



Influência da maceração a frio na extração de compostos fenólicos durante a elaboração de vinho base para espumante Shiraz

Cold maceration influencing the phenolic compounds extraction in base wine for Shiraz sparkling wines

Ana Paula André Barros^{1,2}, Islaine Santos Silva^{1,2}; Grace da Silva Nunes²; Luís Henrique Pereira de Sá. Torres²; Danilo Cardoso do Nascimento²; Luiz Cláudio Corrêa³; Aline Telles Biasoto Marques³; Janice Izabel Druzian¹.

¹Universidade Federal da Bahia / RENORBIO, Brazil.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Brazil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Brazil.

Contato: paulandrebarros@gmail.com

Resumo: Os compostos fenólicos de um vinho podem ter sua origem ligada à uva e aos processos tecnológicos empregados durante sua elaboração. A técnica de maceração a frio tem a finalidade de favorecer a extração dos constituintes do bagaço de uva antes do início da fermentação alcoólica. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da maceração à frio ($\pm 8^\circ\text{C}$) sobre a composição fenólica do vinho base para espumante da cultivar Shiraz. Para elaboração dos vinhos base, foram realizadas microvinificações em triplicata em garrafas de vidro de 20 litros de capacidade, com três tratamentos: SPD (prensagem direta), S24 (maceração a frio durante 24 horas seguida de prensagem) e S72 (maceração a frio durante 72 horas seguida de prensagem). Alíquotas foram recolhidas para análise durante três etapas da elaboração do vinho base: mosto antes da *debourbage*, mosto após *debourbage* e vinho após estabilização a frio. Os compostos fenólicos ($n = 27$) foram quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC-DAD-FD). Os resultados foram agrupados nas seguintes classes: Ácidos fenólicos, Flavanóis, Estilbenos, Flavonóis e Antocianinas, analisados por ANOVA, teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$) e Análise de Componentes Principais (PCA). A maior concentração de ácidos fenólicos foi observada no tratamento SPD, variando de $110,58 \text{ mg L}^{-1}$ no mosto antes da *debourbage* a $99,18 \text{ mg L}^{-1}$ no vinho base, sendo majoritários os ácidos cafeico e caftarico. Por outro lado, o tratamento SPD apresentou as menores concentrações em relação ao total de compostos fenólicos quantificados e na somatória dos compostos das classes dos flavanóis, estilbenos, flavonóis e antocianinas. Com isso, podemos concluir que a prática da maceração a frio contribui para uma maior extração de compostos fenólicos em mostos e vinhos.

Abstract: The wine's phenolic compounds have their origin linked to the grape and the technological processes adopted during winemaking. The technique of cold maceration aims to favor the extraction of the grape skin constituents before the alcoholic fermentation. The objective of this study was to evaluate the effect of cold maceration ($\pm 8^\circ\text{C}$) on the phenolic composition of Shiraz base wine for sparkling wine production. Microvinification of the base wine was performed in triplicate in 20 liter glass carboys, with three treatments: SPD (direct pressing), S24 (cold maceration during 24 hours followed by pressing) and S72 (cold maceration during 72 hours followed by pressing). Samples were collected for analysis during the three stages of preparation of the base wine: must before *debourbage*, must after *debourbage* and wine after cold stabilization. Phenolic compounds ($n = 27$) were quantified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC-DAD-FD). The results were grouped into the following classes: Phenolic acids, Flavanols, Stilbenes, Flavonols and Anthocyanins, analyzed by ANOVA, Tukey's test ($p \leq 0,05$) and Principal Component Analysis (PCA). The highest concentration of phenolic acids was observed when the SPD treatment was used, ranging from 110.58 mg L^{-1} in must before *debourbage* to 99.18 mg L^{-1} in the base wine. On the other hand, the SPD treatment resulted in wines with the lowest concentrations regarding the total phenolics compounds and for the sum of the compounds of the flavanols, stilbenes, flavonols and anthocyanins classes. According to the exposed, it can be concluded that the cold maceration practice contributes to a greater extraction of phenolic compounds in musts and wines.



1 Introdução

Os compostos fenólicos têm um papel determinante nos vinhos, o perfil desses compostos depende da cultivar, das práticas adotadas na viticultura e dos processos enológicos. A composição polifenólica do vinho engloba substâncias classificadas como: flavanóis, flavonóis, antocianinas, ácidos fenólicos e estilbenos [1, 2].

Segundo a Resolução nº 12/2005 da Organização Internacional da Uva e do Vinho, define-se maceração a frio como um procedimento de realizar maceração das uvas por um determinado tempo e temperatura, com a finalidade de favorecer a extração dos constituintes da película antes do início da fermentação alcoólica [3]. Durante esta etapa, o mosto permanece em contato com a parte sólida da uva para a extração dos compostos fenólicos, substâncias aromáticas, compostos nitrogenados, polissacarídeos e elementos minerais [4]. Esta etapa pode durar horas ou dias em temperaturas que variam de 5 a 15°C [5].

Usualmente, para elaboração de vinho base para espumante não se utiliza o contato do mosto com a casca das uvas. Porém, a técnica de maceração a frio pode proporcionar a obtenção de vinhos espumantes brancos, roses ou tintos dependendo do tempo e temperatura empregados, que diferenciam a quantidade extraída de compostos fenólicos, proporcionando alterações na cor e estrutura dessa bebida [6].

No Brasil, atualmente, só no estado do Rio Grande do Sul, são produzidos mais de 17 milhões de litros de vinhos espumantes. Na região do Vale do Submédio São Francisco (VSSF) dos 10 milhões de litros de vinhos produzidos, 4 milhões são de vinhos finos e desses, 65% corresponde à espumantes. Mesmo a produção dessa bebida seja menor que a de vinhos tranquilos, o impacto econômico deste produto é muito representativo no contexto geral do mercado vitivinícola, devido ao seu alto valor agregado [7, 8, 9].

Considerando a grande representatividade da produção de vinhos espumantes no Brasil e no mundo, este estudo teve como objetivo avaliar a influência da maceração à frio na extração de compostos fenólicos durante a elaboração de vinho base para espumante da uva Shiraz cultivada no Vale do Submédio São Francisco.

2 Material e Métodos

2.1 Microvinificações

Para realização do experimento utilizou-se cerca de 450 Kg de uvas da variedade Shiraz provenientes da área experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido (Petrolina-PE). Os vinhos base para espumante foram elaborados no Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. O desengace foi realizado em máquina desengaçadeira, adicionando-se 60 mg L⁻¹ de dióxido de enxofre (SO₂) e 0,02 mL L⁻¹ de enzima pectolítica (Everzym Thermo®). Em seguida, as uvas foram separadas e processadas conforme indicado na Tabela 1:

Tabela 1. Codificação e caracterização dos tratamentos aplicados para obtenção dos vinhos base para espumante Shiraz

Caracterização	
SPD	Prensagem direta
S24	Maceração a frio por 24 horas
S72	Maceração a frio por 72 horas

Com exceção das uvas destinadas ao tratamento SPD (prensagem direta), a etapa seguinte ao desengace e esmagamento foi a maceração a frio, realizada em câmara fria com temperatura controlada a 6±2°C, cujos mostos dos tratamentos S24 e S72 foram submetidos ao tempo de 24 horas e 72 horas de maceração a frio, respectivamente. Conforme o tempo de cada tratamento (Tabela 1), as uvas foram prensadas em prensa vertical e, após prensagem, os mostos foram transferidos para garrafas de vidro de 20 litros de capacidade e levados para a câmara fria para a realização da *debourbage* (clarificação prévia do mosto), a qual foi conduzida a uma temperatura de 8±2°C por 48 horas.

Para a realização da fermentação alcoólica (FA) foi utilizada a levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* Maurivin PDM® (0,20 g L⁻¹), sendo a FA conduzida a uma temperatura de 16±2°C. Logo após, os vinhos foram submetidos à estabilização proteica, com utilização da bentonite MAXIBENT PLUS® (0,80 g L⁻¹). Com auxílio do frio realizou-se a estabilização tartárica, concomitante à estabilização proteica, permanecendo na câmara fria por 30 dias a uma temperatura de 0°C. As microvinificações foram conduzidas em escala experimental, com três repetições para cada tratamento.

2.3 Análise Cromatográfica

Foram quantificados 27 compostos fenólicos conforme segue: malvidina-3-*O*-glucosídeo, cianidina-3-*O*-glucosídeo, petunidina-3-*O*-glucosídeo, delphinidina-3-*O*-glucosídeo, peonidina-3-*O*-glucosídeo e pelargonidina-3-*O*-glucosídeo (antocianinas), ácidos gálico, cafeico, caftárico, clorogênico, ρ -cumárico e ferrúlico (ácidos fenólicos), isoquercetina, rutina, miricetina, caempferol-3-*O*-glucosídeo e isorhamnetina-3-*O*-glucosídeo (flavonóis), *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol e piceatanol (estilbenos), (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-galato epigalato catequina, (-)-galato epicatequina, procianidinas A2, B1 e B2 (flavanóis) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo Waters modelo Alliance e2695 acoplado simultaneamente aos detectores de Arranjo de Diodos - DAD (280, 320, 360, 520 nm) e Fluorescência (280 nm excitação e 360 nm emissão), coluna Gemini-NX C18 (150mm x 4,60mm x 3 μ m) e a pré-coluna Gemini-NX C18 (4,0mm x 3,0mm), ambas da marca Phenomenex® [10]. Empregou eluição em gradiente, a fase móvel constituída de uma solução a 0,85% de ácido orto-fosfórico (fase A) e acetonitrila grau HPLC (fase B), totalizando 60 minutos de corrida. A temperatura do forno foi mantida a 40°C e o fluxo a 0,5 mL.min⁻¹. Cada amostra de vinho foi injetada sem diluição no equipamento, após filtração em membrana de nylon de



diâmetro de 13 mm e tamanho do poro de 0,45µm, utilizando como volume de injeção 10 µL/amostra. As análises foram realizadas em triplicatas.

2.4 Análise Estatística

Para a análise dos resultados, os compostos fenólicos foram agrupados em classes: Ácidos fenólicos, Flavanóis, Estilbenos e Flavonóis, sendo as somatórias submetidas à ANOVA, teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando o software XLStat (2015).

3 Resultados e Discussão

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam os resultados das concentrações dos compostos fenólicos por classe de diferentes etapas da elaboração do vinho base para espumante: mosto antes da *debourbage*, mostos após a *debourbage* e vinho base, respectivamente, para os tratamentos estudados nesta pesquisa.

Analisando o mosto antes da *debourbage* (Tabela 2), com exceção dos ácidos fenólicos, os mostos apresentaram maiores concentrações dos compostos fenólicos quanto maior o tempo de maceração empregado. Porém, podemos observar que, neste estudo, o tempo de maceração a frio empregado (S24 e S72) não diferenciou estatisticamente entre si. Sendo assim, nas condições estudadas, o menor tempo de maceração a frio (24 horas) já apresentou no mosto antes da *debourbage* S24 (226,63 mg L⁻¹) com concentração de compostos fenólicos similar ao mosto S72 (234,03 mg L⁻¹).

Tabela 2. Compostos fenólicos por classe do mosto antes da *debourbage* de vinho base para espumante da cv. Shiraz elaborados com uvas colhidas no VSSF utilizando diferentes tempos de maceração a frio

Compostos Fenólicos por Classe (mg L ⁻¹)	Tratamentos ^{1,2}		
	SPD	S24	S72
Ácidos Fenólicos	110.58 a	67.07 b	64.89 b
Flavanóis	9.38 b	12.04 a	11.38 ab
Estilbenos	0.66 b	0.84 a	0.87 a
Flavonóis	4.30 b	15.46 a	15.70 a
Antocianinas	36.59 b	131.22 a	141.19 a
Totais	161.51 b	226.63 a	234.03 a

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. ²SPD = Prensagem direta, S24 = 24 horas de maceração a frio e S72 = 72 horas de maceração a frio.

Contudo, observando os dados do mosto após a *debourbage* (Tabela 3), percebemos que o tempo de 72 horas de maceração a frio apresentou diferença significativa do mosto S24 para a concentração dos estilbenos e das antocianinas. Isso pode estar relacionado à presença de condições físico-químicas que interferem na maior estabilidade desses fenólicos após a *debourbage* no mosto S72 [11].

Tabela 3. Compostos fenólicos por classe do mosto depois da *debourbage* de vinho base para espumante da cv. Shiraz elaborados com uvas colhidas no VSSF utilizando diferentes tempos de maceração a frio

Compostos Fenólicos por Classe (mg L ⁻¹)	Tratamentos ^{1,2}		
	SPD	S24	S72
Ácidos Fenólicos	111.43 a	62.86 b	46.52 c
Flavanóis	9.63 b	11.41 a	11.08 a
Estilbenos	0.68 c	0.91 b	0.97 a
Flavonóis	4.62 b	16.51 a	18.65 a
Antocianinas	37.84 c	140.37 b	150.35 a
Totais	164.18 c	232.06 a	227.58 b

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. ²SPD = Prensagem direta, S24 = 24 horas de maceração a frio e S72 = 72 horas de maceração a frio.

Por fim, os resultados no vinho base (Tabela 4) mostram diferença significativa para todas as classes de compostos fenólicos, os vinhos base S24 e S72 não mostraram diferença entre si com relação ao conteúdo total dos flavanóis, estilbenos e antocianinas. O vinho S72 se destacou na concentração de flavonóis com 15,66 mg L⁻¹ enquanto o vinho SPD apresentou apenas 3,74 mg L⁻¹. Na literatura foi relatado valores totais de flavonóis de até 100 mg L⁻¹ para vinhos tintos e de 1 a 3 mg L⁻¹ para vinhos brancos, podendo variar de acordo com a técnica de elaboração e a variedade de uva utilizada [11].

Por outro lado, considerando a soma das classes dos compostos fenólicos, o vinho S24 apresentou a maior concentração total com 140,74 mg L⁻¹. O tratamento que empregou 24 horas de maceração a frio também se apresentou mais promissor quando observado mosto após a *debourbage* (Tabela 3), diferenciando estatisticamente dos demais tratamentos e apontando as maiores concentrações dos totais de fenólicos com 232,06 mg L⁻¹.

Tabela 4. Compostos fenólicos do vinho base para espumante da cv. Shiraz elaborados com uvas colhidas no VSSF utilizando diferentes tempos de maceração a frio

Compostos Fenólicos por Classe (mg L ⁻¹)	Tratamentos ^{1,2}		
	SPD	S24	S72
Ácidos Fenólicos	99.18 a	54.47 b	40.45 c
Flavanóis	10.05 b	12.02 a	11.42 a
Estilbenos	0.69 b	0.93 a	0.85 ab
Flavonóis	3.74 c	13.68 b	15.66 a
Antocianinas	13.36 b	59.63 a	61.24 a
Totais	127.03 b	140.74 a	129.63 b

¹Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. ²SPD = Prensagem direta, S24 = 24 horas de maceração a frio e S72 = 72 horas de maceração a frio.

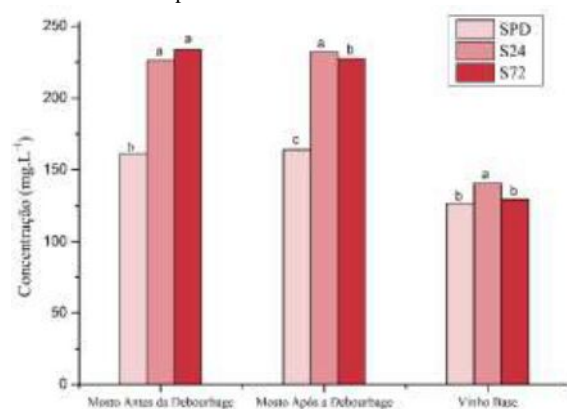
Em uma análise geral dos resultados apresentados nas tabelas (Tabelas 2, 3 e 4), a maior concentração de ácidos fenólicos foi observada para o tratamento SPD, variando de 110,58 mg L⁻¹ no mosto antes da *debourbage* a 99,18



mg L⁻¹ no vinho base. Espera-se para esta classe de fenólicos valores compreendidos entre 100 a 200 mg L⁻¹ para vinhos tintos e 10 a 20 mg L⁻¹ para brancos [11]. Por outro lado, os mostos e vinho base SPD apresentaram as menores concentrações de flavanóis, estilbenos, flavonóis e antocianinas e para a somatória das classes fenólicas.

As concentrações encontradas para antocianinas mostram a importância da prática de maceração a frio na sua extração, que chegou a 150,35 mg L⁻¹ no mosto após a *debourbage* S72 e 61,24 mg L⁻¹ no vinho base para o mesmo tratamento. Em vinhos tintos os valores podem variar de 100 mg L⁻¹ a 1.500 mg L⁻¹ [11].

Figura 1. Representação gráfica da Composição Fenólica Total em diferentes etapas da elaboração do vinho base para espumante da cultivar Shiraz pelo método tradicional.



*Barras seguidas de letras em comum não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. **SPD = Prensagem direta, S24 = 24 horas de maceração a frio e S72 = 72 horas de maceração a frio.

O gráfico exposto na Figura 1 ilustra o comportamento de compostos fenólicos quantificados por HPLC-DAD-FD ($n = 27$) durante as diferentes etapas de elaboração do vinho base, afirmando a relação da prática da maceração a frio com a maior extração desses compostos e demonstrando, ainda, a sua instabilidade ao longo da elaboração do vinho espumante pelo método tradicional. De acordo com a Figura 1, ficou clara a queda do conteúdo de compostos fenólicos no vinho base, independentemente do emprego da técnica de maceração a frio.

4 Conclusão

Podemos concluir que a prática da maceração a frio, destacando o tempo de 24 horas, contribuiu para uma maior extração de compostos fenólicos e que as etapas de elaboração do vinho base para espumante pelo método tradicional diminuíram, significativamente, a concentração desses compostos.

Referências

65. J. Garrido; F. Borges. Wine and grape polyphenols: A chemical perspective. *Food Research International*, **54**: 1844-1858 (2013).
66. M. Šeruga, I. Novak, L. Jakobek. Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, **124**: 1208-1216, (2011).
67. OIV, International Organization of vine and wine. Maceracion pré-fermentativa en frio para la elaboracion de los vinos tintos. *Resolucion: Oeno 12/2005* (2005).
68. C. C. Guerra. *Bebidas fermentadas: Vinho tinto*. In: W. G. Venturini Filho. *Bebidas alcoólicas: Ciência e Tecnologia*. Edgard Blucher LTDA, vol. 1 (2010).
69. M. J. Cejudo-Bastante, B. Gordillo, D. Hernanz, M. L. Escudero-Gilete, M. L. Gonzáles-Miret, F. J. Heredia. Effect of the time of cold maceration on the evolution of phenolic compounds and colour of Syrah wines elaborated in warm climate. *International Journal of Food Science and Technology*, **49**: 1886-1892 (2014).
70. P. Hidalgo, E. Pueyo, M. A. Pozo-Baon, A. J. Martinez-Rodriguez, P. Martin-Álvarez, M. C. Polo. Sensory and analytical study of rose sparkling wines manufacture by second fermentation in the bottle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52** (21): 6640-6645 (2004).
71. L. M. R. de Melo. Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2017. *Anuário HF, Campo & Negócio*, p. 112-116 (2018).
72. S. Torresi, M. T. Frangipane, G. Anelli. Biotechnologies in sparkling wine production. Interesting approaches for quality improvement: A review. *Food Chemistry*, **129** (3): 1232-1241 (2011).
73. F. Birolo, V. Zanella. Vinhos tropicais: Um desafio à tradição. In: *XXI Ciência para a vida*. Embrapa: Brasília (Brasil), p. 21 (2017).
74. M. M. P. Natividade, G. E. Pereira, L. C. Correia, S. V. C. Souza, L. C. O Lima. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal* **110**: 665-674 (2013).
75. P. Ribereau-Gayon, Y. Glories. *Handbook of Enology: Volume 2. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments* 2º ed. John Wiley & Sons Ltd. (2006).

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) Nº BOL0723/2019