

# Redução da concentração em 4-etilfenol, 4-etilguaiaicol, ácido acético e acetato de etilo em vinhos portugueses por nanofiltração e eletrodialise

O aroma do vinho tem a sua origem quer em constituintes voláteis provenientes dos bagos de uva, quer em alterações subsequentes durante a vinificação e envelhecimento.

Alguns compostos aromáticos contribuem para os atributos positivos do vinho, enquanto outros, acima de limiares específicos, são prejudiciais devido ao odor que possuem, bem como à sua capacidade de mascarar notas aromáticas agradáveis e positivas.

## 1. Introdução

Neste trabalho, investigámos a remoção de quatro compostos capazes de comprometer gravemente a qualidade organolética dos vinhos: 4-etilfenol (4-EF), 4-etilguaiaicol (4-EG), ácido acético (AA) e acetato de etilo (AE).

A influência dos fenóis voláteis, 4-EF e 4-EG no aroma e sabor do vinho tem sido objeto de grande debate [1, 2]. Segundo alguns autores, concentrações moderadas podem acrescentar alguma complexidade aos vinhos, mas, certamente, níveis excessivos causam grave deterioração da tipicidade do vinho e do seu perfil aromático [3]. Os descritores mais utilizados para expressar sensações decorrentes de vinhos alterados por fenóis voláteis são couro, estrebaria, suor de cavalo, fuligem, tinta ou guache [3, 4, 5]. As leveduras do género *Brettanomyces/Dekkera* são os microrganismos com maior capacidade para alterar os vinhos devido à síntese de 4-EF e 4-EG. Quando a concentração destes compostos atinge valores suficientemente altos (designados *limiares de percepção olfativa*), os vinhos tornam-se atípicos e a deterioração notória. Mas o impacto sensorial destes compostos depende da matriz onde estão dissolvidos, ou seja, da estrutura do vinho [3], pelo que a indicação do limiar de percepção olfativa é sempre feita a título indicativo.

Segundo Chatonnet *et al.* [2], os limiares de percepção olfativa dos fenóis voláteis são: 620 µg/L para o 4-EF e 140 µg/L para o 4-EG. O ácido acético, composto bem conhecido desde há milénios, acumula-se nos vinhos por ação de bactérias acéticas (por exemplo, *Acetobacter aceti* e *Gluconobacter oxydans*), gerando acidez volátil, parâmetro analítico cujo aumento é o *indicador* conven-

cional de alteração dos vinhos. Em Portugal, a maioria das Comissões Vitivinícolas Regionais não autoriza a comercialização de vinhos com acidez volátil superior a 1,2 g/L, o mesmo acontecendo com as suas congéneres estrangeiras.

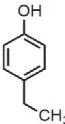
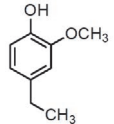

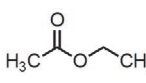
Em relação ao acetato de etilo, Peynaud e Blouin [5] indicam o valor de 150 mg/L para o limiar de percepção olfativa desse composto em vinhos.

A Tabela 1 mostra a estrutura química dos compostos 4-EF, 4-EG, AA e AE, bem como algumas das suas propriedades físico-químicas relevantes para este trabalho.

A recuperação de vinhos deteriorados com quantidades excessivas de metabolitos da atividade microbiana, obriga a uma intervenção em 2 fases. A primeira consiste na drástica redução no vinho das populações de microrganismos nocivos.

A bibliografia indica que uma das formas mais eficazes de conseguir a redução das contagens celulares é a sulfitação seguida de microfiltração tangencial [7]. Após a eliminação celular, há espaço para a 2.<sup>a</sup> fase, que consiste na implementação de técnicas para a remoção seletiva dos metabolitos indesejáveis deixados pelos microrganismos no vinho. A primeira tentativa bem sucedida foi introduzida por Smith em 1996 [8], sendo projetada para remover a acidez volátil dos vinhos. Posteriormente, foi estendida a outros aromas anormais. Envolve uma operação de osmose inversa (para produção de permeado) e uma segunda operação de adsorção dos metabolitos indesejáveis acumulados no permeado, usando uma resina específica. Finalmente, o vinho é reconstituído, adicionando o vinho concentrado ao permeado purificado, para obter o vinho final descontaminado.

**Tabela 1** – Algumas propriedades dos compostos de aroma nefasto removidos dos vinhos

|  | 4-etilfenol   | 4-etilgualacol  | Ácido acético   | Acetato de etilo   |
|--|---|---|---|--|
| Estrutura  |    |  |  |                     |
| Massa molar (g/mol)  | 122,17  | 152,19  | 60,04   | 88,11  |
| pKa  | 10,2  | 10,3  | 4,75  | 25,0   |
| Permeação através da membrana nanofiltração (%) <sup>1</sup>     | 56  | 38  | 100   | 70   |
| Possibilidade de atravessar a membrana aniônica de eletrodialise | Sim, se estiver dissolvido num meio aquoso cujo pH seja igual ou superior ao seu pKa. Com estas condições, gera-se uma carga negativa na molécula |   |   | Não, porque o seu pKa é demasiado elevado para permitir a formação de uma carga negativa na molécula |

<sup>1</sup> de acordo com [8]

As desvantagens da tecnologia baseada em resinas são múltiplas, e prendem-se com a remoção não desejada de outros aromas dos vinhos, considerados de boa qualidade e pertencentes à sua identidade e tipicidade. De facto, as resinas Amberlite XAD e outras do mesmo género são absorventes sem qualquer seletividade, absorvendo compostos indiscriminadamente, quer sejam de boa ou má qualidade [6]. A mesma afirmação pode ser feita sobre os carvões ativados e sobre as fibras de celulose esterificada. Na verdade, todos atuam como uma esponja, absorvendo uma ampla gama de constituintes do vinho sem qualquer seletividade. Agentes adsorventes, como o quitosano, podem ter um pouco mais de seletividade que os agentes absorventes, mas o seu mecanismo de ação é obscuro e os parâmetros operacionais que podem ser controlados são poucos, pelo que o seu uso é difícil otimizar.

Ao substituir a resina (ou absorvente/adsorvente) por uma etapa de eletrodialise, o aroma do vinho é totalmente preservado, porque as membranas de ED são densas, não microporosas e impermeáveis aos compostos aromáticos, tais como terpenos, álcoois em C6, álcoois superiores, metoxipirazinas, etc.

A tecnologia de nanofiltração e eletrodialise (NF-ED) também permite o ajuste de parâmetros operacionais, o mais importante dos quais é o *cut-off* das membranas NF (designado em linguagem técnica MWCO, ou seja, *Molecular Weight Cut Off*). Em linguagem corrente, e para simplificar, o MWCO pode ser equiparado à porosidade das membranas (diâmetro médio dos poros).

O MWCO é um conceito que só se aplica às membranas porosas, tais como as usadas em ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa.

Em eletrodialise, o conceito de MWCO não se aplica porque, como se referiu, estamos a lidar com membranas não porosas. Portanto, ao excluirmos a porosidade, os parâmetros que restam para controlo da eletrodialise são: taxa de desionização, densidade de corrente elétrica, condutividade da salmoura e pH da salmoura.

## 2. A tecnologia NF-ED

O método utilizado neste trabalho para reduzir as concentrações de *off-flavors* em vinhos foi denominado NF-ED, uma combinação de dois acrónimos que, respetivamente, designam “nanofiltração” (NF) e “eletrodialise” (ED). A tecnologia de NF-ED consiste em combinar adequadamente aquelas duas operações em quatro etapas [9]: (1) uma certa quantidade de permeado é extraída do vinho usando NF; este permeado contém parte dos constituintes a serem removidos. A NF também produz uma segunda corrente, designada *vinho concentrado*; (2) o permeado é então alcalinizado, elevando o seu pH para valores iguais ou superiores ao pKa dos constituintes a serem removidos, adicionando um agente alcalinizante de qualidade alimentar, a fim de gerar cargas negativas nas respetivas moléculas; (3) este permeado alcalino é então, tratado por ED a fim de remover não somente os constituintes indesejáveis, mas igualmente o agente alcalinizante propriamente dito; (4) finalmente, o vinho é reconstituído pela mistura do permeado purificado obtido na etapa (3) com o vinho concentrado obtido na etapa (1).

Com a compreensão de como funciona o processo NF-ED, podemos passar à etapa seguinte, que é a definição de uma estratégia para a remoção de um determinado componente indesejável do vinho.

Essa estratégia passa, em primeiro lugar, por garantir que o componente em questão atravessa a membrana NF e pode acumular-se no permeado. Para esse efeito, é crucial que o MWCO da membrana NF seja maior, ou pelo menos igual, à massa molar da molécula a ser removida. Depois de nos certificarmos de que esta condição foi verificada, a permeação do componente fica garantida.

Na etapa seguinte, é necessário permitir que a molécula em questão abandone o permeado através da eletrodialise, atravessando a membrana ED por ação do campo elétrico. Para fazer isso, uma carga elétrica deve estar presente no componente em causa (ou criada, se não existir). No presente trabalho, dadas as características dos componentes a serem removidos, a melhor estratégia foi criar cargas negativas, como adiante se explica.

Tendo em conta as massas molares dos componentes em causa (ver Tabela 1), pode constatar-se que são: 60,04 g/mol (AA), 88,11 g/mol (AE), 122,17 g/mol (4-EF) e 152,19 g/mol (4-EG). Sendo o MWCO das membranas situado entre 100 e 250 g/mol, como se refere na

secção 3.2, pode concluir-se que os 4 compostos são todos suscetíveis de atravessar as membranas NF utilizadas neste trabalho.

Conforme referimos atrás, na etapa subsequente de ED, só será possível remover esses compostos do permeado depois de elevar o seu pH para um valor igual ou superior ao seu pKa. Uma carga negativa será então criada em cada um deles. Os pKa em causa são: 4,75 (AA); 25,0 (AE); 10,2 (4-EF) e 10,3 (4-EG). Com exceção do acetato de etilo, que é um éster com um pKa de 25,0, a criação de cargas negativas nos outros 3 compostos está assegurada. Mas torna-se virtualmente impossível criar uma carga negativa no acetato de etilo por simples alcalinização. Por isso, o acetato de etilo foi, em primeiro lugar, sujeito a uma etapa de hidrólise [10]. A hidrólise consiste na quebra da molécula de acetato de etilo em meio alcalino, produzindo ácido acético e etanol [11]. Apenas o ácido acético é retirado do permeado por ED, pelo que a molécula de etanol é deixada no vinho. Concluímos, portanto, que por este método a concentração de acetato de etilo também pode ser diminuída no permeado NF, e logicamente também no vinho.

### 3. Materiais e métodos

#### 3.1. Vinhos

Vinte e oito vinhos portugueses de seis regiões diferentes (Douro, Lisboa, Tejo, Península de Setúbal, Alentejo e Algarve) foram utilizados neste estudo [11, 12]. Todos os vinhos eram certificados, produzidos de acordo com os métodos aprovados e homologados pela respetiva entidade certificadora. Todas as castas eram tradicionais das respetivas regiões. As 4 primeiras linhas das Tabelas 2 e 3 resumem algumas características dos vinhos em estudo.

#### 3.2. Equipamentos

A NF foi realizada utilizando um aparelho Alfa-Laval (Alfa-Laval Corp., Dinamarca) equipado com membranas NFS, fabricadas pela Synder Filtration Corp., Vacaville, EUA, que possuíam as seguintes características: área total de filtração de 5,6 m<sup>2</sup>, MWCO nominal entre 100 e 250 g/mol e uma rejeição nominal de NaCl entre 50 e 55% [9].

O equipamento ED era da marca Eurodia SA (Pertuis, França). Tinha dois empilhamentos de membranas (catiônicas e aniônicas), modelo SV-10, com 15 m<sup>2</sup> de membranas cada. O caudal de produção máximo era de 3000 L/h.

O esquema completo do sistema NF-ED, com os dois equipamentos principais (NF e ED), está descrito em [9].

#### 3.3. Parâmetros operacionais

A Taxa de Recuperação de Nano Filtração (NFRR, acrónimo originário da sigla inglesa), é definida como a razão entre o volume de permeado de NF e o volume inicial de vinho [11, 12]. É impor-

tante ter uma ideia da intensidade desse parâmetro para atingir o objetivo do processo.

Quando a NFRR prevista excede 75% para um dado vinho, é necessário subdividir o procedimento em 2 ciclos (Tabelas 2 e 3), para evitar a concentração excessiva de vinho durante a nanofiltração. Por exemplo, o vinho R2 foi identificado como necessitando 120% de NFRR. Dois ciclos foram implementados, o primeiro com 70% e o segundo com 50% de NFRR, em vez de um único ciclo de 120%. Por outro lado, no caso de certos vinhos, havia acetato de etilo para remover. Assim, no tratamento NF-ED desses vinhos, foi necessário proporcionar um certo tempo de espera, para que a reação de hidrólise deste composto fosse possível.

#### 3.4. Métodos analíticos

Os vinhos foram analisados segundo os métodos da OIV [13], para título alcoométrico volúmico (OIV-MA-AS312-01A), acidez fixa (OIV-MA-AS313-03), acidez volátil (OIV-MA-AS313-02), pH (OIV-MA-AS313-15) e acetato de etilo (OIV-MA-AS315-02A). A concentração de 4-EF e 4-EG nos vinhos foi medida de acordo com um protocolo descrito em [14].

#### 3.5. Exame organolético

Dada a grande dimensão e complexidade do ensaio, e tendo em consideração que o nosso principal foco de atenção recaía sobre a tecnologia NF-ED, na sua vertente de engenharia, optámos por fazer o exame organolético apenas em 5 vinhos e nos respetivos vinhos tratados. A escolha recaiu nos pares R19/R19a, R20/R20a, R21/R21a, R22/R22a e W1/W1a.

Utilizou-se um painel de 7 provadores treinados. A prova foi cega, na medida em que os provadores não conheciam absolutamente nada sobre os vinhos, nem que estavam relacionados entre si aos pares não tratado/tratado. Organizaram-se 2 sessões de prova ao final da manhã, separadas por 2 dias.

Após a atribuição de um código a cada vinho, a distribuição dos vinhos pelas duas sessões de prova foi aleatória. No entanto, o par de vinhos licorosos (W1/W1a) foi separado, tendo sido distribuído aos provadores um em cada sessão, para evitar que os provadores pudessem associar os 2 vinhos. Em cada sessão de prova, cada provador tinha de avaliar: cor, aspeto, aroma e sabor em cada um dos vinhos. Para cada amostra, o provador preencheu uma ficha de prova, em que atribuiu uma pontuação de 0 a 100 a cada um dos parâmetros. Como resultado final, dispomos de Fichas-resumo de prova elaboradas pelo avaliador-relator para cada par de vinhos, onde consta a média ponderada das pontuações de acordo com a fórmula:

$$\text{Pontuação final} = 0,20 \times \text{Aspeto} + 0,32 \times \text{Nariz} + 0,48 \times \text{Boca}$$

## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Análise físico-química

As Tabelas 2 e 3 mostram os resultados da análise físico-química dos 28 vinhos, antes e depois do tratamento NF-ED.

### 4.2. Padrões comuns

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, o método foi bastante eficaz na redução dos quatro parâmetros em estudo: acidez volátil; acetato de etilo; 4-EF e 4-EG, uma vez que em todos os

**Tabela 2** – Características físico-químicas dos vinhos, antes e depois do tratamento NF-ED (1.ª parte, vinhos R1 a R14) <sup>1, 2, 3</sup>

|                   | R1                | R1a  | R2                | R2a  | R3                | R3a  | R4                | R4a  | R5                | R5a  | R6           | R6a  | R7           | R7a  | R8           | R8a  | R9           | R9a  | R10          | R10a  | R11          | R11a | R12               | R12a  | R13          | R13a | R14          | R14a |
|-------------------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|--------------|------|--------------|------|--------------|------|--------------|------|--------------|-------|--------------|------|-------------------|-------|--------------|------|--------------|------|
| Região            | Douro             |      | Setúbal           |      | Lisboa            |      | Setúbal           |      | Douro             |      | Setúbal      |      | Setúbal      |      | Setúbal      |      | Douro        |      | Douro        |       | Alentejo     |      | Douro             |       | Lisboa       |      | Tejo         |      |
| Vol. tratado      | 500 L             |      | 500 L             |      | 700 L             |      | 1000 L            |      | 10 000 L          |      | 26 000 L     |      | 11 000 L     |      | 13 000 L     |      | 4000 L       |      | 4000 L       |       | 4000 L       |      | 5500 L            |       | 4000 L       |      | 1000 L       |      |
| Cor               | Tinto             |      | Tinto             |      | Tinto             |      | Tinto             |      | Tinto             |      | Tinto        |      | Tinto        |      | Tinto        |      | Tinto        |      | Tinto        |       | Tinto        |      | Tinto             |       | Tinto        |      | Tinto        |      |
| Tipo              | Não licoroso      |      | Não licoroso      |      | Não licoroso      |      | Não licoroso      |      | Não licoroso      |      | Não licoroso |      | Não licoroso |      | Não licoroso |      | Não licoroso |      | Não licoroso |       | Não licoroso |      | Não licoroso      |       | Não licoroso |      | Não licoroso |      |
| NFRR <sup>4</sup> | 110%<br>(70%+40%) |      | 120%<br>(70%+50%) |      | 120%<br>(70%+50%) |      | 120%<br>(70%+50%) |      | 110%<br>(70%+40%) |      | 60%          |      | 60%          |      | 60%          |      | 35%          |      | 35%          |       | 35%          |      | 106%<br>(53%+53%) |       | 70%          |      | 60%          |      |
| N.º de ciclos     | 2                 |      | 2                 |      | 2                 |      | 2                 |      | 2                 |      | 1            |      | 1            |      | 1            |      | 1            |      | 1            |       | 1            |      | 2                 |       | 1            |      | 1            |      |
| TAV               | 12,5              | 10,9 | 13,5              | 11,5 | 13,1              | 11,7 | 12,3              | 11,0 | 12,7              | 11,4 | 13,6         | 13,3 | 12,8         | 12,6 | 13,2         | 12,8 | –            | –    | 14,62        | 14,5  | 14,7         | 14,2 | 12,7              | 11,65 | 12,3         | 12,0 | 13,3         | 12,6 |
| AF                | 5,72              | 4,36 | 4,99              | 3,21 | 4,59              | 2,79 | 4,87              | 2,71 | 4,59              | 3,06 | 4,96         | 3,58 | 5,24         | 4,25 | 5,06         | 4,01 | –            | –    | 5,78         | 5,45  | 4,80         | 4,3  | 3,77              | 3,23  | 5,31         | 4,36 | 3,88         | 3,53 |
| AV                | 0,63              | 0,23 | 0,57              | 0,14 | 0,41              | 0,13 | 1,00              | 0,24 | 0,63              | 0,15 | 1,82         | 0,88 | 0,97         | 0,47 | 1,45         | 0,60 | 0,71         | 0,66 | 0,92         | 0,70  | 0,88         | 0,64 | 1,15              | 0,49  | 1,67         | 0,65 | 1,32         | 0,65 |
| pH                | 3,30              | 3,28 | 3,61              | 3,59 | 3,87              | 3,91 | 3,59              | 3,52 | 3,61              | 3,52 | 4,01         | 4,01 | 3,79         | 3,79 | 3,78         | 3,79 | –            | –    | 3,44         | 3,43  | 3,71         | 3,75 | 3,76              | 3,83  | 3,67         | 3,70 | 4,01         | 3,98 |
| 4-EF              | 1369              | 821  | 1229              | 616  | 2776              | 1242 | 3335              | 787  | 936               | 509  | –            | –    | –            | –    | –            | –    | –            | –    | –            | –     | –            | –    | –                 | –     | –            | –    | –            | –    |
| 4-EG              | 136               | 118  | 274               | 188  | 188               | 138  | 548               | 185  | 106               | 76   | –            | –    | –            | –    | –            | –    | –            | –    | –            | –     | –            | –    | –                 | –     | –            | –    | –            | –    |
| AE                | 60                | 21,8 | –                 | –    | –                 | –    | –                 | –    | –                 | –    | –            | –    | –            | –    | –            | –    | 112,2        | 96,6 | 180,5        | 129,1 | –            | –    | 80,8              | 37,3  | 100,0        | 80,0 | –            | –    |

<sup>1</sup> Resultados extraídos de [12].

<sup>2</sup> TAV, título alcoométrico volumétrico adquirido (% v/v); AF, acidez fixa (g/L ácido tartárico); AV, acidez volátil (g/L ácido acético); 4-EF, 4-etilfenol (µg/L); 4-EG, 4-etilguaiaacol (µg/L); AE, acetato de etilo (mg/L).

<sup>3</sup> Quando o número de um vinho, é seguido da letra a, significa após tratamento.

<sup>4</sup> NFRR – Nano Filtration Recuperation Rate. Em português, taxa de recuperação da nanofiltração.

**Tabela 3** – Características físico-químicas dos vinhos, antes e depois do tratamento NF-ED (2.ª parte, vinhos R15 a W6) <sup>1, 2, 3</sup>

|                   | R15          | R15a | R16          | R16a  | R17          | R17a  | R18      | R18a  | R19          | R19a | R20          | R20a  | R21               | R21a | R22          | R22a | W1       | W1a   | W2       | W2a  | W3       | W3a  | W4                | W4a  | W5           | W5a  | W6           | W6a  |
|-------------------|--------------|------|--------------|-------|--------------|-------|----------|-------|--------------|------|--------------|-------|-------------------|------|--------------|------|----------|-------|----------|------|----------|------|-------------------|------|--------------|------|--------------|------|
| Região            | Douro        |      | Douro        |       | Algarve      |       | Douro    |       | Douro        |      | Douro        |       | Douro             |      | Douro        |      | Setúbal  |       | Setúbal  |      | Tejo     |      | Tejo              |      | Douro        |      | Douro        |      |
| Vol. tratado      | 4000 L       |      | 15000 L      |       | 4000 L       |       | 50000 L  |       | 10 000 L     |      | 15 500 L     |       | 5000 L            |      | 8000 L       |      | 14 000 L |       | 7600 L   |      | 31 000 L |      | 10 000 L          |      | 4000 L       |      | 4300 L       |      |
| Cor               | Tinto        |      | Tinto        |       | Tinto        |       | Tinto    |       | Tinto        |      | Tinto        |       | Tinto             |      | Tinto        |      | Branco   |       | Branco   |      | Branco   |      | Branco            |      | Branco       |      | Branco       |      |
| Tipo              | Não licoroso |      | Não licoroso |       | Não licoroso |       | Licoroso |       | Não licoroso |      | Não licoroso |       | Não licoroso      |      | Não licoroso |      | Licoroso |       | Licoroso |      | Licoroso |      | Colheita tardia   |      | Não licoroso |      | Não licoroso |      |
| NFRR <sup>4</sup> | 60%          |      | 60%          |       | 50%          |       | 60%      |       | 60%          |      | 60%          |       | 106%<br>(53%+53%) |      | 60%          |      | 60%      |       | 50%      |      | 35%      |      | 100%<br>(50%+50%) |      | 50%          |      | 60%          |      |
| N.º de ciclos     | 1            |      | 1            |       | 1            |       | 1        |       | 1            |      | 1            |       | 2                 |      | 1            |      | 1        |       | 1        |      | 1        |      | 2                 |      | 1            |      | 1            |      |
| TAV               | 13,2         | 12,7 | 12,4         | 12,1  | 13,4         | 13,03 | 19,5     | 18,4  | 12,8         | 12,3 | 11,9         | 11,7  | 13,2              | 12,6 | 16,4         | 15,5 | 15,8     | 15,0  | 15,8     | 15,1 | 16,2     | 15,5 | 12,3              | 11,9 | 13,0         | 12,7 | 13,8         | 13,4 |
| AF                | 3,91         | 3,14 | 4,37         | 2,92  | 4,78         | 4,24  | 3,43     | 2,49  | 4,51         | 3,31 | 4,58         | 3,59  | 5,20              | 3,45 | 5,03         | 4,28 | 1,55     | 1,10  | 3,95     | 2,46 | 2,86     | 2,41 | 6,71              | 6,04 | 3,42         | 2,99 | 4,41         | 3,02 |
| AV                | 1,06         | 0,49 | 1,56         | 0,75  | 2,13         | 1,24  | 1,22     | 0,66  | 1,68         | 0,73 | 1,13         | 0,64  | 1,92              | 0,57 | 1,14         | 0,59 | 2,67     | 1,16  | 2,87     | 1,62 | 1,19     | 0,85 | 1,87              | 0,22 | 1,34         | 0,76 | 0,78         | 0,42 |
| pH                | 3,93         | 3,85 | 3,66         | 3,66  | 3,77         | 3,82  | 3,60     | 3,75  | 3,85         | 3,80 | 3,76         | 3,77  | 3,69              | 3,62 | 3,84         | 3,94 | 4,92     | 4,83  | 3,82     | 3,86 | 4,05     | 4,09 | 3,59              | 3,52 | 3,51         | 3,53 | 3,25         | 3,28 |
| 4-EF              | –            | –    | –            | –     | –            | –     | –        | –     | –            | –    | –            | –     | –                 | –    | –            | –    | –        | –     | –        | –    | –        | –    | –                 | –    | –            | –    | –            | –    |
| 4-EG              | –            | –    | –            | –     | –            | –     | –        | –     | –            | –    | –            | –     | –                 | –    | –            | –    | –        | –     | –        | –    | –        | –    | –                 | –    | –            | –    | –            | –    |
| AE                | 41,0         | 39,0 | 125,0        | 102,0 | 136,5        | 79,1  | 329,1    | 139,9 | 48,0         | 21,0 | 106,0        | 100,0 | 114,0             | 73,0 | 75,4         | 72,8 | 297,4    | 103,5 | –        | –    | –        | –    | –                 | –    | 98,4         | 60,2 | –            | –    |

<sup>1</sup> Resultados extraídos de [12].

<sup>2</sup> TAV, título alcoométrico volumétrico adquirido (% v/v); AF, acidez fixa (g/L ácido tartárico); AV, acidez volátil (g/L ácido acético); 4-EF, 4-etilfenol (µg/L); 4-EG, 4-etilguaiaacol (µg/L); AE, acetato de etilo (mg/L).

<sup>3</sup> Quando o número de um vinho, é seguido da letra a, significa após tratamento.

<sup>4</sup> NFRR – Nano Filtration Recuperation Rate. Em português, taxa de recuperação da nanofiltração.

**Tabela 4 – Impacto da tecnologia NF-ED nos 28 vinhos estudados**

|                    | Efeitos Benéficos |                 |                   |                   | Efeitos Neutros | Efeitos Prejudiciais |                  |
|--------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|----------------------|------------------|
| Par de Vinhos      | Variação A.V. (%) | Variação AE (%) | Variação 4-EF (%) | Variação 4-EG (%) | Variação pH (%) | Variação AF (%)      | Variação TAV (%) |
| R1/R1a             | -63               | -64             | -40               | -13               | -1              | -24                  | -13              |
| R2/R2a             | -75               | –               | -60               | -31               | -1              | -36                  | -16              |
| R3/R3a             | -68               | –               | -55               | -27               | +1              | -39                  | -11              |
| R4/R4a             | -76               | –               | -76               | -66               | -2              | -44                  | -11              |
| R5/R5a             | -76               | –               | -46               | -28               | -2              | -33                  | -10              |
| R6/R6a             | -52               | –               | –                 | –                 | 0               | -28                  | -2               |
| R7/R7a             | -52               | –               | –                 | –                 | 0               | -19                  | -2               |
| R8/R8a             | -59               | –               | –                 | –                 | 0               | -21                  | -3               |
| R9/R9a             | -21               | -14             | –                 | –                 | –               | –                    | –                |
| R10/R10a           | -24               | -28             | –                 | –                 | 0               | -6                   | -1               |
| R11/R11a           | -27               | –               | –                 | –                 | +1              | -10                  | -3               |
| R12/R12a           | -57               | -54             | –                 | –                 | +2              | -14                  | -8               |
| R13/R13a           | -61               | -20             | –                 | –                 | +1              | -18                  | -2               |
| R14/R14a           | -51               | –               | –                 | –                 | -1              | -9                   | -5               |
| R15/R15a           | -54               | -5              | –                 | –                 | -2              | -20                  | -4               |
| R16/R16a           | -52               | -18             | –                 | –                 | 0               | -33                  | -2               |
| R17/R17a           | -42               | -42             | –                 | –                 | +1              | -11                  | -3               |
| R18/R18a           | -46               | -57             | –                 | –                 | +4              | -27                  | -5               |
| R19/R19a           | -57               | -56             | –                 | –                 | -1              | -27                  | -4               |
| R20/R20a           | -43               | -6              | –                 | –                 | 0               | -22                  | -2               |
| R21/R21a           | -70               | -36             | –                 | –                 | -2              | -34                  | -5               |
| R22/R22a           | -48               | -3              | –                 | –                 | +3              | -16                  | -5               |
| W1/W1a             | -57               | -65             | –                 | –                 | -2              | -29                  | -5               |
| W2/W2a             | -44               | –               | –                 | –                 | +1              | -38                  | -4               |
| W3/W3a             | -29               | –               | –                 | –                 | +1              | -16                  | -4               |
| W4/W4a             | -88               | –               | –                 | –                 | -2              | -35                  | -3               |
| W5/W5a             | -43               | -39             | –                 | –                 | +1              | -13                  | -2               |
| W6/W6a             | -46               | –               | –                 | –                 | +1              | -32                  | -3               |
| Nº de casos        | 28                | 15              | 5                 | 5                 | 27              | 27                   | 26               |
| Média              | -53               | -34             | -53               | -33               | 0               | -24                  | -5               |
| Desvio-<br>-Padrão | 16,31             | 22,10           | 13,78             | 19,71             | 1,58            | 10,45                | 3,74             |

casos estudados houve uma redução assinalável destes parâmetros. Ocorreu também variação noutros 3 parâmetros, a saber: pH; AF e TAV. Dado que este facto não tinha sido previsto inicialmente, foi-lhe atribuída a designação de *efeitos colaterais*.

#### 4.3. Efeitos colaterais (não desejados) do tratamento NF-ED

A tecnologia NF-ED foi projetada para ser tão objetiva e precisa quanto possível [9]. No entanto, devido ao facto de ainda estar

numa fase pouco avançada de maturidade tecnológica, produziu alguns efeitos indesejáveis, por nós detetados. Para os contrariar, pretendemos introduzir melhoramentos.

Os principais efeitos colaterais foram: diminuição da acidez fixa (AF) e diminuição do teor alcoólico (TAV), como se pode verificar pela observação da Tabela 4.

A diminuição na acidez fixa foi causada pelo facto de o ácido tartárico, que tem uma massa molar de 150,09 g/mol, ter sido parcialmente removido (porque é suscetível de atravessar a membrana NF no primeiro passo). Depois de incorporar o permeado NF, o ácido tartárico ganhou uma carga negativa, tornando-se anião tartarato. Durante a eletrodialise do permeado, atravessou a membrana aniónica, sendo por essa razão removido do permeado e posteriormente do vinho. Para minimizar a perda de acidez fixa, propomos uma otimização dos parâmetros operacionais, nomeadamente o MWCO da membrana NF e densidade de corrente ED. A diminuição do teor alcoólico foi causada pela evaporação do etanol, enquanto o permeado estava armazenado na respetiva cuba, esperando a etapa seguinte. Para minimizar a perda de teor alcoólico, propomos uma minimização do tempo que decorre entre a obtenção do permeado e a reconstituição do vinho, melhorando, além disso, o isolamento da cuba que contém o permeado, eliminando a sua exposição ao ar através de uma selagem efetiva desta cuba.

#### 4.4. Resultados do exame organolético

As fichas-resumo de prova dos 5 pares de vinhos sujeitos a exame organolético são apresentadas nas Tabelas 5 a 9.

Em relação ao Par R19/R19a, verifica-se que:

– a pontuação média aumentou de 74% (antes) para 76% (após

**Tabela 5 – Ficha-resumo de prova do Par R19/R19a**

|                    | Antes NF-ED  | Depois NF-ED  |
|--------------------|--|---|
|                    | Pontuação (0-100)  |   |
| Mínima             | 63   | 64  |
| Máxima             | 82   | 84  |
| Média              | 74   | 76  |
| Exame organolético |  |   |
| Cor                | Rubi de boa profundidade   | Rubi de muito boa profundidade  |
| Aspeto             | Límpido  | Límpido   |
| Aroma              | Limpo, frutado e floral, simples e jovem. Boa intensidade aromática  | Limpo, frutado e floral, simples e jovem. Boa intensidade aromática   |
| Sabor              | Limpo. Frutado e floral. Boa intensidade aromática e estrutura polifenólica. Harmonioso e equilibrado. Ligeira adstringência | Limpo. Frutado e Floral. Boa intensidade aromática e estrutura polifenólica. Harmonioso e equilibrado. Ligeira adstringência. Boa acidez que lhe confere persistência |
| Observações        | Ligeiro sulfídrico, reduzido (referido por 2 elementos)  | Sem observações   |



tratamento NF-ED). Do ponto de vista estatístico, este aumento não é significativo, pelo que se considerou que a nota se manteve constante;

- os principais parâmetros (cor, aspeto, aroma, sabor) mantiveram-se inalterados. Atentando nas anotações, podemos dizer que melhoraram após NF-ED, uma vez que as referências “ligeiro sulfídrico” e “reduzido”, apontadas por 2 provadores, desaparecem.

Em relação ao Par R20/R20a, verifica-se que:

- a pontuação média aumentou de 59% (antes) para 62% (após tratamento NF-ED);
- os principais parâmetros mantêm-se inalterados (cor, aspeto, aroma, sabor) após NF-ED;
- o painel identificou aroma a acetato de etilo, que desapareceu após o tratamento;
- o painel referiu que o vinho tratado revela algum desequilíbrio. Acreditamos que este facto se deve à perda de alguma acidez fixa (22%, entre as maiores quebras de acidez fixa de todo o ensaio).

Em relação ao Par R21/R21a, verifica-se que:

- a pontuação média aumentou de 55% (antes) para 63% (após tratamento NF-ED);
- os principais parâmetros (cor, aspeto, aroma, sabor) mantêm-se relativamente constantes após NF-ED. As exceções são:
  - 1) o sabor acético referido por todos os 7 provadores na amostra antes do tratamento. Após o tratamento, desaparece esta referência. É normal, pois houve uma grande quebra, quer na acidez volátil (de 1,92 g/L para 0,57 g/L), quer no acetato de etilo (de 114 mg/L para 73 mg/L);
  - 2) o odor a “mofo no nariz” referido por 2 provadores, na amostra após NF-ED. A explicação pode ser a seguinte: este aroma “a mofo” poderia já existir no vinho antes do tratamento, mas estava mascarado pelo elevado acetato de etilo e pela elevada acidez volátil, pelo que, ao desaparecerem estes defeitos, ficou mais nítido aquele cheiro a mofo.

Em relação ao Par R22/R22a, verifica-se:

- a pontuação média aumentou de 64% (antes) para 66% (após tratamento NF-ED). Aumento não significativo;
- os principais parâmetros (cor, aspeto, aroma, sabor) mantêm-se constantes após NF-ED.

Finalmente, em relação ao Par W1/W1a, verifica-se que:

- a pontuação média manteve-se em 71% (antes e após tratamento NF-ED), mas com claro crescimento da pontuação mínima, que passou de 49% para 61% (resultado sem significância estatística);
- os principais parâmetros organoléticos (cor, aspeto, aroma, sa-

**Tabela 6 – Ficha-resumo de prova do Par R20/R20a**

|                    | Antes NF-ED  | Depois NF-ED   |
|--------------------|--|--|
|                    | Pontuação (0-100)  |  |
| Mínima             | 50   | 58   |
| Máxima             | 66   | 67   |
| Média              | 59   | 62   |
| Exame organolético |  |  |
| Cor                | Rubi   | Rubi de média intensidade  |
| Aspeto             | Límpido  | Límpido  |
| Aroma              | Aroma limpo, frutado, simples. Intensidade aromática fraca. Ligeira oxidação.                      | Aroma Limpo, frutado, simples. Intensidade aromática entre o fraco e o médio. Ligeira oxidação                   |
| Sabor              | Limpo. Frutado. Baixa intensidade aromática e estrutura polifenólica. Final curto e ligeiro amargo | Limpo. Frutado. Baixa intensidade aromática. Pouca estrutura polifenólica. Final de boca entre o curto e o médio |
| Observações        | Ligeiro acetato etilo. Ligeiro vegetal   | Apresenta algum desequilíbrio  |

**Tabela 7 – Ficha-resumo de prova do Par R21/R21a**

|                    | Antes NF-ED  | Depois NF-ED   |
|--------------------|--|--|
|                    | Pontuação (0-100)  |  |
| Mínima             | 47   | 57   |
| Máxima             | 63   | 70   |
| Média              | 55   | 63   |
| Exame organolético |  |  |
| Cor                | Rubi de média profundidade   | Rubi de média profundidade   |
| Aspeto             | Límpido  | Límpido  |
| Aroma              | Aroma simples, defeito marcado, acético e acetato de etilo                   | Aroma simples, alguma fruta. Toque ligeiro a mofo                                |
| Sabor              | Alguma estrutura polifenólica, desequilibrado, final de boca curto e acético | Alguma estrutura polifenólica, vegetal, acidez fixa marcada, final de boca curto |
| Observações        | Sete provadores mencionaram acético no nariz e boca                          | Dois provadores consideraram mofo no nariz                                       |

- bor) mantêm-se constantes ou até melhoram após o tratamento NF-ED, nomeadamente a recuperação de alguma frescura pela diminuição da acidez volátil (baixou de 2,67 g/L para 1,16 g/L) e do acetato de etilo (baixou de 297,4 mg/L para 103,5 mg/L);
- de notar as referências positivas na boca e no nariz efetuadas pelos provadores, no vinho após NF-ED apesar de os valores de acidez volátil e acetato de etilo ainda se encontrarem elevados. Provavelmente, estas referências devem-se àquilo que na gíria enológica se designa por *vinagrinho*, ou seja, um toque acético que, nos vinhos licorosos envelhecidos e de boa complexidade gustativa e aromática, acrescenta geralmente ao conjunto uma

Tabela 8 – Ficha-resumo de prova do Par R22/R22a

|                    | Antes NF-ED   | Depois NF-ED  |
|--------------------|---|---|
|                    | Pontuação (0-100)   |   |
| Mínima             | 54  | 54  |
| Máxima             | 81  | 84  |
| Média              | 64  | 66  |
| Exame organolético |   |   |
| Cor                | Rubi de muito boa profundidade  | Rubi de muito boa profundidade  |
| Aspeto             | Límpido   | Límpido   |
| Aroma              | Aroma com ligeira oxidação, frutado (fruta sobreamadurecida) de média intensidade           | Aroma com ligeira oxidação  |
| Sabor              | Doce no sabor. Ligeiro acético. Boa estrutura polifenólica, mas desequilíbrio acidez/doçura | Ligeira oxidação e amargor. Falta de equilíbrio doçura/acidez. Doce no sabor. Atípico |
| Observações        | Sem observações   | Sem observações   |

Tabela 9 – Ficha-resumo de prova do Par W1/W1a

|                    | Antes NF-ED   | Depois NF-ED  |
|--------------------|---|---|
|                    | Pontuação (0-100)   |   |
| Mínima             | 49  | 61  |
| Máxima             | 85  | 83  |
| Média              | 71  | 71  |
| Exame organolético |   |   |
| Cor                | Cor evoluida (âmbar)  | Cor evoluida (âmbar)  |
| Aspeto             | Empoad, turvo   | Empoad, turvo   |
| Aroma              | Aroma limpo, marcado pela casta. Ligeira evolução                                       | Aroma limpo, marcado pela casta. Ligeira evolução e toque de oxidação   |
| Sabor              | Sabor limpo, boa intensidade aromática de boca, equilibrado, macio e harmonioso         | Sabor limpo, boa intensidade aromática de boca, equilibrado, macio e com volume de boca. Final fresco e com alguma persistência (acidez fixa) |
| Observações        | Desequilíbrio nariz/boca. Sabor acético, no final de boca, referido por dois provadores | Sem observações   |

nota de frescura muito positiva.

5. Discussão

A conclusão de que a pontuação resultante da análise sensorial melhora após o tratamento, não pode ser retirada inequivocamente, dado que os aumentos são escassos e em alguns casos não significativos, porque inferiores ou iguais a 2% (Tabela 10). No entanto, podemos concluir que os descritores qualitativos referidos pelos provadores, quanto à cor, aspeto, aroma e sabor, mantêm-se ou até melhoram após o tratamento NF-ED.

PUBLICIDADE  
I/2 página

## 6. Conclusões e perspetivas

O projeto de experimentação enológica [12] descrito neste artigo, permitiu confirmar que a tecnologia NF-ED é eficaz na remoção da acidez volátil, do acetato de etilo e dos fenóis voláteis nos 28 vinhos estudados. Os problemas que este método soluciona têm um impacto socioeconómico elevado, e os inconvenientes detetados, apesar de relevantes, têm boas hipóteses de ser solucionados. Os resultados do exame organolético a 5 pares de vinhos (num universo de 28 estudados) não foram suficientemente conclusivos. Pensamos que isto se deveu ao facto de haver demasiados parâmetros a variar ao mesmo tempo: por um lado, a remoção de componentes indesejáveis atuou no sentido positivo, mas a remoção dos vinhos de componentes desejáveis (como os ácidos fixos e o álcool), funcionou no sentido contrário, de desequilibrar os vinhos, o que levou à dificuldade em retirar conclusões inequívocas do exame organolético. No âmbito dos efeitos colaterais, a questão da diminuição do álcool é de solução mais evidente. No entanto, resta a questão da diminuição da acidez fixa, de solução mais complexa. Enquanto não for possível resolver a questão da eliminação involuntária de ácidos fixos pela tecnologia NF-ED, propomos a solução de adicionar ácido tartárico exógeno aos vinhos após NF-ED, dado que esta prática enológica é legal na União Europeia até ao limite de 1 g/L. Como perspetivas de trabalho futuro, acreditamos que a pesquisa de outros compostos passíveis de ser removidos do vinho por NF-ED, com os necessários ajustes dos parâmetros operacionais, será um dos tópicos mais interessantes de estudo. 🍷

Paulo J. F. Cameira dos Santos  
INIAV, I.P.



Manuel Malfeito Ferreira  
Linking Landscape Environment Agriculture and Food Research  
Center (LEAF), Instituto Superior de Agronomia,  
Universidade de Lisboa



## Bibliografia

- [1] Bayonove, C.; Baumes, R.; Crouzet, J.; Günata, Z. (2000). Aromas. In *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. C. Flanzky (Ed.), Vicente Ediciones, Madrid, Spain, pp. 137-176.
- [2] Chatonnet, P.; Dubourdieu, D.; Boidron, J.N.; Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *J. Sci. Food Agric.*, **60**:165-178.
- [3] Malfeito-Ferreira, M. (2018). Two Decades of "Horse Sweat" Taint and Brettanomyces Yeasts in Wine: Where do We Stand Now? *Beverages*, **4**(2):32. DOI 10.3390/beverages4020032.

**Tabela 10** – Resumo das pontuações da prova organolética

| Vinho <sup>1</sup> | Região     | Pontuação dada pelos Provedores (escala 0 a 100)      |  |   |
|--------------------|------------|---|--|---|
|                    |            | Mínima<br>(Nota mais baixa<br>de todos os provedores) | Máxima<br>(Nota mais alta<br>de todos os provedores) | Média<br>(Classificações<br>dos 7 provedores) |
| R19                | Douro      | 63  | 82   | 74  |
| R19a               |            | 64  | 84   | 76  |
| R20                | Douro      | 60  | 66   | 69  |
| R20a               |            | 58  | 67   | 62  |
| R21                | Douro      | 47  | 63   | 55  |
| R21a               |            | 57  | 70   | 63  |
| R22                | Douro      | 54  | 81   | 64  |
| R22a               |            | 54  | 84   | 66  |
| W1                 | Setúbal    | 49  | 85   | 71  |
| W1a                | (Licoroso) | 61  | 83   | 71  |

<sup>1</sup> quando o número do vinho vem seguido da letra a, significa após o tratamento NF-ED.

- [4] Gerbaux, V.; Vincent, B. (2001). Influence des phénols volatils sur les qualités sensorielles de vins rouges de différents cépages. *Rev. Oenol.*, **99**:15-18.
- [5] Peynaud, E.; Blouin, J. (1997). *O gosto do vinho*. 2<sup>nd</sup> Ed., Litexa Editora, Lisboa, Portugal.
- [6] Ugarte, P.; Agosin, E.; Bordeu, E.; Villalobos J.I. (2005). Reduction of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol concentration in red wines, using reverse osmosis and adsorption. *Am. J. Enol. Vitic.*, **56**(1):30-36.
- [7] Cameira-dos-Santos, P.J. (1995). *Colmatage en microfiltration tangentielle: mise en évidence d'interactions entre les polysaccharides et les polyphénols du vin et des membranes polymériques*. PhD thesis, École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier, France, 29 May 1995. DOI: 10.13140/2.1.5160.0320
- [8] Smith, C.R. (1996). *Apparatus and method for removing compounds from a solution*. U.S. patent 5,480,665.
- [9] Cameira-dos-Santos, P.J.; Gerales-Fernandes, V.M.; Estrela, R.B. (2016). Method for extracting unwanted very weak acidic compounds from a drinkable liquid, in particular a wine. *European Patent Application*, n.º EP20160731661.
- [10] Laidler, K.J.; Chen, D. (1958). The influence of pressure on the kinetics of the alkaline hydrolysis of esters and amides. *Trans. Faraday Soc.*, **54**:1026-1033.
- [11] Cameira-dos-Santos, P.J. (2017). As doenças dos vinhos. Sua mitigação com recurso a tecnologias de separação por membranas. *Enovitis*, **49**:26-31.
- [12] Cameira dos Santos P.J.; Gerales V.; Estrela R. (2015). *Projeto de Experimentação Enológica para a Redução do Teor em Acidez Volátil em Vinhos por processos físicos*. Edição do Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa.
- [13] OIV (2007). *Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts*. Office International de la Vigne et du Vin, Paris.
- [14] Bertrand, A. (1981). Formation des substances volatiles au cour de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité du vin. In: *Séances du Colloque Société Française de Microbiologie*, Reims, pp 251-267.