

As doenças dos vinhos. Sua mitigação com recurso a tecnologias de separação por membranas

A Enologia moderna dispõe, hoje em dia, de recursos capazes de solucionar, satisfatoriamente, as consequências nefastas dos acidentes microbiológicos em vinhos.

Pasteur e o conceito de *doença dos vinhos*

Na segunda metade do Século XIX, Louis Pasteur (1822-1895) foi o primeiro cientista a identificar microrganismos nos vinhos, tendo também sido ele que estabeleceu o seu papel primordial em toda a cadeia de produção de vinho, para o bem e para o mal.

Nos casos em que os organismos eram nefastos, Pasteur entendeu que se estava em presença de uma “*maladie du vin*” – uma doença do vinho. Este termo permaneceu até hoje, e ainda se usa na gíria enológica.

Por solicitação dos vinicultores e cervejeiros franceses, Pasteur começou a investigar a razão pela qual azedavam os vinhos e as cervejas. Utilizando o microscópio, conseguiu visualizar as bactérias responsáveis pelo processo de alteração.

Propôs-se eliminar o problema, aquecendo a bebida lentamente até alcançar 48 °C, matando deste modo as bactérias, e colocando

posteriormente o líquido em cubas hermeticamente fechadas para evitar uma nova contaminação.

Este processo originou a atual técnica de pasteurização utilizada em muitos alimentos, apesar de atualmente a pasteurização ser uma prática enológica de utilização pouco generalizada, por destruir a tipicidade, bem como outras propriedades organoléticas do néctar dos deuses.

Por terras de Portugal, em 1790, Francisco Pereira Rebello da Fonsecca escrevia no parágrafo XCVII das “*Memórias de Agricultura*” (Figura 1) o seguinte: “A primeira operação que deve praticar-se logo que o vinho principia a caminhar para vinagre, é trasfega-lo para pipas novas, em que não haja tártaro, que se dissolva, e que aumente a causa da enfermidade (...”).

Nesta sabedoria ancestral, nota-se o óbvio desconhecimento do agente microbiológico, que está na origem da “enfermidade” do vinho.

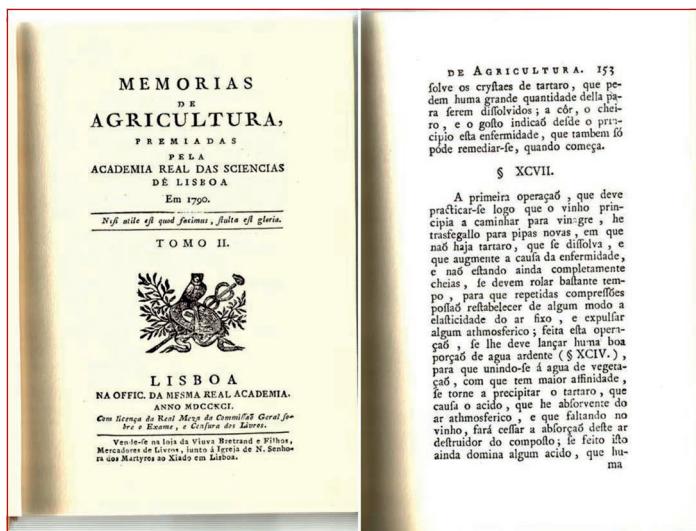


Figura 1 – Início do parágrafo XCVII das “Memorias de Agricultura”, de Francisco Rebello da Fonsecca (1790).

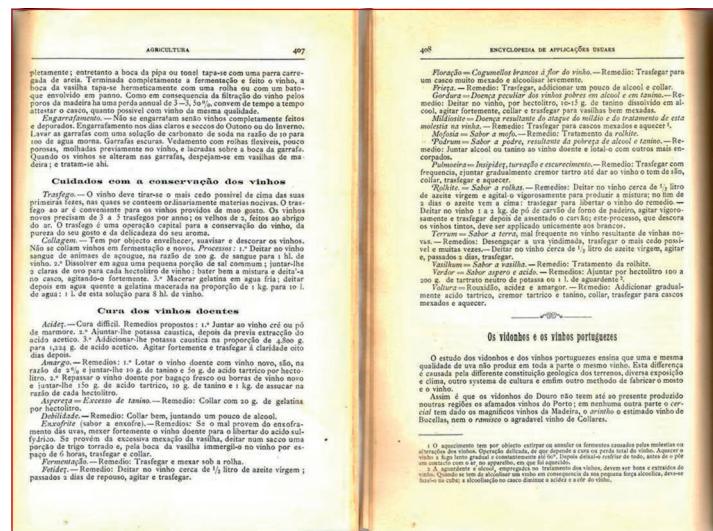


Figura 2 – Páginas 407 e 408 da “*Encyclopedia de applicações usuaes*” (Bonança, 1903).

Culpava-se o tártaro, identificado como o agente maléfico causador da acidez volátil.

O que é perfeitamente natural, pois qualquer agricultor/vinicultor já tinha provado muitas vezes esses misteriosos cristais de tártaro que apareciam no fundo das pipas, conhecidos hoje em dia por bittartarato de potássio (ou mais cientificamente, hidrogenotartarato de potássio).

Tinha comprovado, por experiência própria, o seu sabor extremamente ácido, de uma acidez nua e crua, que hoje em dia os enólogos apelidam de *acidez metálica*.

Nesta altura, ainda Pasteur não tinha usado o seu microscópio, e por isso, o “mundo dos micróbios” era totalmente desconhecido

do nosso compatriota Rebello da Fonsecca.

Mais tarde, em 1903, sendo já públicos os factos científicos revelados por Pasteur, João Bonança enumerava na sua *Encyclopédia de applicações usuaes*, vários métodos para a *Cura dos vinhos doentes* (Figura 2), fornecendo para cada um deles o respetivo remédio ao jeito de *mezinha*, e ignorando os avanços científicos obtidos alguns anos antes por Pasteur.

A lista de doenças apresentada por João Bonança é diversificada: Acidez, Amargo, Aspreza, Debilidade, Enxofrite, Fermentação, Fetidez, Floração, Frieza, Gordura, Mildiosite, Mofosia, Podrum, Pulmoeira, Rolhite, Terrum, Vasilhum, Verdor, Voltura.

Em meados do Séc. XX, a Enologia Científica viu a luz do dia,

Tabela 1 – Lista das principais doenças e acidentes microbiológicos dos vinhos

Nome da doença do vinho	Nome arcaico (Bonança, 1903)	Agente microbiano implicado	Constituinte do vinho atacado	Produtos gerados resultantes da atividade microbiana	Principais efeitos sensoriais nefastos	Limiar de percepção olfativa em vinho tinto (da molécula causadora do mau aroma)
Pico acético ou azedia	Acidez	Bactérias: <i>Acetobacter aceti</i> . <i>Gluconobacter oxydans</i>	Etanol e/ou Acúcares residuais (glucose e frutose)	Ácido acético e (eventualmente) acetato de etilo	Sabor e aroma acre e pungente do ácido acético. Cheiro a verniz do acetato de etilo	Ácido acético = 375 mg/L Acetato de etilo = 115 mg/L
Pico láctico		Bactérias lácticas	Acúcares residuais (glucose e frutose)	Ácido láctico	Gosto a iogurte e/ou a manteiga	Não referido na literatura científica
Manite		Bactérias lácticas do género <i>Lactobacillus</i>	Apenas frutose residual	Manitol	Gosto açucarado e agridoce, devido ao manitol	Não referido na literatura científica
Volta	Voltura	Bactérias lácticas pertencentes a várias espécies	Ácido tartárico	Produtos secundários diversos	Perda de frescura ácida, devido ao desaparecimento do ácido tartárico. Aparecimento de diversos sabores estranhos	Não referido na literatura científica
Flor	Floração	Leveduras dos géneros: <i>Pichia</i> , <i>Hansenula</i> , <i>Candida mycoderma</i> e <i>Brettanomyces</i>	Etanol. Glicerol	Produtos secundários diversos	Vinho com gosto aguado. Turvação	Não referido na literatura científica
“Brett”		Levedura: <i>Brettanomyces bruxellensis/dekkera</i>	Ácidos fenólicos naturais da uva	4-etil-fenol (4-EP) 4-etil-guaiaçol (4-EG)	Aroma intenso a suor de cavalo/estrebaria	4-EP = 620 µg/L 4-EG = 140 µg/L 4EP+4EG (10:1) = 426 µg/L (Chatonnet et al., 1992)
Gordura	Gordura	Bactérias lácticas: <i>Pediococcus cerevisiae</i> ou do género <i>Oenococcus</i>	Ácido málico	Polissacáridos e mucilagens	Vinho com aspeto oleoso e viscoso. Aparecimento de diversos aromas e sabores estranhos	Não referido na literatura científica
Gosto a rolha	Rolhite	Fungos que infetam as pranchas de cortiça armazenadas em pilhas nos montados	Constituintes da cortiça (suberite, lenhina, celulose)	TCA (tricloroanisole) TeCA (tetracloroanisole) PCA (pentacloroanisole)	Aroma intenso e característico a mofo	0,9 ng/L



Figura 3 – Professor Jean Ribéreau-Gayon (1903-1991), criador da Enologia moderna.

Era neto de Ulysse Gayon, que por sua vez foi assistente de Pasteur em 1880. Ulysse Gayon fora o inventor da calda bordalesa para as vinhas.

Em 1949, enquanto Diretor do *Institut d’Oenologie de Bordeaux*, demonstrou experimentalmente (em conjunto com os seus colaboradores) a existência da fermentação malolática em vinificação, evidenciando também o papel das bactérias lácticas, que entretanto foram isoladas e identificadas.

com a criação do Institut d’Oenologie de Bordeaux, tendo sido seus pais Fundadores os Professores Jean Ribéreau-Gayon e Emile Peynaud (Figura 3).

No *Traité d’Oenologie* de Jean Ribéreau-Gayon, classificam-se as doenças dos vinhos consoante o tipo de microrganismo causador e o tipo de metabolito produzido, provocando cada um destes metabolitos um determinado *off-flavor* – ou seja um mau aroma ou mau sabor – nos vinhos doentes. Esses *off-flavors* são como nódoas num pano branco de tecido fino.

Impacto económico das doenças dos vinhos

O impacto económico das doenças dos vinhos é obviamente vasto, pois estas alteram muito, para pior, as suas propriedades organoléticas e a sua tipicidade.

No caso do pico acético, ocorre a produção excessiva de ácido acético nos vinhos, o que se deve ao desenvolvimento de bactérias acéticas que se nutrem do álcool (em condições aeróbias) (Figura 4).

Uma vez aberto o caminho e rompidas as defesas do vinho, podem seguir-se bactérias lácticas ou mesmo leveduras que se nutrem de outros constituintes, como açúcares residuais, ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, etc.

Estes agentes microbianos de 2.^a vaga, sendo maioritariamente anaeróbios não necessitam de oxigénio, e podem multiplicar-se nas partes profundas das cubas de armazenamento.

Portanto, após o contacto direto da superfície do vinho com o ar (p. ex. nas cubas não totalmente cheias), pode dar-se uma rápida



Figura 4 – Fotografia da parte superior de uma cuba de vinho tinto em contacto com o ar, em que se veem as colónias de bactérias acéticas, formando um “véu” (Fotografia obtida pelo autor).

formação de uma grande colónia de bactérias acéticas, como se vê na Figura 4.

Noutros casos, há infecção mista na superfície de contacto vinho/ar, podendo suceder-se colónias de leveduras da Flor, bactérias acéticas, etc.

As bactérias acéticas estão presentes nas uvas mesmo antes da colheita.

No entanto, se as uvas estiverem em bom estado sanitário, estas bactérias estão em quantidades mínimas.

Se estes agentes microbianos encontram boas condições para se multiplicar (uvas esmagadas e em mau estado sanitário, logo à vindima), podem produzir ácido acético já durante o transporte para a adega, quando em contacto com oxigénio, o que compromete os passos seguintes da vinificação, não obstante todas as boas práticas enológicas e de higiene que se ponham em marcha já no interior da adega.

As espécies de bactérias acéticas mais comuns provocadoras desta doença são: *Acetobacter aceti* e *Gluconobacter oxydans*.

Com a influência das alterações climáticas, temos uma predominância de verões mais quentes, podendo a carga inicial de bactérias acéticas provenientes das uvas ser bastante acentuada, aumentando assim o perigo de incidência do pico acético.

Associado ao desenvolvimento do pico acético, está o excesso de acetato de etilo, composto químico que resulta da esterificação do ácido acético com o álcool etílico, também designado etanol. (Figura 5).

Apesar de, em termos estatísticos, a incidência do excesso de acetato de etilo ser menor do que a do pico acético, aquele é consi-

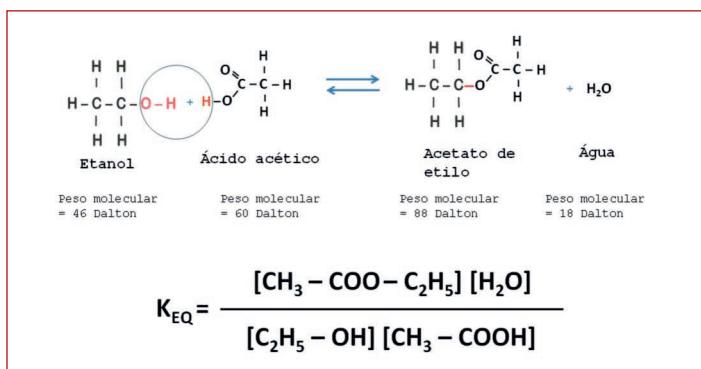


Figura 5 – Formação de acetato de etilo em meio hidroalcoólico.

derado um problema mais grave pelo seu maior impacto organoléptico, dada a sua capacidade para desvirtuar completamente a tipicidade de um vinho.

Quando em excesso (acima do limiar de percepção olfativa), o acetato de etilo confere ao vinho um aroma muito desagradável (*off-flavor*), típico de colas e vernizes, e é considerado um defeito muito grave.

O pico acético e o seu corolário, o acetato de etilo, são uma das principais causas para a perda de valor comercial do vinho.

O Anexo 1 C do Regulamento (CE) n.º 606 (Anónimo, 2009), estipula que os vinhos colocados no comércio não podem ter uma acidez volátil superior a 18 miliequivalentes por litro, o que equivale a 1,08 g/L de ácido acético.

Estima-se que, a nível mundial, 3% dos vinhos sejam atacados de pico acético, em pelo menos uma das fases da sua existência, da vinha ao copo.

Se for tido em conta que a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (www.oiv.int) calcula que, em todo o mundo, a produção anual média de vinho é de 250 milhões de hectolitros ($2,5 \times 10^{10}$ L), os 3% da produção mundial que sofre de excesso de acidez volátil corresponde a 7,5 milhões de hectolitros ($7,5 \times 10^8$ L), volume superior à média anual de produção do nosso país!

Dada a escassez, até agora, de soluções eficazes para a *cura* do pico acético, muitos dos produtores e enólogos ainda resolvem o problema através do remédio proposto por Bonança (1903), ou seja, diluindo os lotes de vinho azedo num universo maior de vinho de melhor qualidade, acabando por diminuir a qualidade dos 2 lotes como um todo.

Há pouca informação disponível sobre a extensão e incidência de doenças dos vinhos, em particular o pico acético. No entanto, fontes australianas estimam que o excesso de acidez volátil afete cerca de 3% do vinho da Austrália e Nova Zelândia (Kramer & Noonan, 2004).



O Projeto de experimentação enológica para redução do teor em acidez volátil em vinhos

Hoje em dia, a Enologia Científica evoluiu bastante e dispõe de recursos que vão muito além dos métodos recomendados por Francisco Rebello da Fonseca em 1790, João Bonança em 1903 e Jean Ribéreau-Gayon em 1949.

Em particular, o uso de tecnologias de separação por membranas vulgarizou-se em Enologia desde 1990, dado que se trata de tecnologias seguras, sem recurso a aditivos, e de precisão considerá-

vel na prossecução dos objetivos a que se propõem.

Através da conjugação criteriosa destas tecnologias, respeitando sempre o estabelecido no Regulamento (CE) 606/2009, e outras Normas jurídicas (Anónimo, 2009; OIV, 2011), é possível extrair de forma cirúrgica, sem afetar nem “tocar” outros constituintes do vinho, o acetato de etilo e o ácido acético.

Em estreita colaboração com o IVV, o autor foi, entre 2012 e 2015, coordenador do “Projeto de experimentação enológica para redução do teor em acidez volátil em vinhos” (Cameira dos Santos *et al.*, 2015).

Tabela 2 – Principais resultados obtidos durante o Projeto de Experimentação Enológica para Redução do Teor em Acidez Volátil em Vinhos por Processos Físicos, obtidos entre 2012 e 2015 (Cameira dos Santos *et al.*, 2015)

Casos	Região	Volume (litros)	N.º de Ciclos	TRNF*	Acidez Volátil (g/L)		Δ	
					Antes	Depois	g/L	%
4.1 Vinho Tinto	Douro	5000	1	35%	0,71	0,56	-0,15	-21%
4.2 Vinho Tinto	Douro	4000	1	35%	0,92	0,7	-0,22	-24%
4.3 Vinho Tinto	Alentejo	4000	1	35%	0,88	0,63	-0,25	-28%
4.4 Vinho do Porto	Douro	50 000	1	60%	1,22	0,66	-0,56	-46%
4.5 Vinho Branco	Douro	4000	1	50%	1,34	0,75	-0,59	-44%
4.6 Vinho Tinto	Douro	5500	2	45% + 40%	1,15	0,49	-0,66	-57%
4.7 Vinho Tinto	Algarve	4000	1	50%	2,13	1,24	-0,89	-42%
4.8 Vinho Tinto	Lisboa	4000	1	70%	1,67	0,65	-1,02	-61%
4.9 Vinho Tinto	Douro	500	2	70% + 40%	0,63	0,23	-0,4	-63%
4.10 Vinho Tinto	Tejo	1000	1	60%	1,32	0,65	-0,67	-51%
4.11 Vinho Branco	Tejo	1000	2	50% + 50%	1,87	0,22	-1,65	-88%
4.12 Vinho Tinto	Setúbal							
4.12.1 Lote A42/B42	Setúbal	26 000	1	60%	1,82	0,88	-0,94	-52%
4.12.2 Lote A43/B43	Setúbal	11 000	1	60%	0,97	0,47	-0,5	-52%
4.12.3 Lote A44/B44	Setúbal	13 000	1	60%	1,45	0,6	-0,85	-59%
4.13 Vinho Licoroso Moscatel	Setúbal	7600	1	50%	2,87	1,62	-1,25	-44%
4.14 Vinho Tinto	Setúbal	500	2	70% + 50%	0,57	0,14	-0,43	-75%
4.15 Vinho Tinto	Lisboa	700	2	70% + 50%	0,41	0,13	-0,28	-68%
4.16 Vinho Licoroso Abafado	Tejo	31 000	1	35%	1,19	0,85	-0,34	-29%
4.17 Vinho Tinto	Setúbal	1000	2	70% + 50%	1	0,24	-0,76	-76%
4.18 Vinho Tinto	Douro							
4.18.1 Lote A11/B11	Douro	4000	1	60%	1,06	0,49	-0,57	-54%
4.18.2 Lote A12/B12	Douro	10 000	1	60%	1,68	0,73	-0,95	-57%
4.19 Vinho Tinto	Douro							
4.19.1 Lote A13/B13	Douro	15 500	1	60%	1,13	0,64	-0,49	-43%
4.19.2 Lote A14/B14	Douro	15 000	1	60%	1,56	0,75	-0,81	-52%
4.20 Vinho Branco	Douro	4300	1	60%	0,78	0,42	-0,36	-46%
4.21 Vinho Tinto	Douro	5000	2	53% + 53%	1,92	0,57	-1,35	-70%
4.22 Vinho Tinto	Douro	8000	1	60%	1,14	0,59	-0,55	-48%
4.23 Vinho Tinto	Douro	10 000	2	70% + 40%	0,63	0,15	-0,48	-76%
4.24 Vinho Licoroso Moscatel	Setúbal	14 000	1	60%	2,67	1,16	-1,51	-57%

*TRNF – Taxa de Recuperação de Nanofiltração

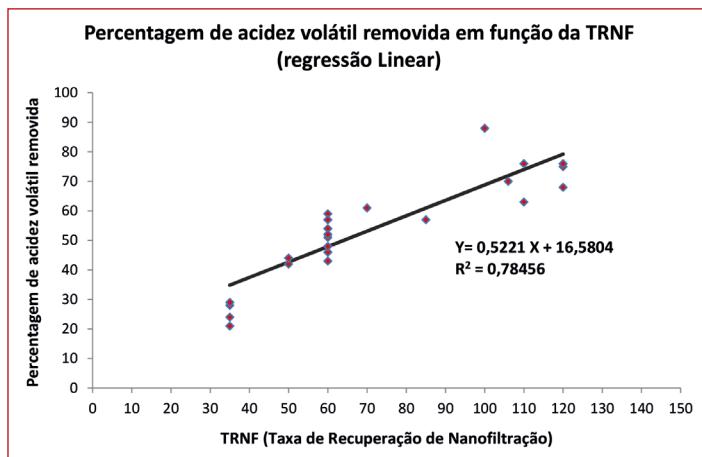


Figura 6 – Regressão linear simples, correlacionando a TRNF com a percentagem de acidez volátil removida, tendo como universo todos os 28 casos estudados no Relatório (Cameira dos Santos *et al.*, 2015).

O principal objetivo deste projeto foi a diminuição da concentração de ácido acético e de acetato de etilo em vinhos portugueses. Durante o decorrer do projeto, os seus executores acabaram por aperfeiçoar o método, pelo que encontraram solução também para outro problema: o excesso de fenóis voláteis, vulgarmente conhecido por “carácter brett”, que estão descritos numa Patente Internacional (Cameira dos Santos *et al.*, 2016).

Portanto, pode dizer-se que o projeto teve resultados bastante promissores, principalmente em 3 áreas:

- Redução da acidez volátil;
- Redução do acetato de etilo;
- Redução do “carácter brett” (excesso de fenóis voláteis).

Neste artigo, dedicaremos atenção apenas à alínea a) – redução da acidez volátil.

Os principais resultados obtidos estão expressos na Tabela 2.

A Figura 6 representa uma regressão linear, em que no eixo dos X, está representada a TRNF (em %) e no eixo dos Y está representada a percentagem de remoção da acidez volátil, para cada um dos 28 casos estudados (representados na Tabela 2.)

O estabelecimento de uma regressão linear demonstra, claramente, que há um nexo de causalidade direto entre a TRNF e a percentagem de remoção da acidez volátil, estando representada na Figura 6.

A reta de regressão obtida, é a seguinte: $Y = 0,5221 X + 16,5804$, e o seu declive positivo ($m = 0,5221$), confirmam a existência de uma correlação direta.

O coeficiente de determinação não é muito favorável ($R^2 = 0,78456$), mas tendo em conta que nesta regressão estão misturados vários tipos de vinho (brancos, tintos, licorosos, ...),

podemos considerar que a correlação é, pelo menos, aceitável como base de trabalho para futuros estudos mais aprofundados. Como conclusão, podemos referir que os processos de separação por membranas, em particular a conjugação de nanofiltração com a eletrodiálise, revelaram-se bastante adequados para a *cura* da doença do Pico Acético, pela eficaz redução dos teores em ácido acético e acetato de etilo em vinhos, sem afetar outros dos seus constituintes, nomeadamente, os aromas, o álcool, os compostos fenólicos e os polissacáridos, e respeitando integralmente a tipicidade e outras propriedades organoléticas dos vinhos. 

Paulo J.F. Cameira dos Santos

INIAV, I.P.



Referências bibliográficas

- Anónimo (2009). Regulamento (CE) n.º 606/2009 da Comissão, de 10 de julho de 2009, que estabelece regras de execução do Regulamento (CE) n.º 479/2008 do Conselho no que respeita às categorias de produtos vitivinícolas, às práticas enológicas e às restrições que lhes são aplicáveis.
- Bonança, J. (1903). *Encyclopedia de applicações usuais*. Typographia Lusitana. Editora Arthur Brandão. Lisboa, 1903.
- Cameira dos Santos, P.J.; Geraldes Fernandes, V.M. & Estrela, R.B. (2015). *Projeto de experimentação enológica para a redução do teor em acidez volátil em vinhos por processos físicos – Relatório Final*. Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa, Setembro de 2015.
- Cameira dos Santos, P.J.; Estrela, R.B. & Geraldes Fernandes, V.M. (2016). Method for extracting unwanted very weak acidic compounds from a drinkable liquid, in particular from a wine. *International publication under the patent cooperation treaty (PCT)*. PCT/IB2016/053133 – WO 2016/189508 A1.
- Chatonnet, P.; Dubourdieu, D.; Boidron, J.N. & Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 60, pag.: 165-178.
- Fonsecca, F.P.R. (1790). *Memorias de Agricultura premiadas pela Academia Real das Sciencias de Lisboa. Tomo II*. Edição Facsimilada. Estação Agronómica Nacional, Oeiras, 1991.
- Kramer, E.L. & Noonan, M.J. (2004). Sources leading to development of acetic acid in wine. *The Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, vol. 19(1), pag.: 39-44.
- OIV (2011). *Répertoire des méthodes internationales d'analyse des vins et des mûrs*, Vols. 1 e 2. Edition: Organization Internationale de la Vigne et du Vin, Paris.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. & Dubourdieu, D. (1998). *Traité d'oenologie. Tome 2. Chimie du vin. Stabilisation et traitements*. Dunaud (Ed.), Paris.