção deste íon, por sua vez, aumentaria a acidez, dificultando o início da fermentação alcoólica (JACKSON, 2008).

A média da concentração de ácido tartárico encontrada nos vinhos analisados foi de 3,82 g.L⁻¹, concentração esta, abaixo do encontrado por Rizzon e Miele (2006). Sabe-se que quanto maior a concentração de ácido tartárico, menor a probabilidade da fermentação maloláctica afetar a acidez e o pH do vinho (JACKSON, 2008). Nossos resultados confirmam esta informação, visto que a baixa concentração de ácido tartárico presente fez com que esta segunda fermentação acarretasse alterações perceptíveis na composição dos vinhos.

A fermentação maloláctica (FML), também conhecida como segunda fermentação, é recomendada para vinhos tintos e para uma parcela dos vinhos brancos, trazendo benefícios como a diminuição da acidez, o aumento da complexidade do aroma do vinho bem como a contribuição à estabilidade microbiana evitando a fermentação na garrafa (SILVA, 2003). No presente estudo, considera-se a ocorrência da fermentação maloláctica completa para os vinhos que apresentam quantidades de ácido málico iguais ou inferiores a 0,5 g.L⁻¹, de acordo com Borges (2008).

Como já mencionado, a FML foi capaz de provocar alterações no perfil químico dos vinhos, fazendo com que fosse possível a segregação destes por meio da ferramenta estatística utilizada, PCA. Esta análise utilizou três componentes principais (PC) para explicar 88,15 % das diferenças entre os vinhos estudados. PC1 explica 41,88 %; PC2, 25,89 %; e PC3, 20,38 %. Esta análise possibilitou a visualização da formação de dois grupos dentro do conjunto amostral. Na Figura 1, o grupo A representa aqueles vinhos que iniciaram, mas não completaram a FML e, por este motivo, encontram-se deslocados para o lado esquerdo do gráfico, se posicionando próximo ao parâmetro de ácido málico. Já o grupo B representa aqueles vinhos que completaram a FML e assim encontram-se distantes do parâmetro de ácido málico e próximos aos parâmetros de ácido láctico e pH. No grupo B é possível visualizar três amostras do grupo A, tal disposição se atribui aos altos valores de pH e de concentração de ácido láctico destes vinhos, fazendo com que os mesmos fossem deslocados para a direita do gráfico, mesmo apresentando valores de ácido málico indicando a FML incompleta. Ainda pela análise da Figura 1 foi possível demonstrar que os parâmetros de ácido tartárico e potássio encontram-se numa posição tal que pouco influenciaram na formação dos grupos dentro do conjunto amostral.

Figura 1. Representação em biplot dos scores (amostras) e loadings (parâmetros) resultantes da análise de PCA.



A diminuição da acidez, um dos efeitos da fermentação maloláctica, foi confirmada pela análise de correlação de Pearson, em nível de significância de 99 %, onde nota-se a correlação negativa entre os valores de pH e ácido málico ($r = -0,65$) e entre os valores dos ácidos málico e láctico ($r = -0,56$). À medida que a concentração de ácido láctico aumenta, diminui a concentração de ácido málico. Conseqüentemente, à medida que a concentração de ácido málico, dicarboxílico, diminui, os valores de pH aumentam uma vez que predomina o ácido láctico, este, monocarboxílico.

Outra maneira de avaliar a alteração na acidez foi dada pela determinação do pH, a qual demonstrou que o valor médio para os vinhos que completaram esta segunda fermentação foi de 3,34 e os demais apresentaram este valor como sendo 3,19. Rizzon e Miele (2006), observaram acidez pronunciada em vinhos elaborados com uva Isabel, verificando um valor médio de pH de 3,31. Valores elevados de acidez total e baixos de pH parece ser uma característica dos cultivares *Vitis labrusca*. Segundo Rizzon, Miele e Meneguzzo (2000), a variedade Isabel, que, assim como a Terci, é um cultivar da espécie *Vitis labrusca* apresenta características que não favorecem o aumento de pH na vinificação devido ao

tamanho da baga, relação película/polpa e teor de potássio do mosto. Outro fator que pode modificar o pH dos vinhos, além da fermentação maloláctica, é a precipitação do ácido tartárico na forma de bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Entretanto, neste caso a diminuição da acidez parece não estar associada a este fator, uma vez que não foi observada correlação em nível de significância satisfatório entre as concentrações de potássio e de ácido tartárico em relação à acidez.

Apesar de a fermentação maloláctica ter apresentado maior influência sobre a acidez dos vinhos analisados quando comparada à salificação do ácido tartárico, tanto os vinhos que completaram esta segunda fermentação, quanto aqueles onde ela foi incompleta, apresentaram características ácidas, típicas de vinhos elaborados com uvas *Vitis labrusca*. No entanto, a ocorrência da fermentação maloláctica foi capaz, em certo grau, de diminuir a acidez e aumentar o pH dos vinhos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo suporte financeiro, à equipe técnica do LACTEC (Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento) pelo auxílio na realização das análises de espectrometria de emissão atômica e aos vinicultores da região metropolitana de Curitiba pelas amostras de vinho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, Euclides Penedo. **ABC ilustrado da vinha e do vinho**. 2. ed. Rio de Janeiro: Mauad, 2008. 252 p.
- CAMARGO, Umberto Almeida. Espécies e cultivares. In: KUHN, G. B. **Uva para processamento: produção**. Brasília: EMBRAPA, 2003
- HOFFMANN, Alexandre; CAMARGO, Umberto Almeida; MAIA, João Dimas Garcia. Sistema de produção de uvas rústicas para processamento em regiões tropicais do país. **EMBRAPA Uva e Vinho**, Bento Gonçalves, 2005. Disponível em: <systemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasRusticasParaProcessam>. Acesso em: 15 jul. 2009.
- JACKSON, Ronald S. **Wine science: principles and applications**. 3. ed. São Diego: Elsevier, 2008. 789 p.
- OLIVEIRA, Sara M.; LOPES, Teresa I. M. S.; TÓTH, Ildikó V.; RANGEL, Antônio O. S. S. Simultaneous determination of tartaric acid and potassium in wines using a multicommuted flow system with dialysis. **Talanta**, v. 81, p. 1735-1741, 2010.
- PERKIN-ELMER. **Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry**. EUA: Perkin-Elmer, 1976. 300p.

PROTAS, José Fernando Silva; CAMARGO, Umberto Almeida; MELLO, Loiva Maria Ribeiro. A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas. **EMBRAPA Uva e Vinho**, Bento Gonçalves, 2002. Disponível em: <<http://www.cnpv.embrapa.br/publica/artigos/vitivinicultura/>>. Acesso em: 11 jan. 2011.

RIBÉREAU-GAYON, Pascal; GLORIES, Yves; MAUJEAN, Alain; DUBORDIEU, Denis. **Handbook of enology. The chemistry of wine stabilization and treatment**. 2. ed. Inglaterra: John Wiley& Sons, 2006.

RIZZON, Luiz Antenor; MIELE, Alberto. Acidez na vinificação em tinto das uvas Isabel, Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc. **Ciência Rural**, v. 32, n.3, p. 511-515, 2002.

RIZZON, Luiz Antenor; MIELE, Alberto. Efeito da safra vitícola na composição da uva, do mosto e vinho Isabel da Serra Gaúcha, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 959-964, 2006.

RIZZON, Luiz Antenor; MIELE, Alberto; MENEGUZZO, Júlio. Avaliação da uva cv. Isabel para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 115-121, 2000.

SILVA, Gildo Almeida. Elaboração de vinhos: Aspectos microbiológicos. In: GUERRA, C. C. **Uva para processamento: Pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA, 2003

ZOUTOU, Anastasia; LOUKOU, Zacharemia; KARAVA, O. Method development for determination of seven organic acids in wines by reverse-phase high performance liquid chromatography. **Chromatographia**, v. 60, p. 39-44, 2004.