

APLICAÇÃO DA ENZIMA PECTINASE NA VINIFICAÇÃO

Mara Núbia Olivier¹
Eliane Cristina Cerutti²
Gisele Cavanha Tomim²
Maiara Brusco de Freitas²
Maria Cristina Copello Rotili²
Nicolly Patrícia Gregório²

OLIVIER, M. N., CERUTTI, E. C., TOMIM, G. C., FREITAS, M. B., ROTILI, M. C. C., GREGÓRIO, N. P. Aplicação da enzima pectinase na vinificação. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, Umuarama, v. 12, n. 2, p. 133-138, maio/ago. 2008.

RESUMO: As enzimas são substâncias encontradas natural ou artificialmente, capazes de governar e estimular processos químicos. Seu uso no processo de vinificação promove um aumento nos teores dos compostos fenólicos no vinho. O objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da enzima pectinase na vinificação da uva niágara rosada. As uvas, safra 2006, foram coletadas e encaminhadas para o laboratório de Bioquímica da Universidade Paranaense, *Campus* Toledo, dividida em quatro lotes, e sulfatadas com 50,0 mg/L de metabissulfito de sódio. Após, foram realizadas as correções de açúcar para 23,0 °Brix, seguidos da adição de nutrientes na proporção de 0,2 g/L de fosfato de amônio dibásico por kg de uva e inoculados com a levedura *Saccharomyces Cerevisiae* seca e ativada (30 mg/kg de uva). O tratamento 1 foi tomado como controle. Ao segundo foram adicionados 2,5 g da enzima pectinase (Ultrazym AFPL da Novozymes); ao terceiro 5,0 g, e ao quarto foram adicionados 7,5 g/100 kg de uva. As microvinificações foram realizadas em triplicata, sendo acompanhadas pelo °Brix. Finalizada a fermentação alcoólica, o vinho foi decantado, pasteurizado e mantido sob refrigeração. Foram realizadas análises de pH (a 20° C), acidez total (meq/L), acidez volátil (meq/L), SO₂ livre (g/L), SO₂ total (g/L) e densidade (g/cm³), polifenóis totais, antocianinas, taninos e índices de cor. A enzima pectinase favoreceu a difusão dos compostos fenólicos da película para o vinho. A concentração de 5,0 g de enzima por 100 kg de uva foi a que se mostrou mais adequada.

PALAVRAS-CHAVE: Vinificação; Enzima pectinase; Compostos fenólicos em vinhos.

APPLICATION OF PECTINASE ENZYME ON VINIFICATION

ABSTRACT: enzymes are substances naturally or artificially found which are able to govern and stimulate chemical processes. Its use in the vinification process promotes the increase of the levels of phenolic compounds in wine. The objective of this study was to verify the effects of the enzyme pectinase in the vinification of the Niagara pink grape. The grapes, harvested in 2006, were collected and taken to the laboratory of Biochemist of the Universidade Paranaense, *Campus* Toledo, divided into four sets, and sulfited with 50.0 mg/L of metabissulfite of sodium. Then, corrections of sugar to 23.0 °Brix followed by the addition of nutrients in the ratio of 0,2 g/L of dibasic ammonium phosphate per inoculated kg of grape and dry and activated *Saccharomyces Cerevisiae* yeast (30 mg/kg of grape) were carried out. Treatment 1 was considered control. To the second, 2.5 g of the enzyme pectinase (Ultrazym®, AFP-L, Novozymes do Brasil) were added; 5.0 g to the third, and 7.5 g/100 kg to the fourth. The microvinification had been carried through in third copy, being followed by °Brix. The wine was decanted, pasteurized and kept under refrigeration after the alcoholic fermentation. Analyses of pH (20° C), total acidity (meq/L), volatile acidity (meq/L), free SO₂ (g/L), total SO₂ (g/L) and density (g/cm³), total, anthocyanins, polyphenols, tanines, and color indexes were carried out. The pectinase enzyme favored the diffusion of skin phenolic composites to the wine. The concentration of 5.0g enzyme per 100 kg of grape presented to be more suitable.

KEYWORDS: Vinification; Enzyme pectinase; Phenolic compounds in wine.

Introdução

A enzima pectinase vem sendo amplamente utilizada na indústria de vinhos e sucos. Sua principal vantagem é a redução no custo da elaboração do vinho, uma vez que promove uma substituição de ingredientes, eliminação e/ou substituição de coadjuvantes no processamento da uva e elaboração do vinho, processamento mais eficiente com menos subprodutos indesejáveis e maior capacidade na planta industrial, resultando num aumento na produtividade (GUMP; HALGHT, 1995).

O vinho, produto obtido da fermentação alcoólica da uva, é composto de várias substâncias como: água, açúcar, álcoois, ácidos orgânicos, sais de ácidos minerais e orgânicos, compostos fenólicos, substâncias nitrogenadas, pectinas, gomas, mucilagens, compostos voláteis, compostos aromáticos, vitaminas e anidrido

sulfuroso (VOGT et al., 1986).

As substâncias responsáveis pela coloração e grande parte do sabor são os compostos fenólicos. Seus teores variam entre 1000-4000 mg/L, para vinhos tintos e entre 200-300 mg/L, para vinhos brancos. Os altos teores encontrados nos vinhos tintos se devem à presença das cascas na vinificação em tinto, ricas em compostos fenólicos. Atuam também na adstringência e na sua longevidade de vinhos tintos, além de auxiliarem na coagulação das proteínas, interferindo, assim, na clarificação do vinho, por colagem.

Os compostos fenólicos são formados por cinco grupos químicos: antocianinas, matéria corante vermelha; flavonas, de coloração amarela; fenóis ácidos, presentes sob forma de ésteres (ácidos cinâmicos, ácido benzóico) e taninos condensados, provenientes de sementes, película ou casca e engaço (MAMEDE, 2004).

¹Professora Adjunta do Curso de Nutrição – Universidade Paranaense *Campus* Toledo/PR. Avenida Parigot de Souza. 3636, Jd Prada, CEP: 85903-170 Toledo/PR. maranubia@unipar.br.

²Alunos de Graduação do Curso de Nutrição da Universidade Paranaense *Campus* Toledo/PR. Projeto de Iniciação Científica – PIC/UNIPAR.

Segundo Ducret; Glories (2002), o uso da enzima pectinase proporciona uma maior extração da matéria corante e dos compostos químicos em geral.

Como resultado, tem-se uma melhoria na qualidade do vinho e maior resistência ao envelhecimento, porém, pouco se sabe quanto à concentração ideal a ser aplicada na elaboração de vinhos.

O objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da enzima pectinase na vinificação da uva niágara rosada, bem como estabelecer uma concentração adequada da enzima pectinase, que possa garantir um vinho de melhor qualidade.

Material e Método

O experimento foi realizado com a uva cultivar Niágara Rosada, obtida por intermédio de um supermercado de Toledo-PR. As uvas foram coletadas, transportadas para o laboratório da UNIPAR Campus Toledo, divididas em 4 lotes de 1,0 kg cada, e realizadas as microvinificações com três repetições. Em ambos os lotes, realizaram-se a correção do açúcar para 23°Brix, o ajuste do pH, a sulfitagem (30mg/L de dióxido de enxofre) e a adição de nutrientes (0,2 g/kg de fosfato de amônio dibásico). A levedura seca e ativada *Saccharomyces Cerevisiae*, obtida da Empresa LNF – Latinoamericana, Bento Gonçalves - RS, foi inoculada na proporção de 0,2 g/kg de uva. O mosto foi transferido para erlenmeyers com capacidade para 1 litro e adicionado à Enzima Pectinase Ultrazym AFPL, da Novozymes. O primeiro lote foi adotado como testemunha, sem adição da enzima pectinase. No segundo, foram adicionados 2,5 g; ao terceiro 5,0 g e ao quarto lote foram adicionados 7,5 g de enzima pectinase, para cada 100 kg de uva. A fermentação alcoólica foi acom-

panhada através da leitura do °Brix em intervalos de 12 horas. No sexto dia de fermentação, foi realizada a descuba, retirada das cascas e do sedimento formado no fundo do recipiente. Finalizada a fermentação, o vinho foi trasfegado, pasteurizado e colocado em recipientes previamente esterilizados e armazenados sob refrigeração até a sua análise.

Para avaliar a composição físico-química dos vinhos obtidos, foram realizadas as análises de pH (a 20°C), acidez total (meq/L), acidez volátil (meq/L), SO₂ livre (g/L), SO₂ total (g/L) e densidade (g/cm³), de acordo com a metodologia citada por Curvelo-Garcia (1988).

Para descrever o efeito da enzima pectinase, em concentrações pré-estabelecidas, nos compostos fenólicos e parâmetros de cor, foram desenvolvidas as análises de polifenóis totais (I 280), taninos (g/L), antocianinas (mg/L). Índice (420), índice (520), intensidade de cor (I 420 + I 520) e coloração (I 420/I 520) foram determinadas utilizando um Espectrofotômetro UV/Visível, conforme metodologia descrita por Amerine; Ough (1988).

A análise estatística e a comparação das médias foram realizadas através do teste de Tukey, com um nível de significância, $p < 0,05$.

Resultados

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram uma parada na fermentação alcoólica a partir de 60 horas do decurso da fermentação (Figura 1). A partir deste ponto, não se observa mais um decréscimo no valor do °Brix, evidenciando que o açúcar não está sendo consumido para a produção do etanol, principal produto de uma fermentação alcoólica.

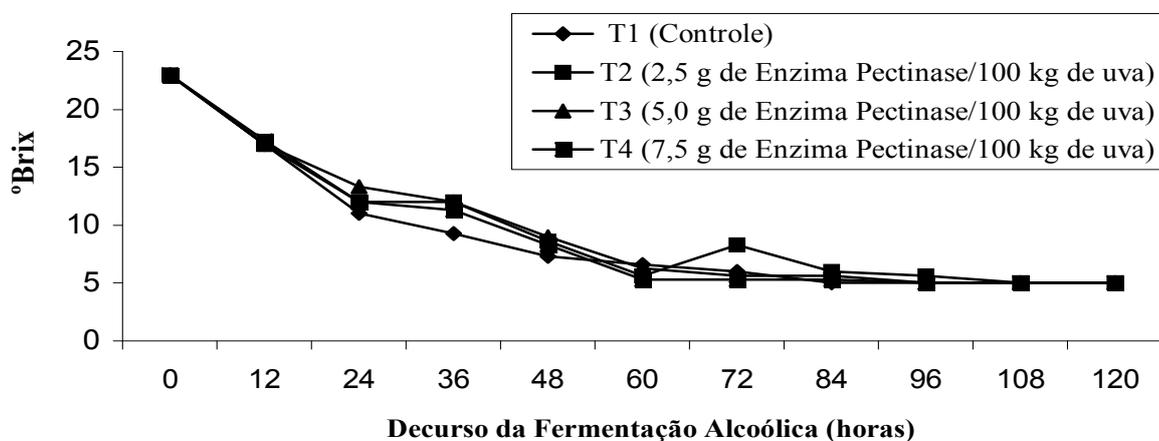


Figura 1: Evolução do °Brix do mosto, durante a fermentação alcoólica da uva, variedade Niágara Rosada, safra 2006, tratada com diferentes concentrações de enzima pectinase.

A Tabela 1 descreve os resultados médios obtidos, para as análises físico-químicas realizadas nos vi-

nhos, obtidos através de microvinificações, com a uva da variedade Niágara Rosada, tratados com diferentes

concentrações de enzima pectinase.

Tabela 1: Médias dos parâmetros físico-químicos dos vinhos, obtidos por microvinificações da uva da variedade Niágara Rosada, utilizando diferentes concentrações da Enzima Pectinase.

Parâmetros Físico-Químicos	Tratamentos				Análise Estatística		
	T1	T2	T3	T4	Média	DP	CV
Densidade a 20°C (gmL ⁻¹)	0,997	0,997	0,998	0,997	0,997	0,0005	0,05
Acidez Total (meqL ⁻¹)	121,69	122,82	132,52	126,27	125,82	1,869	3,87
Acidez Volátil (meqL ⁻¹)	3,59	4,25	3,59	4,25	3,92	0,381	9,72
pH (a 20°C)	3,16	3,20	3,22	3,23	3,20	0,050	12,13
Anidrido Sulfuroso Livre (mgL ⁻¹)	25,60	28,48	31,23	34,03	29,83	3,620	12,13
Anidrido Sulfuroso Total (mgL ⁻¹)	38,65	51,20	47,09	82,42	54,84	19,704	35,93

DP= Desvio Padrão; CV= Coeficiente de variação.

As Figuras 2, 3 e 4 mostram os resultados obtidos para os polifenóis totais, taninos e antocianinas respectivamente.

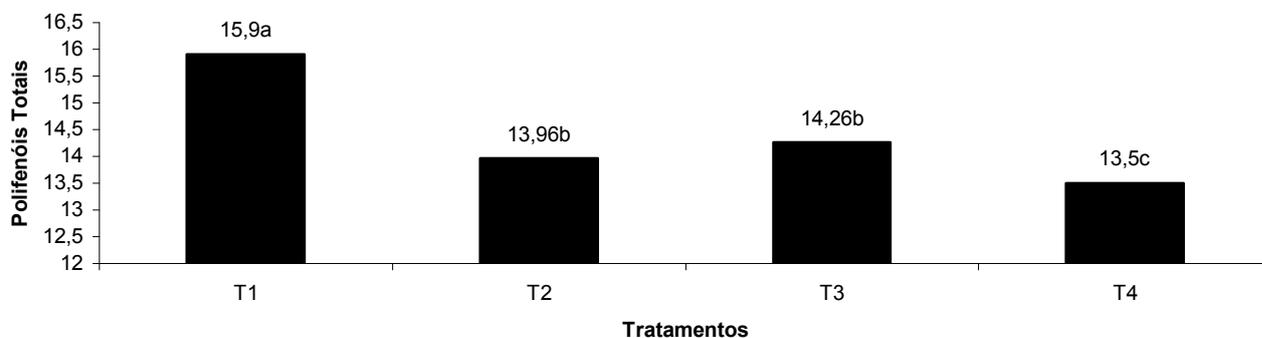


Figura 2: Teores de Polifenóis Totais dos vinhos obtidos por microvinificação da uva cultivar Niágara Rosada, safra 2006, utilizando diferentes concentrações da Enzima Pectinase.

Valores seguidos das mesmas letras não diferem estatisticamente, com um nível de significância $p < 0,05$.

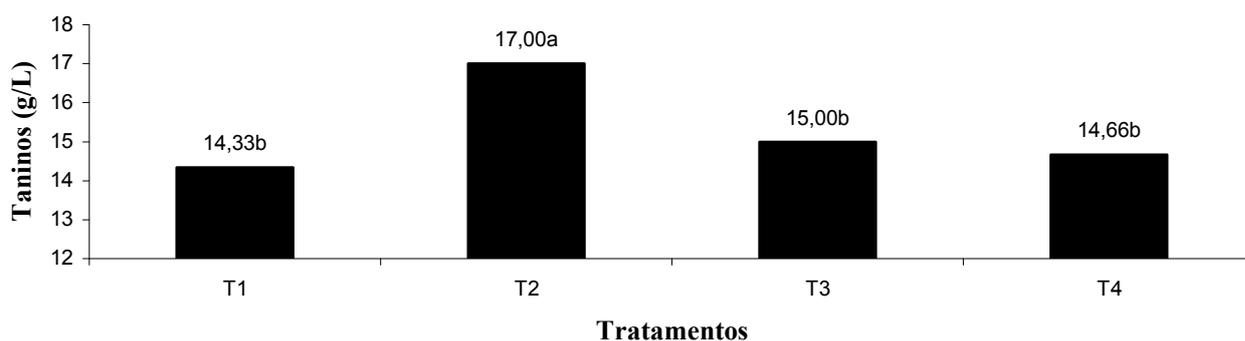


Figura 3: Teores de Taninos dos vinhos obtidos por microvinificação da uva cultivar Niágara Rosada, safra 2006, utilizando diferentes concentrações da Enzima Pectinase.

Valores seguidos das mesmas letras não diferem estatisticamente, com um nível de significância $p < 0,05$.

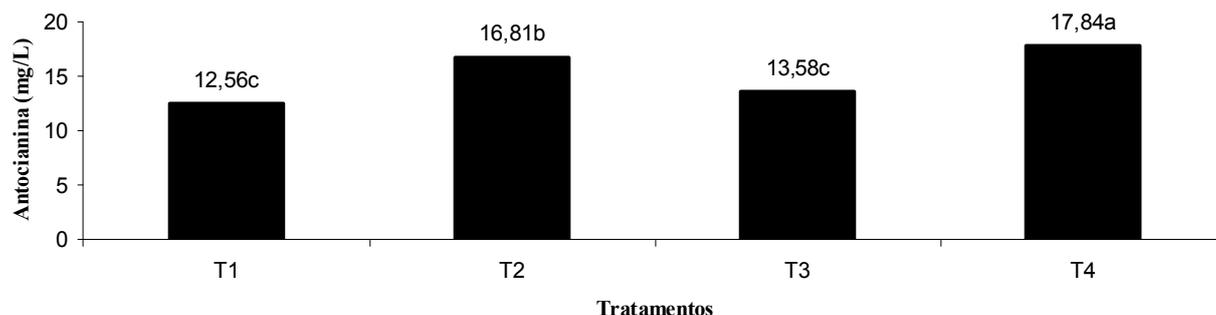


Figura 4: Teores de Antocianina dos vinhos obtidos por microvinificação da uva cultivar Niágara Rosada, safra 2006, utilizando diferentes concentrações da Enzima Pectinase.

Valores seguidos das mesmas letras não diferem estatisticamente, com um nível de significância $p < 0,05$.

Foram registrados valores significativamente diferentes para o Índice de cor a 420 nm, sendo o menor valor encontrado no tratamento T3, com 5,0g/100 kg de uva, da enzima pectinase. Já para o Índice de cor a 520 nm, observou-se um decréscimo significativo do tratamento T2, utilizando 2,5g/100 kg de uva, para o tratamento T3. Para a Intensidade de cor (420+520), foi observada uma redução significativa até o tratamento

T3.

Os valores de coloração mostraram-se com diferença significativa em todos os tratamentos, sendo o tratamento T2, com a adição de 2,5 g/100 kg de uva, de menor valor, quando comparado ao tratamento T1, definido como controle, sem a adição da enzima pectinase (Tabela 2).

Tabela 2: Médias dos índices de cor, intensidade de cor e coloração dos vinhos obtidos por microvinificações da uva da variedade Niágara Rosada, utilizando diferentes concentrações da Enzima Pectinase.

Variável	Tratamentos				Dados Estatísticos		
	T1	T2	T3	T4	Média	DP	CV
Índice de cor (420)	1,514a	0,185c	0,140d	0,229b	0,517	0,665	1,286
Índice de cor (520)	1,654a	1,730a	0,515b	0,488b	1,096	0,687	0,627
Intensidade de cor (420+520)	3,168a	1,915b	0,655c	0,717c	1,613	1,187	0,735
Coloração (420/520)	0,915a	0,107d	0,272c	0,469b	0,440	0,348	0,791

Letras iguais correspondem a médias iguais segundo teste de Tukey ($P < 0,05$)

DP= Desvio Padrão; CV= Coeficiente de variação.

Discussão

De acordo com a Figura 1, a fermentação alcoólica sofreu uma parada fermentativa, quando atingiu valores entre 5 e 6 °Brix. A fermentação alcoólica é o fenômeno responsável pela transformação do açúcar em álcool. Portanto, durante a fermentação alcoólica, o °Brix decresce até atingir valor zero, quando praticamente todo o açúcar é transformado em etanol.

Uma parada de fermentação pode resultar num baixo grau alcoólico (°GL) e elevados teores de açúcar residual. Uma das principais hipóteses, para explicar este comportamento, seria o tempo de maceração, de 6 dias, excessivamente longo, evidenciado pelo acúmulo de sedimento no fundo do recipiente. O sedimento formado, também denominado borra, pode ter arrastado nutrientes e leveduras, necessários para que a fermentação alcoólica atingisse o seu término.

Segundo Ide; Rizzon; Daudt (1993), uma maceração prolongada resulta numa extração mais acen-

tuada dos compostos fenólicos, e estes, por sua vez, podem interferir no processo fermentativo, inibindo o desdobramento das últimas gramas de açúcar. Fato este que talvez possa explicar a parada na fermentação alcoólica observada, indicando que o tempo de maceração de seis dias, adotado no experimento, tenha sido excessivamente longo.

As fermentações foram repetidas, seguindo os mesmos parâmetros estabelecidos, visando verificar a exatidão dos resultados. Cabe ressaltar que o uso da enzima pectinase provavelmente não tenha sido a principal causa da parada de fermentação, uma vez que ambos os tratamentos, controle e com adição de enzima, tiveram o mesmo comportamento.

Avaliando os resultados obtidos para a densidade (Tabela 1), observa-se que os mesmos se situam dentro dos valores citados por Aquarone et al., (2001), inferior a 1,000 g/mL⁻¹. Valores superiores podem indicar uma aguagem do vinho, considerada uma fraude pela Legislação Brasileira.

Para a acidez total, os valores se mantiveram dentro do intervalo estipulado pela literatura, que é de 55 a 130 meq/L⁻¹, com exceção do tratamento T3, que apresentou uma acidez total de 132,25 meq/L⁻¹. De acordo com Ide; Rizzon; Daudt (1993), a presença da parte sólida da uva, por tempo prolongado, favorece a combinação do anidrido sulfuroso, reduzindo o efeito anti-séptico, podendo aumentar a acidez. Já para a acidez volátil, os valores encontrados ficaram abaixo dos parâmetros estabelecidos pela Legislação Brasileira vigente (máximo de 20 meq/L⁻¹).

Com relação ao pH (Tabela 1), constatou-se um aumento do seu valor nos vinhos tratados com a enzima pectinase, quando comparados ao vinho adotado como testemunha. Esse aumento se deve, provavelmente, à precipitação do ácido tartárico, formado em consequência do aumento do teor de potássio, levado pela ação da enzima pectinase e da maceração prolongada.

Os teores de anidrido sulfuroso livre (Tabela 1) permaneceram acima dos valores estabelecidos pela literatura. Segundo Aquarone (2001), o anidrido sulfuroso é de fundamental importância na elaboração de vinhos, sendo empregado em todos os estabelecimentos vinícolas. Sua utilização é legal e, nas doses recomendadas, não causa danos à saúde humana.

O anidrido sulfuroso é comumente empregado, por apresentar: ação seletiva sobre as leveduras; ação anti-oxidante; ação anti-oxidásica; ação reguladora da temperatura e ação clarificante. Atua ainda como conservante, inibindo o desenvolvimento das bactérias responsáveis pelo avinagramento dos vinhos, contribuindo para manter baixos os níveis de acidez volátil.

Por outro lado, um baixo teor de anidrido sulfuroso torna o vinho num meio propício ao desenvolvimento de leveduras, e bactérias favorecendo uma fermentação na garrafa. Estas interferem na qualidade do produto, por causar turvação e conseqüente depósito no fundo das garrafas, prejudicando o aspecto visual (VANDERLINDE; BENEDET, 1995). Os elevados teores de anidrido sulfuroso livre podem ter sido o principal fator responsável pela parada na fermentação alcoólica, observada na figura 1.

Os valores de polifenóis totais, mostrados na Figura 2, estão dentro do intervalo citado por Ide; Rizzon; Daudt (1993): 10,8 a 25,3 para vinhos elaborados com a cultivar Isabel, uma uva tinta. Também estão em concordância com os valores citados por Rizzon; Miele; Meneguzzo (2000): valor médio de 24,3 para o vinho da mesma variedade.

Entretanto, a variedade de uva cultivar Niágara Rosada, é uma uva que apresenta baixos teores de polifenóis totais e taninos, sendo esperado valores abaixo dos encontrados para vinhos tintos. Outro valor que se mostrou contrário ao esperado, foi o teor de polifenóis totais no tratamento adotado como testemunha (15,90), superior aos demais valores encontrados nos vinhos tratados com a enzima pectinase.

Para os taninos, apenas o tratamento T2, com

2,5g de enzima pectinase/100 kg de uva, mostrou um aumento significativo. Ide; Rizzon; Daudt (1993) apresentam valores de até 3,0g/L⁻¹ de taninos em vinhos franceses, abaixo dos valores descritos na Figura 3. Os dois fatores que talvez possam ter contribuído, foram o uso da enzima pectinase e o tempo de maceração prolongado.

As antocianinas tiveram um aumento significativo no tratamento T3, com 7,5 g de enzima pectinase para cada 100 kg de uva (Figura 4). Este valor se deve, provavelmente, ao aumento da diluição das antocianinas, provocada pela ação da enzima pectinase e maceração por tempo prolongado.

O Índice 420, responsável pela detecção da cor castanho ou marrom, foi significativamente superior no tratamento adotado como testemunha, sem o uso da enzima pectinase (Tabela 2). Isto pode ser comprovado pela coloração levemente marrom do vinho. Este resultado se deve ainda, pela menor extração da coloração vermelha da película da uva.

Entre as vinificações tratadas com enzima pectinase, o menor valor encontrado para o Índice 420 foi no tratamento T3, com 5,0 g/100 kg de uva. Gump; Halght (1995) encontraram valores entre 0,117 e 126 para a variedade Isabel, sem a adição de enzima e valores superiores a estes, quando tratada com diferentes enzimas.

O Índice 520, que mede a cor vermelha do vinho, mostrou-se significativamente inferior nos tratamentos T3 e T4, em que foram aplicadas 5,0 e 7,5 g/100 kg de uva, respectivamente. Esta redução se deve à grande formação de sedimento, resultando com isso na absorção da matéria corante para a parte sólida da uva (Tabela 2).

A Intensidade de cor (I 420 + I 520) foi significativamente superior no vinho sem enzima pectinase (Tabela 2). Já a diminuição dos valores da coloração (I 420/I 520), observada na Tabela 2, corresponde a um aumento mais acentuado do I 520, que mede a cor vermelha, em relação ao I 420 que mede a cor marrom dos vinhos. Isto em decorrência da maior solubilidade das antocianinas em relação aos taninos (IDE; RIZZON; DAUDT apud GNEEKOW; OUGH, 1976).

Segundo Ducruet (2002), o aumento da coloração de um vinho é devido ao aumento das concentrações de antocianina e de taninos. Entretanto, quando comparadas à coloração com os teores de antocianina e taninos, observou-se efeito contrário, o que pode ser explicado pela formação excessiva de sedimento ou borra, arrastando consigo estes compostos.

Conclusão

O uso da enzima pectinase em conjunto com um tempo adequado de maceração, pode resultar num vinho da variedade Niágara Rosada de coloração mais intensa. A enzima pectinase favoreceu a difusão dos compostos fenólicos da película para o vinho. A con-

centração de 5,0 g por 100 kg de uva foi a que se mostrou mais adequada para a uva variedade Niágara Rosada, resultando num vinho de qualidade semelhante ao tratado com 7,5 g por 100 kg de uva.

As deficiências de intensidade de cor do vinho Niágara Rosada podem ser melhoradas após se estabelecer o sistema de vinificação que concilie dosagem correta da enzima pectinase com o tempo de maceração, visto que esta variedade de uva tem grande abrangência no município de Toledo e região.

Referências

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Analisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acribia, 1988. 158 p.

AQUARONE, E. et al. **Biotechnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: E. Blücher, 2001. p. 21-67.

CATALUÑA, E. **As uvas e os vinhos**. São Paulo: Globo, 1988. 215 p.

CURVELO-GARCIA, S. A. **Controlo de qualidade dos vinhos: química enológica métodos analíticos**. Lisboa: Instituto da Vinha e do Vinho. 1988. 420 p.

DUCRUET, J.; GLORIES, Y. Use of enzymes for grapes and red wines. **Vignevini**. 2002, 29: 5, p. 44-47.

GUMP, B. H.; HALGHT, K. G. A preliminary study of industrial enzyme preparations for color extration/stability in red wines. **CALIFORNIA AGRICULTURAL TECHNOLOGY INSTITUTE - CATI**. Publication, Sept. 1995.

IDE, G. M.; RIZZON, L. A.; DAUDT, C. E. Influência do tempo de maceração do vinho Isabel e merlot. **Bol. SBCTA**, n. 27, v. 2, p. 88-95, jul./dez 1993.

MAMEDE, M. E. O.; PASTORE, G. M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. **B. CEPPA**, Curitiba. v. 22, n. 2, jul./dez. 2004.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para elaboração de vinho tinto. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. Campinas, v. 20, n.1, p. 115-121, jan./abr. 2000.

VANDERLINDE, R.; BENEDETT, H. D. Controle analítico dos vinhos de diversas variedades produzidos numa indústria vinícola do Rio Grande do sul. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 13, n. 1 p. 7-12, jan./jun. 1995.

WATERHOUSE, A. L. Wine phenolics. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 957, p. 21-36, 2002.

VOGT, E. et. al. **El vino: obtencion, elaboración y analisis**. 9. ed. Zaragoza: Acribia, 1986. 294 p.

Recebido em: 19/07/2007

Aceito em: 08/07/2008

Received on: 19/07/2007

Accepted on: 08/07/2008