

ESTABILIDADE DE ALDEÍDOS EM VINHOS, APÓS ABERTURA DA GARRAFA

Luciana Cavalcanti de AZEVÊDO(1); Cícero Antônio de ARAÚJO (2); Marina Mendonça REIS (3); Luciana Almeida da SILVA (4); Jailson Bittencourt de ANDRADE (5)

(1) CEFET Petrolina. Rod. Br 407, Km 8, s/n, João de Deus, Petrolina/PE. Fone/fax (87) 3863-2330, e-mail: lucianac.azevedo@hotmail.com.

(2) CEFET Petrolina. cicero@cefetpet.br

(3) UFBA. marinamreis@zipmail.com.br

(4) UFBA. las@ufba.br

(5) UFBA. jailsong@ufba.br

RESUMO

Os aldeídos possuem importância como compostos de aroma devido aos seus baixos limites de percepção olfativa, podendo influenciar positiva ou negativamente as propriedades sensoriais do vinho. Por este motivo, o presente trabalho objetivou avaliar o comportamento dos teores de aldeídos em garrafas de vinho abertas e estocadas por 42 dias em geladeira. Foram analisados os teores totais de formaldeído, acetaldeído, furfural, butanal, hexanal e 2-etil hexanal por cromatografia líquida (CLAE), em intervalos de uma semana. Para cada tipo de vinho (branco e tinto) foi selecionada uma garrafa, sendo cada amostra analisada em triplicata e os valores obtidos tratados estatisticamente através de regressão linear. Os modelos matemáticos obtidos indicam que a resposta analítica é influenciada pelo tempo de estocagem das garrafas abertas. Ao ser analisado cada aldeído nos dois tipos de vinho, observa-se que o comportamento individual deles é o mesmo. Os teores de furfural, formaldeído e hexanal tendem a reduzir, enquanto para o acetaldeído, butanal e 2-etil hexanal o comportamento foi contrário. Avaliando-se de maneira generalizada, é possível afirmar que mudanças significativas a nível de 5% são observadas após 60 horas de abertura das garrafas, sendo o período de maior estabilidade verificado nas primeiras 48 horas.

Palavras-chave: aldeídos, vinho, vinho aberto

1. INTRODUÇÃO

A elaboração de vinhos envolve procedimentos milenares que têm sido melhorados ao longo dos anos em termos de equipamentos e higiene das instalações, mas sem alterar a base tecnológica da fermentação. Atualmente, as maiores inovações na tecnologia enológica envolvem a criação de vinhos que combinem elementos naturais e culturais de cada região e a busca constante por informações sobre o tipo de constituintes químicos presentes em sua composição, ou que possam ser formados durante o seu envelhecimento nas garrafas (NICOLAU et al., 2000; WILLIAMS, 2001). Entre os diversos componentes químicos já identificados em vinhos encontram-se: hidrocarbonetos, álcoois, terpenos, ésteres, aldeídos, cetonas, ácidos, fenóis voláteis, lactonas e compostos sulfurados e nitrogenados (ROMANO et al., 2003; BONINO et al., 2003; FERREIRA et al., 1998; DEMYTTENAERE et al., 2003). Todos eles podem apresentar um papel importante na caracterização do aroma de cada tipo de vinho, inclusive diferenciando um vinho de outro. Em alguns casos, um pequeno número deles parece colaborar de forma mais intensa na tipicidade dessa bebida, mas todos ajudam a formar a sua “personalidade”. Por isso, conhecer melhor as substâncias aromáticas desta bebida significa estabelecer novos critérios para controlar a sua qualidade.

Neste trabalho, o foco principal é a investigação do comportamento de alguns aldeídos presentes em vinhos brancos e tintos, quando estes estão submetidos às condições de estocagem em geladeira e sob influência de pequenos teores de oxigênio, introduzidos na garrafa após sua abertura. Por estarem bastante difundidos em alimentos e bebidas, os aldeídos podem influenciar significativamente na sua qualidade e segurança para o consumidor, pois a presença de aldeídos em bebidas alcoólicas está relacionada, em geral, com sintomas como náusea, vômito, inquietação, suor, confusão, queda na pressão e dores de cabeça (NASCIMENTO et al., 1997). Por esse motivo, o interesse no estudo das concentrações desses compostos em bebidas alcoólicas ou não-alcoólicas tem aumentado. Além do efeito nocivo à saúde, os aldeídos afetam as características sensoriais das bebidas, pois a ocorrência nestes produtos pode ser um indicador de deterioração provocada por superaquecimento, oxidação ou fermentação inadequada, ou ainda indicar contaminação pelo uso de embalagens compostas por determinados materiais plásticos ou processo inadequado de engarrafamento (de ANDRADE et al., 1996).

Apesar de todos esses aspectos negativos, é importante salientar que, em estudos direcionados à caracterização química de bebidas, principalmente aqueles que buscam identificar compostos formadores do aroma, é possível observar que entre os componentes responsáveis pela qualidade sensorial dos produtos, aparecem frequentemente alguns aldeídos, principalmente aqueles de maior massa molar. Portanto, fica evidente a necessidade de se conhecer melhor o perfil e a influência desses compostos em bebidas, para que possam ser classificados como marcadores negativos ou positivos nestes produtos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os compostos carbonílicos, em particular os aldeídos, estão amplamente distribuídos em vinhos e bebidas alcoólicas, influenciando no aroma desses produtos. O tipo e concentração desses compostos pode variar tanto quanto o poder de conferir notas agradáveis ou desagradáveis ao aroma, ou seja, um único aldeído poderá influenciar positiva ou negativamente nas características sensoriais do vinho, dependendo principalmente da sua concentração no meio (FERREIRA et al., 2003).

Assim como as demais substâncias aromáticas do vinho, os aldeídos são provenientes da própria uva ou do seu processo de elaboração e envelhecimento, como resultado de inúmeras transformações bioquímicas que ocorrem na bebida. As principais vias de obtenção desses componentes, no entanto, resultam do processo fermentativo das leveduras durante a fermentação alcoólica ou de reações de oxidação não-enzimáticas (TOMASSET, 1998; OSBORNE et al., 2000; NOUGUER & MARTY, 1995). Segundo Tomasset (1998), nos vinhos tintos o acetaldeído - aldeído predominante nas bebidas alcoólicas - pode ser produzido através da oxidação do etanol provocada pelo peróxido de hidrogênio formado na reação entre os polifenóis presentes no mosto das uvas tintas e o oxigênio que se difunde através da madeira da barrica e é dissolvido lentamente.

Em situações nas quais os vinhos são estocados em tanques ou barricas de madeira que não estejam completamente plenos, o desenvolvimento de leveduras fermentativas ou oxidativas (*cândida* ou *pichia*), que oxidam o etanol e o glicerol, produz níveis altos e inaceitáveis de acetaldeído e outros componentes ainda pouco conhecidos (PEREIRA et al., 2002). Altas concentrações de acetaldeído resultarão em um aroma herbáceo indesejável ao vinho (ZOECKLEIN et al., 2001). Nos vinhos brancos, em especial, a presença do acetaldeído influencia na formação dos aromas: “acético”, “amadeirado” ou de “ranço”, além das notas de “solvente”, “cola” e “esmalte” (ACADEMIA DO VINHO, 2004). A produção de acetaldeído é, até certo ponto, um processo natural; no entanto, concentrações desse aldeído iguais ou superiores a 50,0 mg L⁻¹

manifestam a característica “oxidada” do vinho. Esse defeito pode ser resultante da aeração do vinho, da contaminação por leveduras estranhas ao processo ou da conservação em recipiente cujo volume em líquido esteja incompleto, permitindo o contato com a camada interna de ar (TOMASSET, 1998).

Estes componentes, portanto, possuem papel importante na vida-de-prateleira dos vinhos. Ao estudar o comportamento de aldeídos em vinhos brancos jovens, submetidos à influência do oxigênio, Escudero et. al. (2001) perceberam que diferentes notas aromáticas podem ser produzidas em um curto período de estocagem e destacaram a nota de “vegetal cozido” como sendo a que mais influenciou na qualidade final do vinho.

3. METODOLOGIA

3.1. Amostras de vinho

Para o estudo usou-se uma garrafa de vinho branco seco da marca Botticelli, safra 2006 (uva *Chenin Blanc*) e outra de vinho tinto da mesma marca e safra (uva *Cabernet Sauvignon*). Ambos foram analisados no dia de abertura das garrafas (dia 0) e depois com 8, 14, 23, 30 e 42 dias de estocagem sob refrigeração. As amostras foram analisadas em triplicata.

3.2. Análise de aldeídos

No preparo das amostras, alíquotas de 1 mL de vinho foram alcalinizadas (até pH 11) com NaOH 1 mol L⁻¹ e em seguida derivatizadas com 5 mL de solução de 2,4-DNPH 0,4%, seguindo a metodologia desenvolvida por Azevêdo e colaboradores (2007). A alcalinização é necessária para favorecer a quantificação de todo o aldeído presente na amostra (livre e ligado). A mistura foi levada para banho ultra-som, onde permaneceu em homogeneização por 15 minutos, seguida da injeção em CLAE.

As amostras derivatizadas foram analisadas em cromatógrafo a líquido, composto por: bomba Perkin Elmer Série 200, válvula injetora RHEODYNE *loop* de 20 µL, detector Perkin Elmer série 200 UV/VIS 5100 com lâmpada de deutério, integrador/processador Intralab, modelo 4290 (programação: CS=0,25, PT=100, AT=variável, MA=1000). Os compostos foram separados em coluna LichroCART 250-4 (Merck) RP-18 (5 µm). Os aldeídos foram separados com sistema gradiente de fase reversa através da passagem das fases móveis A (74,5% Metanol/0,5% acetonitrila/25% água v/v/v) e B (100% metanol), de acordo com a seguinte programação: 12 min – 100%A; 12 min – 100% A→B; 3 min – 100% B; 10 min – 100% B→A; e quantificados com detector UV/VIS em 365nm.

3.3. Quantificação de aldeídos

A quantificação dos aldeídos foi feita empregando-se o método de padronização externa, através das curvas analíticas construídas com os padrões de aldeídos derivatizados (hidrazonas) e considerando-se as áreas integradas dos picos cromatográficos. As curvas analíticas de cada aldeído foram construídas com cinco a dez pontos, registrando-se área do pico *versus* a concentração, e obtidas por regressão linear (SOARES, 2001).

3.4. Reagentes e solventes

Os padrões utilizados para obtenção das hidrazonas de compostos carbonílicos (2,4-DNPHo-CC) foram das marcas Merck, Aldrich e Sigma.

Os solventes utilizados no preparo de amostra, solução padrão e fase móvel (acetonitrila e metanol), foram de grau cromatográfico HPLC J. T. Baker. A água deionizada, também presente na composição da fase móvel, foi obtida pelo sistema de purificação Barnstead, modelo NANOpure Diamond.

Após o preparo da fase móvel foram realizadas filtrações através de filtros Millipore para solventes orgânicos (0,45 µm) e degasagem à vácuo sob sonicação por quinze minutos.

3.5. Análise estatística

Utilizando-se os valores de concentração dos aldeídos estudados, foi feita a análise de regressão, escolhendo o modelo matemático pelo maior valor de R² ajustado e significância do coeficiente de regressão a 5,00%

pelo teste t. Para a maioria dos aldeídos, o modelo matemático que melhor se ajustou ao sistema foi o quadrático. A análise de regressão foi feita pelo programa SAEG-UFV, versão 8.1 (UFV, 2000).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A avaliação da estabilidade de aldeídos nos vinhos branco e tinto foi feita por um período de 42 dias, no qual as garrafas abertas permaneceram estocadas sob refrigeração. Esta estabilidade foi associada ao comportamento das concentrações de aldeídos presentes na amostra. Para isso, foram avaliados os teores totais de formaldeído, acetaldeído, furfural, butanal, hexanal e 2-etil hexanal, em intervalos de uma semana entre uma análise e outra. Os valores obtidos foram tratados estatisticamente através de regressão linear, gerando modelos matemáticos que simulam o comportamento dos teores dos compostos estudados, dia a dia.

A Figura 1 mostra as curvas obtidas neste estudo.

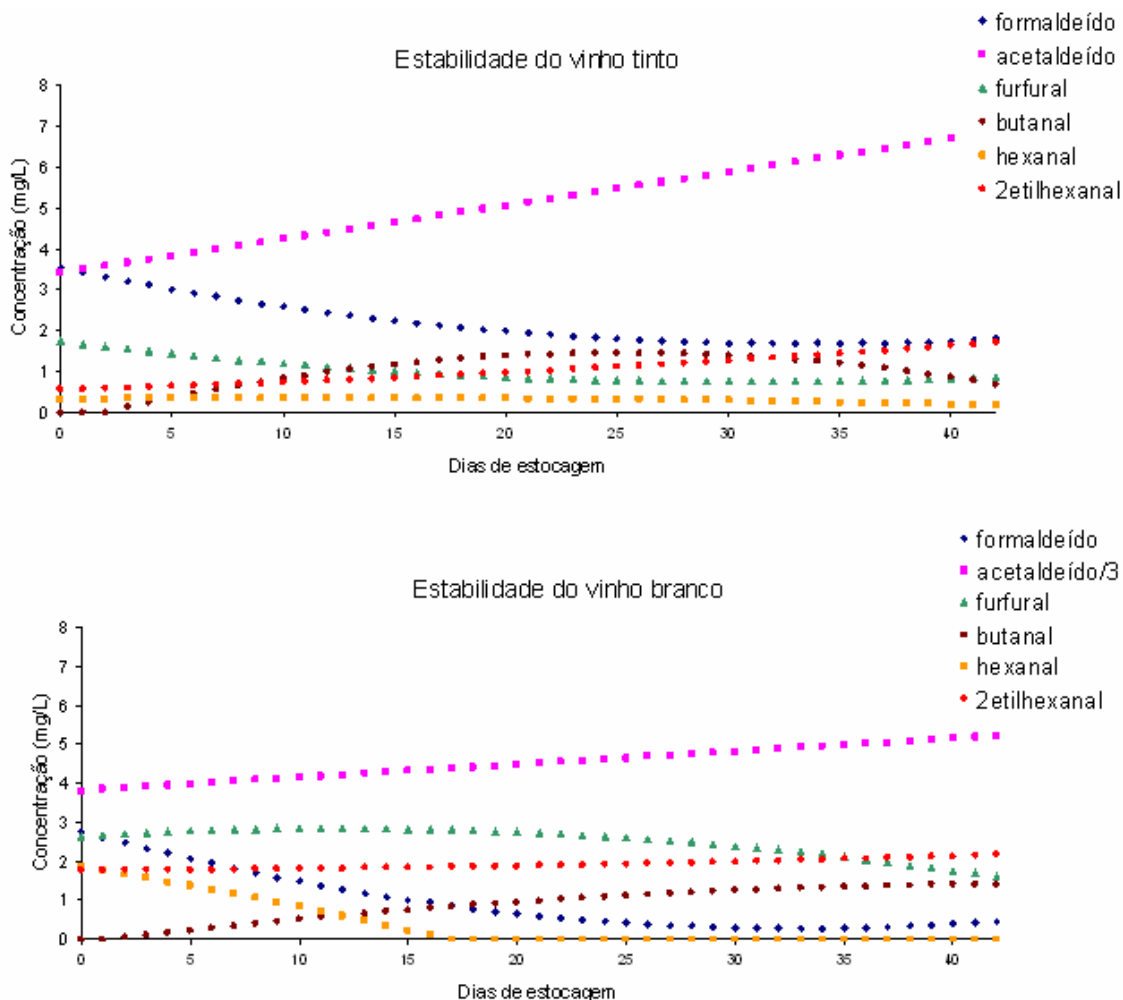


Figura1 - Curvas de acompanhamento da concentração de aldeídos nos vinhos branco (a) e tinto (b), em garrafas abertas.

Ao ser analisado cada aldeído nos dois tipos de vinho, observa-se que o comportamento individual deles é o mesmo, com exceção do hexanal, que no vinho branco teve sua concentração reduzida a níveis não detectáveis, após dezesseis dias de estocagem. Percebe-se também que, após a abertura das garrafas, os teores de alguns aldeídos como o furfural, formaldeído e hexanal tendem a reduzir, enquanto para o acetaldeído, o butanal e o 2-etil hexanal o comportamento foi contrário. Ambos os eventos estão relacionados com a presença do oxigênio no interior da garrafa. Avaliando-se de maneira generalizada, é possível afirmar que mudanças significativas a nível de 5% nesses teores são observadas após as primeiras 60 horas de abertura das garrafas.

Na Tabela 1 estão representadas as equações de regressão que relacionam a concentração dos aldeídos em função dos dias de estocagem do vinho.

Tabela 1 - Equações de regressão relacionando a concentração de CCs em função dos dias de estocagem do vinho aberto, sob refrigeração, e respectivos coeficientes de correlação.

<i>Carbonílico</i>	<i>Vinho branco</i>		<i>Vinho tinto</i>	
	Equação de regressão	R²	Equação de regressão	R²
Formaldeído	$y=2,7721-0,1516x+0,0023x^2$	0,7629	$y=3,5087-0,1087x+0,0016x^2$	0,7122
Acetaldeído	$y=11,4363+0,0999x$	0,7095	$y=3,4106+0,0817x$	0,8819
Furfural	$y=2,6534+0,0325x-0,0014x^2$	0,9462	$y=1,7365-0,0633x+0,0010x^2$	0,9915
Butanal	$y=-0,0697+0,0656x-0,0007x^2$	0,7561	$y=-0,2605+0,1366x-0,0027x^2$	0,6903
Hexanal	$y=1,8620-0,0913x+0,0011x^2$	0,8239	$y=0,3309+0,0044x-0,0002x^2$	0,6971
2-etil-hexanal	$y=1,7742+0,0018x+0,0002x^2$	0,6270	$y=0,5707+0,0134x+0,0003x^2$	0,9636

Analisando estas equações é possível concluir que a resposta analítica é influenciada pelo tempo de estocagem das garrafas abertas. Os valores dos coeficientes do segundo termo da equação (b) comprovam esta afirmação e revelam que, apesar da variação não ser muito brusca, pode ser significativa do ponto de vista analítico, principalmente para o formaldeído. O modelo quadrático foi o que melhor se ajustou ao comportamento da maioria dos aldeídos estudados. Apenas o acetaldeído apresentou comportamento linear durante o período de estudo. Em todos os casos os modelos apresentaram boa capacidade de predição ($R^2 > 70\%$).

Os gráficos e equações obtidos neste estudo indicam que, do ponto de vista quantitativo, o período máximo de estocagem no qual os aldeídos não sofrem modificações significativas em suas concentrações é de 48 horas. Portanto, para fins científicos, as amostras de vinhos devem ser analisadas dentro desse período, para que os dados obtidos reproduzam os teores reais de aldeídos presentes.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da estabilidade das amostras de vinho branco e tinto revelou que os teores de aldeídos nestas amostras se mantêm constantes em um período máximo de 48 horas após abertura das garrafas. A partir daí, as concentrações desses componentes sofrem modificações influenciadas principalmente pela presença do oxigênio. Estas modificações tendem a ter efeito negativo na qualidade do vinho, uma vez que entre os aldeídos que apresentam aumento na concentração durante a estocagem está o acetaldeído, principal indicador do caráter “acético” do vinho.

REFERÊNCIAS

ACADEMIA DO VINHO. **A química do vinho**. Disponível em:
<www.academiadovinho.com.br/index.htm>. Acesso em: 14 mar 2004.

de ANDRADE, J. B.; BISPO, M. S.; REBOUÇAS, M. V.; CARVALHO, M. L. S. M.; PINHEIRO, H. L. C. Spectrofluorimetric determination of formaldehyde in liquid samples. **American Laboratory**, v.57, 1996.

AZEVEDO, L.C. **Estudo de compostos carbonílicos e os respectivos ácidos hidroxialquilsulfônicos em vinhos**. 2007. 159p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Departamento de Química, Salvador, 2007.

BONINO, M.; SCHELLINO, R.; RIZZI, C.; AIGOTTI, R.; DELFINI, C.; BAIOCCHI, C. Aroma compounds of an italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. **Food Chemistry**, v.80, p.125-133, 2003.

DEMYTTENAERE, J. C. R.; DAGHER, C.; SANDRA, P.; KALLITHRAKA, S.; VERHÉ, R.; DE KIMPE, N. Flavour analysis of Greek white wine by solid-phase microextraction-capillary gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.985, p.233-246, 2003.

ESCUADERO, A.; ASENSIO, E.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. **Food Chemistry**, 77, p.325-331, 2002.

FERREIRA, V.; LOPEZ, R.; ESCUDERO, A.; CACHO, J. F. Quantitative determination of trace and ultratrace flavour active compounds in red wines through gas chromatographic-ion trap mass spectrometric analysis of microextracts. **Journal of Chromatography A**, v.806, p.349-354, 1998.

FERREIRA, V.; CULLERE, L.; LOPEZ, R.; CACHO, J. Determination of important odor-active aldehydes of wine through gas chromatography-mass spectrometry of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge used for selective isolation. **Journal of Chromatography A**, 2003.

NASCIMENTO, R. F.; MARQUES, J. C.; LIMA NETO, B. S.; KEUKELEIRE, D.; FRANCO, D. W. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in Brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. **Journal of Chromatography A**, v.782, p.13-23, 1997.

NICOLAU, L. P.; REVEL, G.; BERTRAND, A.; MAUJEAN, A. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 9, p. 3761-3766, 2000.

NOUGUER, T.; MARTY, J. L. An amperometric bienzyme electrode for acetaldehyde detection. **Enzyme Microbiology Technology**, v.17, p.453-456, 1995.

OSBORNE, J. P.; MIRA DE ORDUNA, R.; PILONE, G. J.; LIU, S. Q. Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. **FEMS (Federation of European Microbiological Societies) Microbiology Letters**, v.191, p.51-55, 2000.

PEREIRA, E. A.; CARRILHO, E.; TAVARES, M. F. M. Laser-induced fluorescence and UV detection of derivatized aldehydes in air samples using capillary eletrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v.979, p.409-416, 2002.

ROMANO, P.; FIORE, C.; PARAGGIO, M.; CARUSO, M.; CAPECE, A. Function of yeast species and strains in wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, v.86, p.169-180, 2003.

SOARES, M. L. V. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.60, n.1, p.79-84, 2001.

TOMASSET, L. U. **Química Enológica**. Madri: Ediciones Mundi-prensa, 1998. 400p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA SAEG, UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas versão 8.1**, Viçosa, MG, 2000.

WILLIAMS, P. *International Journal of Wine Marketing*, v. 13, n. 3, p. 42-60,2001.

ZOECKLEIN, B. W. **Analisis y Producción de vino**. Zaragoza, Espanha: Ed. Acríbia, 2001. 613p.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PRONEX/FAPESB/CNPq, por seu suporte financeiro.