

IMPLICAÇÕES DA UTILIZAÇÃO DE BENTONITES SOBRE A FRACÇÃO MINERAL DE VINHOS: POTÁSSIO, SÓDIO, CÁLCIO, ALUMÍNIO E CHUMBO. EFEITO DO pH

INFLUENCE OF BENTONITES ON MINERAL COMPOSITION OF WINE: POTASSIUM, SODIUM, CALCIUM, ALUMINIUM, and LEAD. pH EFFECT.

Sofia Catarino^{1,2}, José Soares^{1,3}, A.S. Curvelo-Garcia¹, R. Bruno de Sousa²

¹ INIAP. Estação Vitivinícola Nacional. 2565-191 Dois Portos. Portugal. E-mail: inia.evn@oninet.pt

² Instituto Superior de Agronomia – Departamento de Química Agrícola e Ambiental. Tapada da Ajuda. 1349-017 Lisboa. Portugal. E-mail: brunosousa@isa.utl.pt

³ Estagiário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

(Manuscrito recebido em 20.04.04. Aceite para publicação em 28.06.04.)

RESUMO

A bentonite é um produto enológico com vasta aplicação na clarificação e estabilização proteica de mostos e vinhos brancos, representando um risco não negligenciável de introdução de contaminação mineral, com possíveis implicações ao nível da sua qualidade higiénica, organoléptica e legal. O conhecimento dos fenómenos de extracção e cedência de elementos minerais para o meio, e dos factores com influência nesses fenómenos, é fundamental para prevenir a ocorrência dessas contaminações.

No presente artigo, são apresentados resultados parcelares de um estudo envolvendo ensaios de extracção com 6 bentonites, em solução de ácido tartárico e em vinhos, sendo investigada a influência do pH do meio nos fenómenos de extracção e cedência de elementos minerais. A avaliação da fracção mineral, envolvendo o doseamento de mais de 50 elementos, maioritários, minoritários, vestigiais e subvestigiais, foi realizada com recurso às técnicas analíticas de FAAS, GFAAS e ICP-MS.

Os resultados encontrados não podem ser directamente extrapolados no que respeita à quantidade de elemento cedida ou retirada ao vinho, dado terem sido obtidos em condições experimentais específicas. Verificaram-se enriquecimentos nos teores de Na, Ca, Al e diminuição do teor de K. De acordo com a bentonite aplicada, ocorreram aumentos e decréscimos no teor de Pb. O pH exerce efeito significativo na cedência de Ca (aumentando com o pH), Al e Pb (diminuindo com o pH), não afectando a cedência de K e Na (no intervalo de pH 2,9 a 3,6). As características físico-químicas das bentonites utilizadas são um factor determinante, tendo-se observado grande variabilidade de comportamento e nas quantidades cedidas, nas mesmas condições experimentais.

Palavras-chave: vinho, bentonites, pH, K, Ca, Na, Al, Pb

Key words: wine, bentonites, pH, K, Ca, Na, Al, Pb

INTRODUÇÃO

A bentonite é um produto enológico com vasta aplicação na clarificação e estabilização proteica de mostos e vinhos brancos, representando um risco não negligenciável de introdução de contaminação mineral, com possíveis implicações ao nível da sua qualidade higiénica, organoléptica e legal. O conhecimento dos fenómenos de extracção e cedência de elementos minerais para o meio, e dos factores com influência nesses fenómenos, é fundamental para prevenir a ocorrência dessas contaminações.

Propriedades das bentonites

As bentonites são silicatos de alumínio hidratados, pertencentes ao grupo das montmorilonites, podendo também conter algum caulino, gesso e quartzo (Lipka, 1974). A estrutura mais geralmente admitida para a montmorilonite é composta por duas camadas tetraédricas de sílica e uma camada octaédrica de alumina, combinadas numa unidade estrutural. As unidades adjacentes confrontam-se por átomos de oxigénio, o que resulta em ligações fracas entre as unidades. Daqui resulta, por um lado, clivagem muito fácil e, por outro, a possibilidade de acesso de moléculas de água que se dispõem em várias camadas, outras moléculas polares e iões, entre unidades adjacentes. As posições octaédricas só em parte são ocupadas por Al^{3+} que em maior ou menor escala pode estar substituído por Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} ou outros catiões. As cargas negativas, resultantes destas substituições, são neutralizadas por iões que se alojam nos espaços interfoliares e na superfície externa das partículas argilosas (Botelho da Costa, 1985). Esses catiões são de natureza diversa: Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} e, com menor importância, Fe^{2+} e K^+ (Marchal *et al.*, 1995). A fórmula bruta das montmorilonites é a seguinte (OIV, 1998):



com:

R = Mg, Fe, Mn, Zn, Ni

Ct (catiões de troca) = Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+}

No decorrer da sua formação, as bentonites entram em contacto com o Na, Ca ou Mg, de acordo com o jazigo mineral. Os teores de CaO são da ordem de 0,3 a 6%, de Na_2O de 0,5 a 3% e de MgO de 0,4 a 4%. As bentonites coloridas contêm também FeO e Fe_2O_3 (Lipka, 1974).

Em função da natureza do catião de troca, existem no estado natural bentonites sódicas, cálcicas e magnesianas. As primeiras, quase exclusivamente provenientes dos Estados Unidos, apresentam um forte poder de hidratação e de adsorção. As bentonites cálcicas são originárias principalmente da Europa e do Norte de África, apresentando um fraco poder de hidratação e de adsorção. Com o objectivo de melhorar as propriedades de adsorção das bentonites cálcicas, estas são frequentemente sujeitas a um tratamento de activação com carbonato de sódio. Desta forma, é possível obter bentonites cálcicas activadas, cujas propriedades são equivalentes ou superiores às das bentonites sódicas.

A montmorilonite, para além de possuir carga eléctrica, caracteriza-se ainda pelo seu poder de retenção para a água e expansibilidade elevadas (Botelho da Costa, 1985). A fácil acessibilidade a moléculas de água (assim como a iões) do espaço compreendido entre unidades estruturais faz que, em adição à superfície externa da partícula, existam superfícies internas de apreciável extensão. À medida que incha, as folhas afastam-se e a superfície activa, assim como o seu poder de clarificação aumenta consideravelmente. Assim, a bentonite forma, em água pura, uma suspensão coloidal e comporta-se em soluções diluídas, tais como o vinho, como um colóide electronegativo que flocula, e precipita, arrastando certos colóides naturais de carga eléctrica contrária (Lipka, 1974). É, por isso, utilizada em operações de clarificação ou de estabilização proteica de mostos e vinhos, fixando proteínas instáveis, permitindo assim a sua eliminação, tendo ainda a capacidade de fixar matéria corante e, de modo indirecto, diminuir o risco de ocorrência de casse cúprica (Peynaud, 1996). A adsorção das proteínas pode ser afectada pela competição de catiões em solução, nomeadamente K^+ , Ca^{2+} , Na^+ e Mg^{2+} , bem como de outras espécies químicas com carga positiva (Blade e Boulton, 1988). O pH da matriz, ao alterar a conformação espacial e a carga eléctrica das proteínas, interfere no processo de adsorção, podendo igualmente influenciar a capacidade de troca da bentonite (Blade e Boulton, 1988).

Efeito das bentonites na composição mineral do vinho

A bentonite actua como um permutador de iões, embora de capacidade de troca relativamente fraca, representando o maior risco de introdução de contaminação mineral nos vinhos (Jakubowski *et al.*, 1999). De facto, quando uma bentonite é incorporada num mosto ou vinho branco, assiste-se a uma troca entre os seus catiões compensadores e as proteínas do vinho (Marchal *et al.*, 2002).

Foram relatados aumentos no teor de vários elementos em resultado do tratamento com este produto enológico: Na (podendo atingir 20 mg/L), Ca, Mg, Al (3 a 8 vezes após o tratamento com 1 g/L de bentonite), Fe (1 a 5 mg/

L), Mn, Cr e Pb (Lipka, 1974; Danilatos, 1979; Ribereau-Gayon *et al.*, 1982; Postel *et al.*, 1986; Enkelmann, 1988; Wurzinger *et al.*, 1994a; Machado-Nunes *et al.*, 1998) e lantanídeos (La, Ce, Pr, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu) (Jakubowski *et al.*, 1999). Os iões assim libertados aumentam o teor de ácidos salificados.

Paralelamente, são referidos decréscimos nos teores de K e de Cu (Lemperle *et al.*, 1988, Machado-Nunes *et al.*, 1998). Provavelmente, o Cu que se encontra na forma coloidal, em parte, ligado às proteínas do vinho, é eliminado juntamente com estas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982). Alguns autores apresentam resultados não concordantes, muito provavelmente devido à aplicação de condições experimentais diferentes: Postel *et al.* (1986) referem a manutenção dos teores de Zn, Cu, Sn e Cd; Enkelmann (1988) observou aumentos insignificantes de Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Cd e Hg.

Por outro lado, a etapa do processo tecnológico em que é aplicada a bentonite é importante. A sua aplicação, aquando da fermentação, parece conduzir a vinhos com teores de Na, Mg, Fe e Ca mais elevados (Wurzinger *et al.*, 1994a; Gossinger *et al.*, 1997).

A solubilidade, e consequentemente a cedência de elementos minerais, das bentonites depende do tipo de solução ácida, sendo a solução de ácido tartárico a mais adequada para ensaios de extracção (Wurzinger *et al.*, 1994b).

A previsão do efeito da aplicação de uma bentonite implica o conhecimento quantitativo dos equilíbrios químicos e físico-químicos intervenientes. O trabalho que se apresenta de seguida é parte integrante de um estudo mais vasto, e pretende ser um contributo para o aumento do conhecimento sobre os fenómenos de extracção e cedência de elementos minerais para o meio, e dos factores com influência nesses fenómenos.

MATERIAL E MÉTODOS

Bentonites

Com o objectivo de se obter um conjunto o mais diversificado possível de bentonites, foram consultadas as principais empresas fornecedoras a operar no mercado português, tendo sido seleccionadas 6 bentonites, com base na sua natureza e forma de apresentação (Quadro I).

Soluções de extracção

Vinhos - Foi utilizado um vinho branco de 2001 (Testemunha), a partir do qual se prepararam três lotes (A, B e C), com diferentes valores de pH (2,94; 3,32

Quadro I

Caracterização das bentonites estudadas

Characterization of bentonites

Bentonites	Classificação	Cor	Apresentação
B1	cálcica activada	bege	pó fino
B3	sódica	branco marfim	granular
B4	sódica activada	cinzento-branco	granular
B5	cálcica activada	cinzento	pó
B8	sódica	branco	filamentos alongados
B9	sódica	cinzento	granular

e 3,58, respectivamente). No tratamento de acidificação (lotes A e B), foi adicionado ácido tartárico (3,20 g/L no lote A e 0,55 g/L no lote B). Para desacidificação (lote C), aplicou-se carbonato de cálcio (0,8 g/L ao lote C). As amostras foram retiradas do vinho testemunha e colocadas em recipiente de capacidade de cerca de 20 L. As amostras foram acidificadas e desacidificadas, tendo em conta os valores de pH pretendidos, diluindo os produtos em pequenas quantidades de amostra que foram posteriormente adicionadas com agitação. Verificaram-se os valores de pH. As amostras foram então colocadas em garrações de vidro de 20 L, e utilizadas nos ensaios de extracção após estabilização do valor de pH.

Solução de ácido tartárico - Solução de ácido tartárico a 5 g/L, ajustada a pH = 3,0 com uma solução de NaOH 10N.

Ensaio de extracção

Num balão *Erlenmeyer* (PP), com 200 mL de vinho (ou solução de ácido tartárico), adicionou-se “em chuva” **p** g de bentonite contendo 5 g de bentonite anidra na solução em agitação (com a ajuda de um *Vortex*). Uma vez terminada a adição, os balões foram mantidos em agitação durante 15 min. Após 24 horas em repouso, as amostras foram centrifugadas (12 000 rpm, 30 min). Foi utilizado unicamente material plástico (balões de *Erlenmeyer*, vasos de centrifugação, copos de pesagem, colheres), após descontaminação por imersão em solução de HNO₃ (20% v/v), durante 24 horas.

Cada modalidade de extracção foi realizada em triplicado, pelo que no final

se obtiveram 84 extractos: (6 bentonites + testemunha) × (3 vinhos + solução de ácido tartárico) × 3 réplicas.

A dose de bentonite utilizada nas extracções (25 g/L) foi bastante superior à(s) dose(s) recomendada(s) para tratamento de vinhos (0,10 a 0,15 g/L, de acordo com a bentonite), permitindo aumentar a dimensão e consequentemente a visibilidade dos fenómenos de extracção e cedência de elementos minerais.

Ainda assim, a dose aplicada é inferior à indicada pelo OIV (50 g/L) para realização de ensaios de extracção com solução de ácido cítrico, com vista ao controlo da qualidade da própria bentonite (OIV, 1998).

Análise da fracção mineral

A análise da fracção mineral consistiu no doseamento de mais de 50 elementos (maioritários, minoritários, vestigiais e sub-vestigiais), com recurso a várias técnicas analíticas (Quadro II).

Quadro II

Técnicas analíticas e elementos minerais doseados
Analytical techniques and minerals analysed

<i>FAAS</i>	K, Ca, Na, Mg, Fe
<i>GFAAS</i>	Al Li, Be, B, Sc, Ti, V, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Rb, Sr, Y, Zr,
<i>ICP-MS</i>	Nb, Mo, Pd, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Pt, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U

Os elementos K, Na, Ca, Fe e Mg foram doseados por *FAAS* (Flame Atomic Absorption Spectrometry), segundo métodos descritos em Normas Portuguesas (CT83, 1991; CT83, 1990; CT83, 1993; CT83, 1988, respectivamente). O Mg foi igualmente doseado por *FAAS*, com recurso ao método descrito no Regulamento CEE (CEE, 1990). Foi utilizado um espectrofotómetro de absorção atómica com chama *Varian SpectrAA-20*, equipado com queimador de ar-acetileno e lâmpadas monoelemento de cátodo oco.

O Al foi doseamento por *GFAAS* (Graphite Furnace Atomic Absorption), segundo o método por nós descrito (Catarino *et al.*, 2002), com recurso a um espectrofotómetro de absorção atómica com câmara de grafite *Perkin-Elmer 4110 ZL* (Perkin-Elmer, Norwalk, CT), com efeito de Zeeman para correcção do ruído de fundo, equipado com autoamostrador AS-72 e lâmpada de cátodo oco, *software* de aplicação *AAWinlab 2.5*.

Os restantes elementos foram doseados por *ICP-MS* (Inductively Coupled

Plasma – Mass Spectrometry), num equipamento *Perkin-Elmer Elan 9000* (Perkin Elmer, Norwalk, CT), com nebulizador *cross-flow*, câmara de nebulização (Scot) de Ryton, cones de níquel e bomba peristáltica de 4 canais *Gilson*, para introdução da amostra. Foi utilizado um autoamostrador *Perkin-Elmer AS-93 Plus*, protegido por uma câmara de fluxo laminar classe 100 (Reinraumtechnik Max Petek). *Software* de aplicação *Elan -6100 Windows NT 2.4*. (Augagneur, 1996; Almeida, 2002).

As condições operatórias foram optimizadas usando uma solução aquosa contendo 10 µg/L de Mg, Cu, Rh, Cd, In, Ba, Ce, Pb e U, e monitorizando as intensidades dos isótopos ^{24}Mg , ^{103}Rh , ^{115}In , ^{138}Ba , ^{140}Ce e ^{208}Pb , assim como as intensidades das massas 156 (correspondente a $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$), massa 69 (correspondente a $^{138}\text{Ba}^{2+}$) e massa 220 (ruído de fundo). As condições escolhidas resultaram do compromisso entre o sinal mais elevado para a massa ^{103}Rh , a percentagem mais baixa de iões de carga dupla ($\text{Ba}^{2+}/\text{Ba}^+ = 2\%$) e a formação de óxidos ($\text{CeO}^+/\text{Ce}^+ = 3\%$), precisão melhor que 2% (CV) e ruído de fundo inferior a 30 cps (massa 220). A optimização do sistema *autolens* foi realizada com uma solução a 10 µg/L de Be, Co e In, e a calibração do *Dual Detector* com uma solução a 200 µg/L de mais de 20 elementos.

Foi utilizado um método semiquantitativo (Perkin-Elmer TotalQuant III), obtendo-se espectros de massas completos ($m/z = 6-240$, omitindo as massas 16-18, 40, 41, 211-229). Esta metodologia permite a determinação de cerca de 80 elementos, com um erro inferior a 20%, na maioria dos casos (Perkin Elmer, 2001). O *software* de aplicação para análise semiquantitativa inclui uma tabela de referência de resposta para os diferentes elementos, a qual foi actualizada com uma solução padrão multielemento. Como padrões internos foram utilizados o Rh e o Re (10 µg/L), de modo a eliminar discrepâncias de matriz e alguma deriva que ocorra durante a análise. As soluções de extracção foram diluídas dez vezes antes da sua análise. Procedeu-se à leitura de uma solução branco (HNO_3 1% v/v) antes da calibração. A calibração foi realizada com uma solução multielemento (*PerkinElmer*) a 10 µg/L de Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, Li, Mn, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn). Entre a leitura de amostras ou de solução padrão, o sistema de amostragem foi lavado com HNO_3 (2% v/v) e 200 µg/L de Au (para eliminar o efeito de memória do Hg e do U na câmara de nebulização), durante 90 s. O tempo de leitura foi optimizado de modo a obter-se a melhor precisão dos resultados. A velocidade da bomba peristáltica foi constante de modo a proporcionar maior estabilidade do plasma. Os parâmetros operacionais são apresentados no Quadro III. Foi utilizado HNO_3 ultrapuro (*J.T.Baker*) e água desionizada (*Seralpur Pro 90 CN*). Foram utilizados apenas materiais plásticos, após descontaminação por imersão em solução de HNO_3 (20% v/v), durante pelo menos 24 horas.

Quadro III

Condições operatórias do equipamento de ICP-MS: método semiquantitativo

Operational conditions of ICP-MS instrument: semiquantitative method

ICP RF	1200 W
Fluxo de argon (nebulizador)	0,91 L/min
<i>Autolens</i>	Valores DAC: 6,0 (Be); 6,5 (Co); 7,5 (In); 9,0 (U)
Fluxo da amostra	0,92 mL/min
MS - parâmetros de aquisição:	
<i>Dwell time (ms)</i>	50
<i>Sweeps/reading</i>	6
Réplicas	1
Tempo por corrida (s)	65
<i>Scan mode</i>	<i>Peak hopping</i>
<i>MCA channels for peak</i>	1
Detector	Dual (pulso e analógico)
<i>Dead time (ns)</i>	60

Numa fase inicial de desenvolvimento do método, foram avaliadas a precisão (10 réplicas) e exactidão (3 níveis de adição), calculando-se a média e o desvio padrão das recuperações obtidas. Algumas amostras foram também analisadas por outras técnicas de modo a validar os resultados: o Pb foi doseado em 8 soluções de extracção por GFAAS (Catarino, 2000).

Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados consistiu na análise de variância, realizada no programa *Statistica 98 Edition (Kerner release 5.1)*. O delineamento experimental utilizado foi um modelo factorial com 2 factores - solução de extracção (4 níveis: testemunha, vinho A, vinho B e vinho C) e bentonite (7 níveis: testemunha, B1, B3, B4, B5, B8, B9), com 3 réplicas, equilibrado e com interacção.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram obtidos em condições experimentais específicas e diversas das situações reais de tratamento de vinhos, pelo que não são directamente extrapoláveis no que respeita às quantidades de elemento(s) cedidas ou retiradas. Os resultados da análise de variância, relativos aos elementos K, Ca, Na, Al e Pb, são apresentados no Quadro IV.

Potássio - Desde logo, o principal aspecto a salientar é o decréscimo generalizado do teor de K com a aplicação das bentonites (Quadro IV e Fig. 1). Esse decréscimo atinge, no caso da B1, cerca de 300 mg/L. Verifica-se um

Quadro IV

Efeito das bentonites e do pH nos teores de K, Ca, Na, Al e Pb das soluções de extração.

Bentonites and pH effects on K, Ca, Na, Al, Pb contents of extraction solutions

	K (mg/L)	Ca (mg/L)	Na (mg/L)	Al (mg/L)	Pb (µg/L)
Efeito pH	**	**	<i>n.s.</i>	**	**
Vinho A	491,4a	157,5a	421,9	14,383c	33,55c
Vinho B	762,0b	154,7a	419,9	13,163b	25,24b
Vinho C	783,9c	252,4b	428,2	12,229a	15,79a
Efeito bentonite	**	**	**	**	**
Testemunha	865,3f	92,9a	90,2a	1,223a	21,49c
B1	563,6a	313,2f	419,8c	15,107c	26,25d
B3	694,7e	175,8d	490,8d	14,394c	20,27c
B4	682,3d,e	163,1c	517,1e	12,017b	17,35b
B5	627,3b	268,9e	525,1e	12,725b	8,01a
B8	672,9d	143,3b	524,5e	20,988e	16,55b
B9	647,6c	159,8c	395,8b	16,355d	64,08e
Interação pH-bentonite	**	**	<i>n.s.</i>	**	**

*Efeito pH: média de 21 valores; Efeito bentonite: média de 9 valores; Os valores médios seguidos de letra igual em cada coluna, para cada um dos efeitos estudados, não são significativamente diferentes a um nível de significância de 0,05; n.s.- diferença não significativa; * - efeito significativo a um nível de significância de 0,05; ** - efeito significativo a um nível de significância de 0,01.*

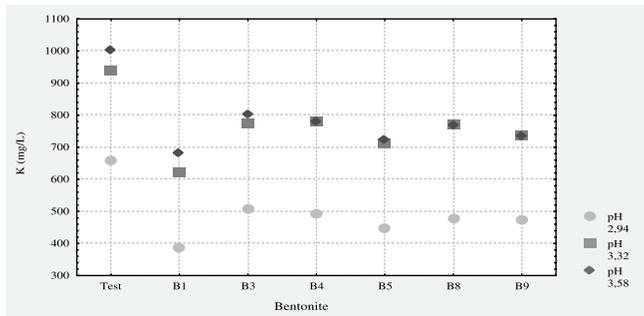


Fig. 1 - K: interação pH-bentonite

K: pH-bentonite interaction

$$F(12,41) = 5,70; p < 0,0000$$

efeito muito significativo do factor bentonite, assim como do factor pH, com interação entre os dois factores, ou seja: não é possível afirmar qual o nível de pH a que ocorre maior decréscimo, sem fixarmos à partida a bentonite a que nos referimos. Os 3 níveis de pH formam grupos significativamente diferentes entre si, em grande parte devido às diferenças entre os vinhos testemunhas. Muito provavelmente a diferença entre os níveis B e C pode ser explicada pelas diferenças entre vinhos testemunha e vinhos em que se aplicou a bentonite B1. As diferenças de teor entre as testemunhas são explicadas,

com grande probabilidade, pelos tratamentos de acidificação efectuados: o ião K^+ neutraliza a carga negativa do ácido tartárico, precipitando sob a forma de bitartarato de potássio. Face às diferenças de teores apresentados pelas testemunhas, o que poderia alterar os resultados, procedeu-se à análise de variância não dos teores médios das soluções de extracção, mas sim das variações de teor em relação à testemunha respectiva. Comprovou-se que há efeito significativo de pH, bentonite, e interacção entre os dois factores. Comparando a variação do teor provocada pela(s) bentonite(s), observa-se que o decréscimo aumenta com o pH, provavelmente devido ao ponto isoeléctrico das proteínas. Para as bentonites B4, B5, B8 e B9 não se observam diferenças significativas entre as modalidades de pH B e C. As bentonites B8 e B4 formam um grupo homogéneo, bem como a B4 com a B3. Parece assim que as bentonites, ao retirar K do meio, estão a contribuir para a estabilização tartárica.

Sódio – As soluções de extracção das bentonites apresentam um teor em Na bastante superior ao das respectivas testemunhas, em alguns casos cerca de 400 mg/L mais elevado (Quadro IV e Fig. 2). Para as bentonites estudadas, o pH não tem efeito significativo na cedência de Na ao vinho. Verifica-se que o outro factor em estudo (a bentonite) exerce efeito muito significativo. A bentonite que cede menor quantidade de Na é a B9, seguida de B1 e B3. As bentonites que mais contribuem para o teor de Na são a B4, B5 e B8, não apresentando diferenças significativas entre si.

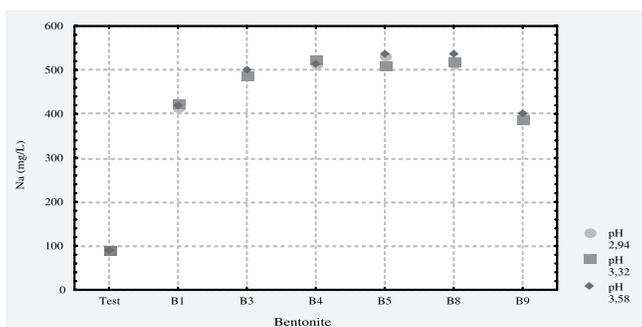


Fig. 2 - Na: interacção pH-bentonite

Na: pH-bentonite interaction

$$F(12,41) = 1,09; p < 0,3926$$

Apesar de a quantidade de bentonite utilizada nas extracções exceder em muito a(s) dose(s) reais de aplicação, a possibilidade real de enriquecimento não deve ser ignorada. Muito embora esse enriquecimento não tenha implicações ao nível da qualidade higiénica do vinho, nem se conheçam fenómenos de

instabilidade físico-química em que participe, pode conduzir a dificuldades no cumprimento da legislação no que respeita ao teor de Na excedentário (OIV, 1986).

Cálcio – Verifica-se um efeito muito significativo do pH e da bentonite na cedência de Ca aos vinhos, com interação entre os dois factores (Quadro IV e Fig. 3). A bentonite B1 é aquela que cede maior quantidade, aumentando com o pH, seguida da B5 que apresenta o mesmo comportamento. Estes resultados eram expectáveis tratando-se de bentonites cálcicas. A B8 é aquela que menor quantidade cede, com a seguinte particularidade: há cedência aos pH A e C, sendo maior neste último, contudo, ao nível de pH B não há cedência significativa. No caso da B3, a cedência menor verifica-se ao nível de pH B e a maior ao nível de pH C. Também no caso da B4 a cedência menor ocorre ao nível de pH B, não existindo diferenças significativas entre os níveis de pH A e B. A quantidade de Ca cedida pela B9 não é afectada pelo pH. Estas particularidades de comportamento, explicam que a média do teor do Ca ao nível de pH A não difira significativamente do nível B, sendo que é ao nível de pH C que se observam as médias mais altas. As bentonites B4 e B9 formam um grupo homogéneo.

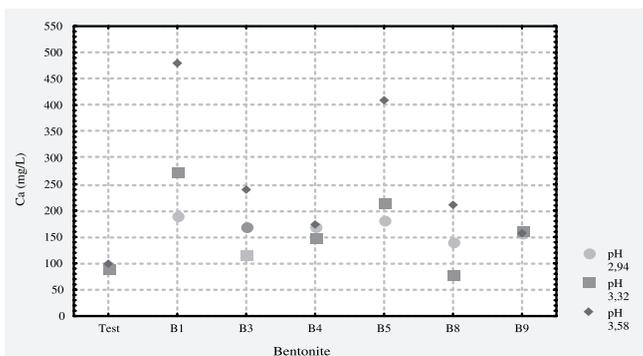


Fig. 3 - Ca: interação pH-bentonite

Ca: *pH-bentonite interaction*

$F(12,41) = 84,99; p < 0,0000$

Em alguns casos verificam-se aumentos superiores a 200 mg/L. De salientar que teores de cálcio superiores a 60 mg/L nos vinhos tintos e a 80 mg/L nos vinhos brancos, poderão originar perturbações na sua estabilidade, devido à precipitação deste elemento sob a forma de tartarato de cálcio.

Alumínio - Verifica-se que ambos os factores em estudo (pH e bentonites),

têm um efeito muito significativo na cedência de Al ao vinho, e que existe interação entre eles (Quadro IV e Fig. 4). A aplicação de qualquer uma das 6 bentonites provoca um aumento significativo do teor de Al nos vinhos, atingindo 20 mg/L no seu máximo. A bentonite que mais Al cede é a B8 seguida da B9. Para as bentonites B3 e B8, as 3 modalidades de pH não apresentam diferenças significativas entre si, o que sugere a cedência de Al, nestas bentonites, não é condicionada pelo pH (aos níveis estudados). As bentonites B1 e B3 formam um grupo homogêneo, assim como a B4 e a B5. A cedência de Al é tanto maior quanto mais baixo o pH, havendo contudo interação pH-bentonite. No caso da B1, a cedência maior ocorre para o nível de pH B. O nível B de pH é aquele a que ocorre maior cedência para a bentonite B1 e menor cedência no caso da B9. As modalidades A.B9 e C.B9 formam um grupo homogêneo. O enriquecimento dos vinhos em Al pode originar aromas e sabores prejudiciais, problemas de estabilidade físico-química, e ainda de segurança alimentar devido à sua potencial toxicidade.

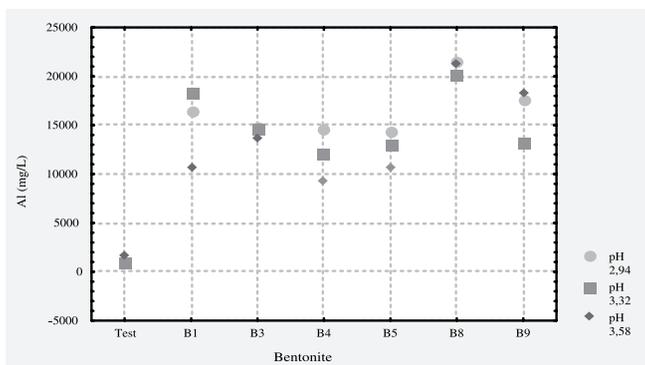


Fig. 4 - Al: interação pH-bentonite

Al: pH-bentonite interaction

$$F(12,41) = 11,72; p < 0,0000$$

Chumbo¹ - Verifica-se que há um efeito significativo do pH e da bentonite no teor de Pb dos vinhos, bem como uma interação entre os dois factores (Quadro IV e Fig. 5). A cedência é tanto maior quanto menor for o pH. As bentonites B1 e B9 provocam um aumento no teor de Pb, enquanto as bentonites B4, B5 e B8 provocam uma diminuição. A bentonite B3 não conduz a aumento ou diminuição significativa no teor de Pb. De realçar o enriquecimento bastante significativo causado pela bentonite B9, de 70 µg/L (superior a 90 µg/L, ao

⁽¹⁾Método semiquantitativo (ICP-MS): A recuperação média é de 98 ± 2 (%) e a precisão igual a 1% (CV). A diferença entre os teores quantificados, na mesma amostra, por ICP-MS e por GFAAS, é inferior a 8%, em todos os casos. Atendendo à exactidão do método, é um resultado bastante satisfatório.

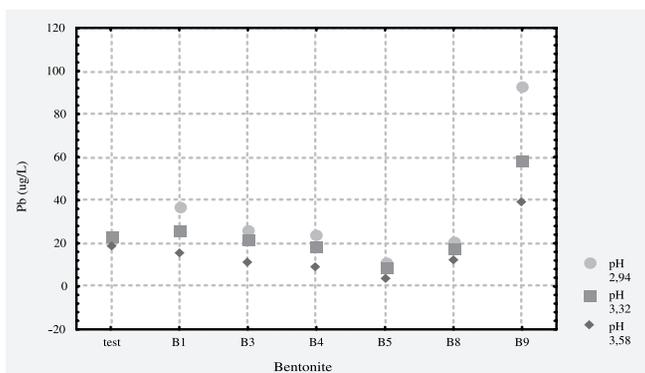


Fig. 5 - Pb: interação pH-bentonite

Pb: pH-bentonite interaction

$F(12,41) = 104,68; p < 0,0000$

nível de pH mais baixo). A bentonite B5 provocou uma diminuição de 15 µg/L. A explicação para os resultados diferenciados obtidos pela aplicação das diferentes bentonites, estando relacionada com as suas características físico-químicas, não é ainda clara. Torna-se imperativo realizar a análise conjunta dos resultados para vários elementos, pelo que futuramente serão apresentadas hipóteses explicativas.

A diferença de comportamento, em função da bentonite, reforça a importância de variabilidade destes produtos comerciais e, portanto, de serem acompanhados de informação técnica mais específica.

Devido aos importantes aspectos de saúde pública envolvidos com a presença de Pb nos vinhos, o OIV tem vindo a baixar os limites máximos: actualmente o limite é de 200 µg/L.

CONCLUSÕES

Conforme referido anteriormente, os resultados encontrados não são directamente extrapoláveis no que respeita à quantidade de elemento cedida ou retirada do vinho, dado terem sido obtidos em condições experimentais específicas, diferentes da prática enológica. Todas as bentonites estudadas provocaram um decréscimo no teor de K, maior ao nível de pH mais alto (3,6), corroborando resultados anteriores. Observou-se um aumento generalizado do teor de Na, sem que o pH exerça um efeito significativo nos fenómenos de cedência. Este aumento pode conduzir a dificuldades no cumprimento da legislação no que respeita ao teor de Na excedentário. Verificou-se um aumento do teor de Ca, com efeito significativo do nível de pH, da bentonite e da

interacção entre os dois factores. O enriquecimento foi maior nos vinhos com pH mais alto, com aplicação das bentonites cálcicas. Ocorreu um enriquecimento significativo em Al, maior ao nível de pH mais baixo (2,9), com interacção entre pH e bentonite. No que respeita ao teor de Pb, dependendo da bentonite aplicada, verificaram-se aumentos e decréscimos. O pH tem um efeito significativo, sendo a cedência maior ao nível de pH mais baixo.

Apesar de a quantidade de bentonite utilizada nas extracções ser bastante superior às doses recomendadas para tratamento de vinhos, a possibilidade real de enriquecimento em Na, Ca, Al e Pb, com implicações ao nível da sua qualidade higiénica, organoléptica, e legal, não deve ser ignorada.

Por último, é de destacar o papel determinante da bentonite nos fenómenos de cedência, tendo sido observados comportamentos diversos, pelo que os produtos comerciais deverão ser acompanhados de informação técnica específica, relativa às suas propriedades de extracção.

SUMMARY

Influence of bentonites on mineral composition of wine: potassium, sodium, calcium, aluminium, lead. pH effect

Bentonites are enological products widely utilised on clarification and proteic stabilization of musts and white wines. The risk of mineral contamination, associated with hygienic, sensory and legal quality of wines, should not be neglected. The knowledge of extraction and mineral elements release phenomena and influence factors are very important to prevent this contamination. The aim of the present work was to investigate the extraction phenomena, the nature of extraction solution and pH level. 6 different bentonites, in wine and tartaric acid solution, at 3 pH levels (2,9 to 3,6), were studied. The analysis of extraction solutions were realised by FAAS, GFAAS and ICP-MS. More than 50 mineral elements (major, minor and trace elements) were analysed. The results were obtained at specific experimental conditions, so, they should not be directly applied to wine, concerning the mineral contents. Bentonite-treated wines showed higher Ca, Na and Al contents, while K contents decreased. The influence of bentonite on Pb contents was very important: some bentonites increased this metal content, while others decreased it. The pH effect showed to be significant on Ca, Al and Pb releases: higher Ca contents were found at pH 3,6. On the other hand, Al and Pb extraction and release decreased with pH increase. Bentonite factor was determinative on mineral elements amounts released, depending on pH value.

RESUME

L'influence des bentonites dans la composition minérale des vins : potassium, sodium, calcium, aluminium, plomb. L'effet du pH

Les bentonites sont des produits œnologiques largement utilisés dans la stabilisation protéique et dans la clarification des moûts et des vins. Les risques des contaminations minérales ne doivent pas être minimisés, à cause de leurs implications sur la qualité des vins, sous les points de vue sensorielle, légal et de sécurité alimentaire. La connaissance des phénomènes concernant l'extraction des éléments minéraux et des facteurs influents est très importante pour éviter les contaminations. Dans cet article, on présente l'évaluation de l'influence des bentonites employées, de la nature de la solution d'extraction et du niveau du pH. On a étudié 6 différentes bentonites,

dans le vin et dans une solution d'acide tartrique, pour 3 niveaux de pH (2,9 à 3,6). Les analyses des solutions d'extraction ont été réalisées par FAAS, GFAAS et ICP-MS. On a analysé plus que 50 éléments minéraux. Les résultats trouvés ne pourront pas être directement extrapolés en ce qui concerne la quantité des éléments cédée ou retirée au vin, parce qu'ils ont été obtenus dans conditions différentes de la pratique œnologique. Pour les vins traités avec des bentonites, les teneurs de Ca, Na et Al sont plus élevées, tandis que la teneur de K est inférieure. L'influence sur la teneur en Pb est moins importante : quelques bentonites pourront conduire à une augmentation de cette teneur, tandis que des autres la pourront baisser. L'effet du pH est négligeable pour le Ca, Al et Pb; des valeurs plus élevées ont été trouvées pour le Ca à pH de 3,6. L'extraction de Al et Pb diminue avec l'augmentation du pH. Les caractéristiques physico-chimiques des bentonites sont déterminantes, avec des différences significatives pour l'extraction des différents éléments et pour l'influence du pH.

AGRADECIMENTOS

A investigação foi financiada pelo Programa de Apoio à Reforma das Instituições Públicas ou de Interesse Público de Investigação (PARIPIPI) – Projecto A.

Agradece-se a colaboração das empresas AEB, Ecofiltra, Meller & Essink, Proenol e Soeno no fornecimento de amostras de bentonites.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida C.M.R., 2002. *Isotopic and multi-element characterisation of wine for identification of lead contamination sources and of the provenance region*. Tese de doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Augagneur S., 1996. *Etude de la composition isotopique du plomb dans une serie seculaire de vins: mise en evidence de la pollution d'origine anthropique*. These pour obtenir le grade de docteur. Université de Bordeaux I.
- Blade W.H., Boulton R., 1988. Adsorption of protein by bentonite in a model wine solution, *American Journal of Enology and Viticulture*, **39** (3): 193-199.
- Botelho da Costa J., 1985. *Caracterização e constituição do solo*, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Catarino S., 2000. *A ocorrência de chumbo e cádmio em vinhos*. Tese de Mestrado em Enologia e Viticultura. Universidade do Porto.
- Catarino S., Curvelo-Garcia A.S., Bruno de Sousa R., 2002. Determination of aluminium in wine by graphite furnace AAS: Validation of Analytical Method, *Atomic Spectroscopy*, **23** (6): 196-200.
- CEE, 1990. Regulamento (CEE), nº2676/90 de 1990-09-17, *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, 3 de Outubro de 1990.
- CT83, 1988. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de ferro por espectrofotometria de absorção atómica, *Norma Portuguesa NP 2280*, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- CT83, 1990. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de sódio por

espectrofotometria de absorção atômica, *Norma Portuguesa* NP 3594, Instituto Português da Qualidade, Lisboa

CT83, 1991. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de potássio por espectrofotometria de absorção atômica, *Norma Portuguesa* NP 3685, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

CT83, 1993. Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de cálcio por espectrofotometria de absorção atômica, *Norma Portuguesa* NP 4082, Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

Danilatos N., 1979. Recent information on the use of bentonite. Chemical aspects. *Bulletin de l'OIV*, **580**: 456-481.

Enkelmann R., 1988. Migration of heavy metals from bentonites to wine.1. Note: Bentonites. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **84**: 243-247.

Gossinger M., Schodl H., Steidl R., Meier W., 1997. Comparison of commercial must and wine bentonites. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruechteverwertung*, **47** (1-2): 1-7.

Jakubowski N., Brandt R., Stuewer D., Eschnauer H.R., Gortges., 1999. Analysis of wines by ICP-MS: is the pattern of the rare earth elements a reliable fingerprint for the provenance?, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **364**: 424-428.

Lemperle E., Kerner E., 1988. Influence of fermentation and finishing on the ash content of wines. *Weinwirtschaft Technik*, **124** (8): 19-21, (9): 34-35.

Lipka Z., 1974. Qualité des bentonites utilisées pour le traitement des moûts et des vins, *Revue suisse de viticulture*, **VI** (5), 147-155.

Machado-Nunes M., Laureano O., Ricardo-da-Silva J.M., 1998. Influência do tipo de cola (caseína e bentonite) e da metodologia de aplicação nas características físico-químicas e sensoriais do vinho branco. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **13** (1-2): 7-28.

Marchal R., Barret J., Maujean A., 1995. Relations entre les caractéristiques physico-chimiques d'une bentonite et son pouvoir d'adsorption. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **29** (1): 27-42.

Marchal R., Weingartner S., Voisin C., Jeandet Ph. E Chatelain F., 2002. Utilisation de modèles mathématiques pour optimiser des doses de bentonite gonflée et non gonflée lors du collage des vins blancs. Partie I : Clarification et stabilisation colloïdale, *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **36** (3): 169-176.

OIV, 1998. Codex Œnologique International OIV (versão proposta por Alain Bertrand), Office International de la Vigne et du Vin.

Perkin Elmer, 2001. Elan Version 2.4. Software Guide. Perkin Elmer Sciex, Canadá.

Peynaud E., 1996. *Enologia pratica. Conocimiento y elaboracion del vino*, 3ª edição, Ediciones Mundi-Prensa, Bilbao.

Postel W., Meier B., Markert R., 1986. Influence of processing aids on the content of mineral compounds and trace elements in wine. I. Bentonite. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruechteverwertung*, **36** (1): 20-27.

Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribéreau-Gayon P., 1982. *Sciences et Techniques du Vin. I – Analyse et Contrôle des Vins*, Dunod, Paris.

Wurzinger A., Netzer M., Heili K., Bandion F., 1994a. Migration of components of bentonites

during the fermentation of must. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruechteverwertung*, **44**: 218-221.

Wurzinger A., Netzer M., Heili K., Bandion F., 1994b. Investigations into and evaluation of bentonite. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruechteverwertung*, **44**: 146-149.