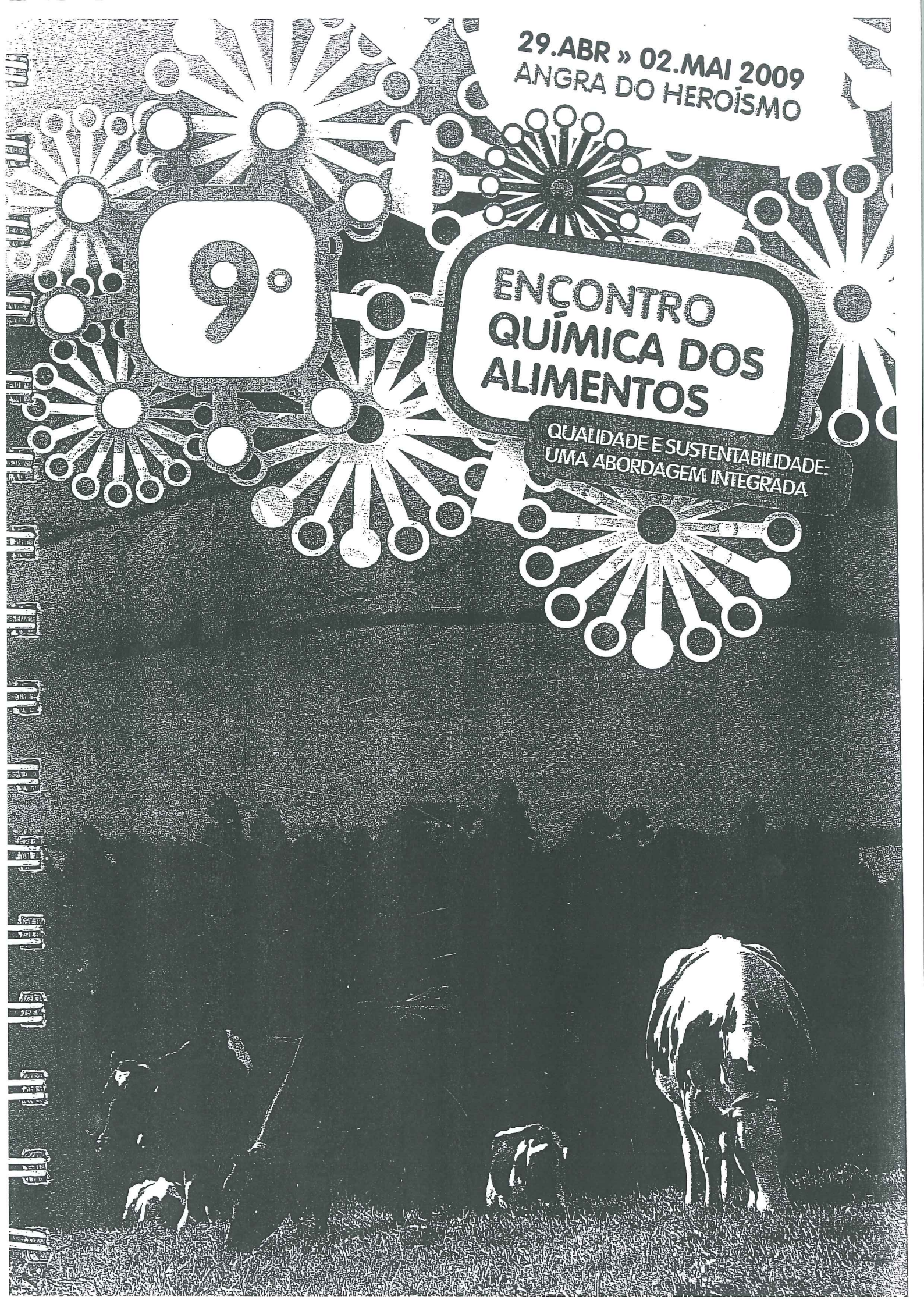


29.ABR » 02.MAI 2009
ANGRA DO HEROÍSMO

9

ENCONTRO QUÍMICA DOS ALIMENTOS

QUALIDADE E SUSTENTABILIDADE:
UMA ABORDAGEM INTEGRADA



EFEITO DA ADIÇÃO DE SESQUITERPENÓIDES E QUITOSANA E APLICAÇÃO DE ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NA PROLIFERAÇÃO DE LEVEDURAS E ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE DE VINHO BRANCO

Nunes C.^{1}; Rocha S.M.¹; Saraiva J.A.¹; Lopes da Silva J.A.¹; Mendo S.²; Coimbra M.A.¹*

¹Departamento de Química e ²Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro

Tel +351-234 372 581 Fax +351-234 370 084 e-mail: claudianunes@ua.pt

Palavras-chave: sesquiterpenóides, quitosana, alta pressão hidrostática, actividade antioxidante, leveduras

Resumo: A adição de sulfuroso nas diferentes etapas de vinificação tem por objectivo impedir o crescimento de microrganismos nocivos ao vinho, bem como actuar como antioxidante, mantendo as características sensoriais do vinho. Contudo, os produtores têm procurado reduzir a utilização de sulfuroso dada a sensibilidade alérgica a este composto por cerca de um terço dos consumidores. Neste trabalho foram testados diferentes tratamentos com o objectivo de desenvolver tecnologias para a substituição total ou parcial do sulfuroso adicionado na vinificação. Foram estudados três tratamentos diferentes em vinho branco de forma isolada e em combinação: adição de um sesquiterpenóide, adição de quitosana e a utilização da tecnologia de alta pressão hidrostática. Para fins de comparação, também foi preparado e analisado um vinho com sulfuroso e outro sem nenhum tipo de tratamento. Os vinhos tratados com quitosana e alta pressão, ao fim de um mês de armazenamento, ainda apresentavam ausência de leveduras. Contudo, no vinho sem tratamento e no vinho em que só foi adicionado o sesquiterpenóide verificou-se crescimento de leveduras (5×10^4 - 6×10^4 UFC/mL). A actividade antioxidante foi superior no vinho branco tratado com o sesquiterpenóide (28%), quitosana (30%) e alta pressão (35%) em comparação com o vinho sem tratamento e com valores semelhantes ao vinho tratado com sulfuroso. Estes resultados preliminares mostram que a adição do sesquiterpenóide ou quitosana e a utilização da tecnologia de alta pressão, são tratamentos promissores como substituintes das propriedades de conservação conferidas pelo sulfuroso aos vinhos.

1. INTRODUÇÃO

O anidrido sulfuroso é um produto usado como antisséptico e antioxidante, sendo provavelmente um dos aditivos mais versátil e eficiente para estes propósitos. A presença deste composto inibe o desenvolvimento dos microorganismos, sendo as bactérias mais sensíveis do que as leveduras. A sua capacidade antioxidante deve-se à combinação com o oxigénio livre e à sua acção na inactivação de enzimas como a polifenoloxidase (PPO), a peroxidase e as proteases, impedindo o escurecimento do vinho branco. O anidrido sulfuroso pode inibir a reacção de Maillard, o que também contribui para a estabilização da cor do vinho [1].

Apesar de todas as vantagens, os sulfitos resultantes da adição de sulfuroso aos vinhos podem desencadear reacções alérgicas nos consumidores mais sensíveis a estes compostos, originando dores de cabeça, náuseas, irritações gástricas e dificuldades respiratórias, sobretudo em doentes asmáticos [1]. Consequentemente, a concentração máxima de sulfuroso nos vinhos permitida pela União Europeia tem vindo a ser progressivamente reduzida e a sua

presença passou a ser de menção obrigatória no rótulo (Regulamento (CE) nº 1493/1999; nº 423/2008).

Os sesquiterpenóides são metabolitos secundários das plantas e algas. Estes compostos apresentam actividade anti-microbiana e antioxidante [2, 3], tendo diferentes aplicações medicinais [4, 5]. A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da quitina, um componente do exoesqueleto dos crustáceos, que possui propriedades antioxidantes e anti-microbianas [6] e também pode impedir o escurecimento do vinho [7]. A tecnologia de alta pressão (AP) hidrostática permite pasteurizar alimentos, mantendo as propriedades organolépticas e nutricionais. Estudos efectuados em vinho demonstraram que a AP permite inactivar microrganismos sem provocar alterações a nível das características sensoriais do vinho[8].

Este trabalho visou aplicar metodologias que permitissem a redução ou mesmo eliminação da adição de sulfuroso de forma a reduzir o teor de sulfitos nos vinhos. Com esse objectivo foi estudado o efeito da aplicação de três tratamentos: adição de um sesquiterpenóide, quitosana e tratamento por AP. A eficácia dos tratamentos como substituintes das propriedades conferidas pelo sulfuroso na actividade anti-microbiana e antioxidante foi avaliada isoladamente e em combinação ao longo do tempo de armazenamento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

O vinho monovarietal branco usado neste estudo foi produzido em microvinificadores pela empresa Dão Sul SA. Durante todo o processo de vinificação deste vinho não foi adicionado sulfuroso. Após a fermentação alcoólica o vinho foi sujeito aos três tratamentos: 1) adição de um sesquiterpenóide, 2) adição de quitosana e 3) tratamento por AP, de forma isolada e em combinação. Assim, obtiveram-se vinhos resultantes de cada um dos 3 tratamentos (Sq - sesquiterpenóide; Q - quitosana; P - pressão) e vinhos resultantes da sua combinação (SqQ - sesquiterpenóide e quitosana; SqP - sesquiterpenóide e pressão; QP - quitosana e pressão; SqQP - sesquiterpenóide, quitosana e pressão). A um lote deste vinho foi também adicionado 40 mg/L de sulfuroso livre (S) e um lote de vinho foi deixado sem nenhum tratamento (S0). Após os diferentes tratamentos todos os vinhos foram armazenados à temperatura ambiente ($\approx 22^\circ\text{C}$). Todos os vinhos produzidos foram analisados após cada um dos tratamentos (dia 1) e ao longo do armazenamento (15 e 30 dias).

2.2. Análises microbiológicas

Cada uma das diluições efectuadas das amostras (100 μL) foram inoculadas em placas de Petri contendo meio específico para leveduras (Chloramphenicol Rose Bengal Agar - CRBA) e bactérias (Wallerstein Differential Agar - WLDA). As placas com CRBA foram incubadas em estufa a 25°C durante 5 dias e as placas com WLDA foram incubadas em estufa a 37°C durante 3 dias.

2.2. Actividade antioxidante

A actividade antioxidante de todas as amostras ao longo do armazenamento foi determinada usando ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)). A solução de ABTS 7 mM foi preparada em persulfato de potássio 1 mg/mL e foi deixada a reagir, no escuro e à temperatura ambiente, durante 12-16 horas para a formação do catião radicalar

(ABTS^{•+}). Esta solução de ABTS foi diluída de 1:80 mL. As amostras foram diluídas numa solução de etanol 10% e a 50 µL de amostra foi adicionado 1 mL de solução de ABTS, após 15 minutos foi medida a absorvência a 734 nm. A curva de calibração foi realizada com uma solução de trolox (0-400 µM). Todas as amostras foram analisadas em triplicado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os resultados das contagens de colónias de leveduras. As amostras de vinho tratadas com quitosana e com AP apresentam uma inibição do crescimento de leveduras. Essa inibição mantém-se ao longo do período de armazenamento do vinho, pelo menos até 30 dias. No vinho tratado apenas por adição do sesquiterpenóide verificou-se crescimento de leveduras (6×10^4 UFC/mL após 30 dias de armazenamento). Para a concentração testada, a adição do sesquiterpenóide ao vinho não parece conferir actividade anti-microbiana, pois não foram observadas diferenças em relação ao vinho sem tratamento (5×10^4 UFC/mL após 30 dias de armazenamento).

Apesar de terem sido inoculadas as amostras de vinho em placas contendo meio específico para o crescimento de bactérias não se observou o crescimento de nenhuma colónia em qualquer um dos vinhos analisados.

Tabela 1 – Contagem de leveduras (UFC/mL) presentes nas amostras de vinho branco ao longo do armazenamento.

<i>Amostras</i>	Armazenamento		
	<i>1 dia</i>	<i>15 dias</i>	<i>30 dias</i>
S0	4×10^3	8×10^3	5×10^4
S	0	0	0
Sq	4×10^4	5×10^4	6×10^4
Q	0	0	0
SqQ	0	0	0
P	0	0	0
SqP	0	0	0
QP	0	0	0
SqQP	0	0	0

A actividade antioxidante de todos os vinhos foi determinada após os tratamentos (dia 1) e ao longo do seu armazenamento (dias 15 e 30). Ao longo do armazenamento observou-se uma diminuição progressiva da actividade antioxidante na maioria dos vinhos. As amostras com os diferentes tratamentos apresentaram valores superiores de actividade antioxidante em relação ao vinho sem tratamento (S0) e valores idênticos ou mesmo superiores do que o vinho em que foi adicionado sulfuroso (S). Os vinhos com tratamentos combinados com AP (SqP, QP, SqQP) apresentaram actividades antioxidantes superiores em relação aos outros tratamentos.

Estes resultados demonstram que todos os tratamentos (sesquiterpenóide, quitosana e AP) aumentam a capacidade antioxidante do vinho, mantendo-se esta mais elevada ao fim de 30 dias de armazenamento.

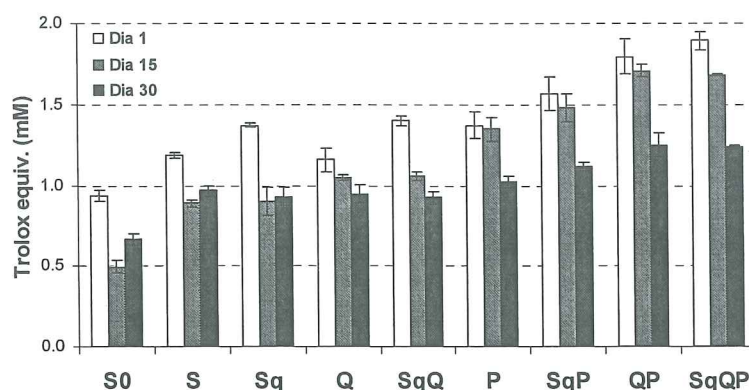


Figura 1 – Actividade antioxidante dos vinhos ao longo do armazenamento.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho verificou-se que a adição de quitosana e a aplicação de AP inibem o crescimento de leveduras em vinho branco. A actividade antioxidante do vinho tratado pelas metodologias propostas é superior ou igual em relação aos vinhos tratados com sulfuroso. Estes resultados, apesar de ainda serem preliminares, mostram que a adição do sesquiterpenóide ou quitosana ou a utilização da tecnologia de AP são tratamentos com potencial para substituir a adição de sulfuroso em vinhos brancos após a fermentação.

Referências

- [1] P. Ribéreau-Gayon, D. Dubourdieu, B. Donèche, A. Lonvaud - *Handbook of Enology - The Microbiology of Wine and Vinifications*, John Wiley & Sons, Ltd, West Sussex, (2006).
- [2] M. Simões, S. Rocha, M.A. Coimbra, M.J. Vieira - *Med. Chem.* **4** (2008) 616.
- [3] H. Haraguchi, H. Ishikawa, Y. Sanchez, T. Ogura, Y. Kubo, I. Kubo - *Bioorg. Med. Chem.* **5** (1997) 865.
- [4] L.Y. Wang, T. Unehara, S. Kitanaka - *Chem. Pharm. Bull.* **53** (2005) 137.
- [5] Z.H. Xu, F.R. Chang, H.K. Wang, Y. Kashiwada, A.T. McPhail, K.F. Bastow, Y. Tachibana, M. Cosentino, K.H. Lee - *J. Nat. Prod.* **63** (2000) 1712.
- [6] F. Shahidi, J.K.V. Arachchi, Y.J. Jeon - *Trends Food Sci. Technol.* **10** (1999) 37.
- [7] G. Spagna, R.N. Barbagallo, P.G. Pifferi - *J. Agric. Food Chem.* **48** (2000) 4619.
- [8] C. Mok, K.T. Song, Y.S. Park, S. Lim, R. Ruan, P. Chen - *J. Food Sci.* **71** (2006) M265.

Agradecimentos: Cláudia Nunes agradece à FCT a bolsa de Pós-doutoramento (SFRH/BPD/46584/2008). Os autores agradecem ao Projecto iCentro (iC-01-01-FDR-0153) e à Unidade de Investigação QOPNA 62/94 o financiamento do trabalho e à empresa Dão Sul S.A., Carregal do Sal, a disponibilização das amostras.