Ciência Téc. Vitiv. 15 (1), 27-40. 2000

PRECIPITAÇÃO DA MATÉRIA CORANTE DE VINHOS TINTOS. CONTRIBUTO PARA O ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DOS PRECIPITADOS

THE PRECIPITATION OF COLOURING MATTER IN RED WINES. CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE DEPOSITS COMPOSITION

Sara Canas, M. Conceição Leandro, M.I. Spranger

Estação Vitivinícola Nacional. INIA. 2565-191 DOIS PORTOS. Portugal.
E-mail: inia.evn@mail.telepac.pt

(Manuscrito recebido em 04.04.00. Aceite para publicação em 10.05.00)

RESUMO

A grande instabilidade da cor de determinados tipos de vinho tinto, em particular dos vinhos de denominação de Origem Vinhos Verdes, tem originado uma acentuada desvalorização deste produto, com importantes repercussões económicas e sociais. De facto, nos últimos anos tem sido observada uma excessiva precipitação de matéria corante nestes vinhos, bem visível no fundo dos depósitos onde são conservados ou mesmo, mais gravemente, na garrafa. Concorrendo com a evolução natural do vinho tinto durante o período de conservação, esta precipitação origina pois uma modificação apreciável da cor do vinho, que constitui um dos aspectos mais importantes na avaliação da sua qualidade.

No presente trabalho apresenta-se o estudo de algumas características dos precipitados de vinhos verdes elementares Vinhão, Espadeiro e Borraçal, e de um vinho Tinta Miúda vinificado com engaço e sem engaço, que se julga estarem mais relacionadas com a estabilidade da matéria corante. O seu conhecimento constitui informação de relevante interesse para a compreensão dos compostos e dos mecanismos envolvidos, podendo pois contribuir, indirectamente, para a definição de soluções para tal problema.

Os precipitados são constituidos por uma fracção solúvel e por uma fracção insolúvel. Na primeira encontra-se essencialmente tartaratos e uma ínfima parte de antocianinas monómeras. A última será possivelmente formada por microorganismos, mucilagens ou resíduos das partes

sólidas da uva, bem como por polímeros ou pigmentos condensados responsáveis pela sua intensa coloração vermelha.
Constata-se que, ao nível das antocianinas, ocorre uma precipitação preferencial de ésteres cinâmicos, sobretudo cumáricos. As antocianinas não esterificadas também são alvo de uma precipitação considerável, especialmente a delfinidina-3-glucósido, a cianidina-3-glucósido e a petunidina-3-glucósido, talvez por se tratar de compostos mais polares.
Por outro lado, os resultados obtidos sugerem que a precipitação tartárica pode ter alguma influência na precipitação preferencial de certas antocianinas monómeras, mas o tipo de vinho (a casta) é determinante, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo.

Palavras-Chave: Vinhos tintos, Precipitação, Matéria corante, Tartaratos, Antocianinas

Key words: Red wines, Precipitation, Colouring matter, Tartrate, Anthocyanins

INTRODUÇÃO

A grande instabilidade da cor de determinados tipos de vinho tinto, em particular dos vinhos de denominação de Origem Vinhos Verdes, tem originado uma acentuada desvalorização deste produto, com importantes repercussões económicas e sociais. De facto, nos últimos anos tem sido observada uma excessiva precipitação de matéria corante nos vinhos verdes tintos, bem visível no fundo dos depósitos onde são conservados ou mesmo, mais gravemente, na garrafa.

Concorrendo com a evolução natural do vinho tinto durante o período de conservação, esta precipitação origina pois uma modificação apreciável da cor do vinho, que constitui um dos aspectos mais importantes na avaliação da sua qualidade.

A precipitação de compostos fenólicos, vulgarmente designada por precipitação de matéria corante, é um fenómeno natural e frequente no vinho tinto durante o período de conservação.

Ribéreau-Gayon *et al.* (1976) e Glories (1979), defendem que a fracção coloidal é a componente fundamental dos precipitados de matéria corante. Os produtos de condensação de taninos e antocianinas, embora sejam responsáveis pela pigmentação dos precipitados, têm, segundo estes autores, um papel secundário. Num estudo mais recente, Waters *et al.* (1994) verificaram que tais produtos constituem uma importante fracção dos precipitados.

O fenómeno parece ser fortemente condicionado pela fermentação maloláctica - FML (Ribéreau-Gayon, 1982) e, principalmente, pela estabilização tartárica (Glories, 1979; Usseglio-Tomasset e Di Stefano, 1980).

Por outro lado, pensa-se que as precipitações tartáricas que podem ocorrer no

período de conservação do vinho são responsáveis, pelo menos em parte, pela precipitação de matéria corante, designadamente de matéria corante coloidal e que tal precipitação resulta não só da insolubilização e precipitação das partículas coloidais por acção da temperatura (Sudraud, 1970; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976) mas também do arrastamento pelos colóides e pelos sais tartáricos ao precipitarem.

Com efeito, no vinho podem existir combinações entre taninos e sais (Glories, 1979; Tang *et al.*, 1992) que, tal como as combinações entre taninos e colóides (Glories, 1978), são susceptíveis de constituir um suporte coloidal para os compostos fenólicos. Estes polímeros, assim como os sais que se encontram em estado de sobressaturação, ao precipitarem podem arrastar mecanicamente ou por adsorção os compostos fenólicos (Glories, 1979).

Apesar de não termos encontrado qualquer referência bibliográfica explicitando a relação entre a precipitação de matéria corante e as precipitações tartáricas, o fenómeno de "empoeiramento" dos cristais abordado por diversos autores (Salgues *et al.*, 1982; Guittard *et al.*, 1982; Rodriguez-Clemente e Correa-Gorospe, 1988; García-Ruíz *et al.*, 1995), pode ter implícita tal ligação.

Esta hipótese parece colidir com a que evidencia a contribuição dada pelos polifenóis, como colóides protectores, para a estabilização tartárica (Gaillard et al., 1990). Mas, admitindo que a adsorção de matéria corante nas faces dos cristais de hidrogenotartarato de potássio (THK) pode ser apenas parcial, a inibição do crescimento também será parcial (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976; Rodriguez-Clemente e Correa-Gorospe, 1988) e, existindo condições favoráveis, o processo de cristalização poderá desencadear-se e resultar mesmo em precipitação tartárica, com o consequente arrastamento de matéria corante adsorvida.

No presente trabalho apresenta-se, como complemento da pesquisa efectuada nos vinhos (Canas, 1997), o estudo de algumas características dos precipitados que se julga estarem mais relacionadas com a estabilidade da matéria corante. O seu conhecimento poderá constituir informação de relevante interesse para a compreensão dos compostos e dos mecanismos envolvidos, podendo pois contribuir indirectamente para a definição de soluções para evitar a excessiva precipitação de matéria corante observada nos Vinhos Verdes tintos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizados os precipitados de vinhos verdes elementares Vinhão, Espadeiro e Borraçal, recolhidos à trasfega, após a FML. Os vinhos correspondentes foram obtidos através da tecnologia de vinificação tradicional naquela região.

Foram ainda analisados os precipitados de um vinho Tinta Miúda vinificado com engaço e sem engaço, com o objectivo de comparar com os precipitados dos vinhos verdes e para estudar o efeito do engaço na composição do precipitado.

Os precipitados foram isolados por centrifugação (10 minutos, a 8000 g, a 10 ºC), pesados e colocados numa arca congeladora (a - 20 ºC), onde permaneceram até serem analisados.

Métodos analíticos

Testes de identificação

Para determinar a natureza dos precipitados, foram realizados exames microscópicos e testes de identificação dos cristais de THK e dos cristais de tartarato de cálcio (TCa), de acordo com procedimento indicado por Anónimo (1977) e no projecto de Norma Portuguesa (prNP) 4236 (CT83, 1992). A identificação dos precipitados de matéria corante foi baseada no método referido por Anónimo (1977).

Teor de humidade

A humidade dos precipitados foi determinada por método gravimétrico, com secagem numa estufa de vácuo, a 50 ºC, na presença de pentóxido de fósforo, até à obtenção de um peso constante.

Teor de tartaratos totais

Na amostra solubilizada foi efectuada a determinação do teor de tartaratos totais por fluxo contínuo segmentado, com doseamento colorimétrico (a 520 nm), segundo os princípios do método de Rebelein (Curvelo-Garcia e Godinho, 1990).
A solubilização da amostra baseou-se na metodologia utilizada para os testes de identificação das precipitações tartáricas, tendo em conta que a temperatura e o pH são dos factores que mais influenciam a solubilidade dos tartaratos. Para a sua execução foi pesado cerca de um grama de precipitado seco, depois sujeito a dissoluções sucessivas e alternadas com 20 mL de água destilada a 100 ºC (aquecimento e permanência a esta temperatura durante 10 minutos) e com 10 mL de uma solução de ácido clorídrico a 50%, até insolubilização dos tartaratos do precipitado. Após cada dissolução o sobrenadante foi separado por centrifugação (12000 g, durante 10 minutos, a 5 ºC). No final misturou-se os sobrenadantes num balão de 200 mL e aferiu-se com água destilada, obtendo-se a *solução de extracção final (S)*, usada para a determinação do teor de tartaratos totais.

Para avaliar a aplicabilidade do método de doseamento foram preparadas três soluções, diluídas a partir da solução de extracção final. A uma delas foi ainda adicionada uma quantidade conhecida de ácido L(+)-tartárico (Panreac).

A concentração foi expressa em mg/g de precipitado seco e em mg de tartaratos no precipitado resultante de 1 L de vinho (a partir da relação entre o peso de precipitado e o volume de vinho que lhe deu origem).

O precipitado remanescente, correspondente à matéria insolúvel, foi pesado.

Extracção das antocianinas

A extracção das antocianinas foi efectuada a partir de um grama de precipitado húmido com 30 mL (6 x 5 mL) de uma solução de metanol - ácido clorídrico (999:1 v/v), por agitação num banho de ultrasons, seguida de centrifugação a 12000 g durante 10 minutos e filtração com filtros Gelman LC 13 de porosidade 0,45 µm.

Análise das antocianinas por cromatografia líquida de alta resolução

Realizou-se a análise das antocianinas por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), num cromatógrafo Waters, constituído por um injector Universal U6K, duas bombas M 510 controladas por um programador de gradiente M680, um detector UV-Vis M 481 e um módulo de integração Merck Hitachi modelo D-2000. A análise cromatográfica foi realizada com uma coluna Merck Superspher 100 RP 18 (4 µm), de 250 x 4 mm, à temperatura de 25 ºC. As condições cromatográficas utilizadas, descritas por Roggero e Coen (1987), foram as seguintes: solvente A, água/ácido fórmico (90:10 v/v); solvente B, acetonitrilo/água/ácido fórmico (30:60:10 v/v/v); gradiente linear de 20 a 85% de B em 70 min; fluxo de 0,7 $mL.min^{-1}$; detecção a 525 nm; volume de injecção de 10 ou de 25 µl.
A identificação dos picos cromatográficos baseou-se nos espectros UV-Vis dos compostos correspondentes e nos tempos de retenção relativos.

A quantificação foi feita a partir de uma curva de referência, obtida com soluções de diferentes concentrações (10-200 mg/L) de malvidina-3-glucósido (Extrasynthése), injectadas directamente no HPLC, nas mesmas condições cromatográficas. Todas as antocianinas foram portanto expressas em mg/L de malvidina-3-glucósido.
A concentração foi expressa em mg/g de precipitado seco e em mg de antocianinas no precipitado resultante de 1 L de vinho.

Método estatístico

Os resultados relativos à composição antociânica dos vinhos e dos precipitados correspondentes, expressos em valor percentual, foram sujeitos a uma análise em componentes principais, através de um sistema de programas *NTSYS - pc program/vs 1.80* (Rohlf, 1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Relativamente à composição dos precipitados (Figura 1), para efeitos de análise fisico-química é possível distinguir duas fracções, em função da sua solubilidade: uma fracção solúvel, onde se incluem os tartaratos, as antocianinas (na forma monómera) e outros constituintes, e uma fracção insolúvel.

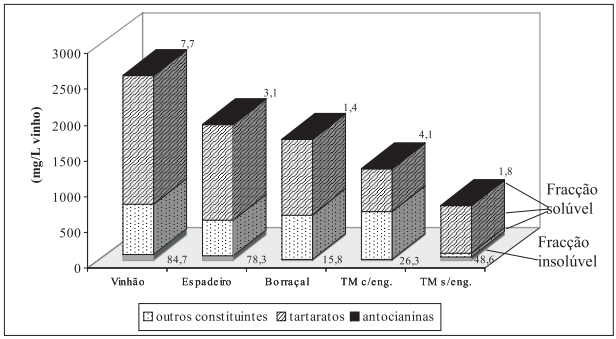


Fig. 1 - Composição dos precipitados.
Composition of the deposits

A fracção solúvel é essencialmente constituída por tartaratos. As antocianinas monómeras representam uma ínfima parte da mesma. Na fracção quantificada com a designação "outros constituintes" deverão estar incluídos diversos compostos, designadamente compostos fenólicos - antocianinas e procianidinas essencialmente sob a forma polimerizada, tal como verificado por Waters *et al.* (1994).

A fracção solúvel é mais elevada nos Vinhos Verdes que nos Tinta Miúda, verificando-se uma estreita relação entre este aumento e o teor de tartaratos totais (a precipitação resulta certamente das condições criadas pela FML).

No Tinta Miúda, a tecnologia de vinificação parece ter alguma influência na precipitação observada, sendo o engaço responsável por um muito acentuado aumento, relacionado com a precipitação de antocianinas e, sobretudo, de outros constituintes.

A par da análise fisico-química, a observação microscópica revelou a existência de estruturas cristalinas, de mucilagens, de matéria corante e de uma importante população de microrganismos, constituída por muitas leveduras (algumas com muitas granulações), bastantes bactérias e algumas hifas de fungos. Os cristais, as mucilagens e os microrganismos apresentavam-se intensamente pigmentados de vermelho, evidenciando pois o arrastamento de compostos fenólicos do vinho.

Tal como constatado por Spranger-Garcia (1988), verifica-se que a formação

de precipitados após a FML é possivelmente devida a alterações tanto de natureza fisico-química, nomeadamente a elevação do pH, como microbiológica.

Os microrganismos e as mucilagens ou resíduos das partes sólidas da uva deverão ter sido quantificados na fracção insolúvel, bem como outros compostos com uma contribuição relevante para a cor do vinho, tanto assim que o precipitado remanescente do processo de extracção exibia uma intensa coloração vermelha. Estes compostos podem ser polímeros (designadamente de antocianinas - procianidinas) ou pigmentos condensados, que se encontram no precipitado como resultado de um processo de arrastamento.

Por outro lado, também algumas antocianinas monómeras adsorvidas e arrastadas pelos cristais, microrganismos e partes sólidas da uva, poderão não ter sido extraídas na totalidade com o solvente utilizado aquando da preparação da amostra para análise em HPLC, sendo quantificadas na fracção insolúvel, e por isso doseadas por defeito na fracção solúvel.

Composição tartárica

Os resultados obtidos (Quadro I) demonstram que o método utilizado é aplicável para o doseamento dos tartaratos totais nos precipitados.

QUADRO I

Valores relativos ao teor de tartaratos totais (g/L) nas soluções de extracção dos precipitados
Total tartrate contents (g/L) in the deposits extraction solutions

Precipitado	Solução	valor observado (O)	valor esperado (E)	O-E
Vinhão	*S*	**3,5**	3,50	0,00
	d1	1,7	1,75	-0,05
	d2	1,4	1,40	0,00
	d3	3,4	3,40	0,00
Espadeiro	*S*	**3,5**	3,50	0,00
	d1	1,7	1,75	-0,05
	d2	1,4	1,40	0,00
	d3	3,3	3,40	-0,10
Borraçal	*S*	**3,1**	3,10	0,00
	d1	1,6	1,55	0,05
	d2	1,3	1,24	0,06
	d3	3,1	3,24	-0,14
Tinta Miúda c/engaço	*S*	**2,3**	2,30	0,00
	d1	1,2	1,15	0,05
	d2	1,0	0,92	0,08
	d3	2,9	2,92	-0,02
Tinta Miúda s/engaço	*S*	**4,3**	4,3	0,00
	d1	2,1	2,15	-0,05
	d2	1,7	1,72	-0,02
	d3	3,7	3,72	-0,02

S - solução de extracção final; *d1* - diluição a ½; *d2* - diluição a 1/2,5; *d3* - diluição a1/2,5 + 2 g/L TH_2

Pela análise do Quadro II, constata-se que o teor de tartaratos é consideravelmente mais elevado em Tinta Miúda sem engaço do que com engaço. Considerando a relação precipitado - vinho, a diferença atenua-se já que para o mesmo volume de vinho, o Tinta Miúda com engaço apresenta cerca do dobro do peso de precipitado seco.

QUADRO II

Valores relativos ao teor de tartaratos totais nos precipitados
Total tartrate contents of the deposits

	Peso de precipitado seco	**Ác. tartárico**		
		Solução de extracção		**Precipitado**
	(g)	(g/L)	(g)	(mg/g seco)
Precipitados				
Vinhão	1,0086	3,5	0,70	694,0
Espadeiro	1,0068	3,5	0,70	695,3
Borraçal	1,0001	3,1	0,62	619,9
Tinta Miúda c/eng.	1,0025	2,3	0,46	458,9
Tinta Miúda s/eng.	1,0014	4,3	0,86	858,8

Os precipitados de Vinhão e de Espadeiro apresentam teores de tartaratos mais elevados do que o de Borraçal.

O exame microscópico não permitiu diferenciar facilmente as duas espécies de cristais - THK e TCa - o que poderá estar relacionado com a perturbação da regularidade da cristalização por factores de ordem diversa, designadamente pela presença de colóides protectores, que originam a alteração do padrão cristalino (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1977).

Composição antociânica

Analisando o Quadro III verifica-se que, dos vinhos estudados, o Vinhão é aquele que apresenta incomparavelmente maior concentração de antocianinas. Por outro lado, observa-se em todos eles uma predominância das antocianinas não esterificadas (valor médio de 82 %), a qual é mais acentuada no Vinhão (91 %), devido fundamentalmente à sua riqueza em delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido e petunidina-3-glucósido.

Estes aspectos poderão pois justificar a menor importância da quebra de antocianinas no Vinhão, apesar do precipitado correspondente ser o mais rico nestes compostos.

QUADRO III

Valores relativos ao teor de antocianinas nos vinhos e nos precipitados correspondentes (mg/L vinho)

Anthocyanin contents in the wines and corresponding deposits (mg/L wine)

	Vinhão		Espadeiro		Borraçal		Tinta Miúda com engaço		Tinta Miúda sem engaço	
	precip.	vinho	precip.	vinho	precip.	vinho	precip.	vinho	precip.	vinho
Df	2,04	113,89	0,02	2,05	0,08	0,69	0,15	7,41	0,07	6,02
Cy	0,21	13,75	0,02	0,44	0,04	1,11	0,04	1,36	0,01	1,16
Pt	1,24	86,88	0,03	3,49	0,10	1,93	0,16	8,78	0,08	7,79
Pn	0,34	25,47	0,03	5,41	0,14	5,64	0,29	21,52	0,13	19,28
Mv	2,54	236,68	0,51	45,12	0,78	24,74	1,52	97,24	0,79	93,55
Σ	***6,37***	***476,67***	***0,61***	***56,51***	***1,14***	***34,11***	***2,16***	***136,31***	***1,08***	***127,80***
% relativa	*82,41*	*90,68*	*19,37*	*74,10*	*80,28*	*82,77*	*52,43*	*80,70*	*61,02*	*81,42*
Dfac	0,11	6,32	0,01	0,77	0,04	2,27	0,03	1,51	0,02	1,50
Ptac	0,08	7,11	0,01	0,62	0,02	0,74	0,02	1,30	0,01	0,52
Mvac	0,10	8,90	0,07	4,55	0,03	1,06	0,12	8,04	0,06	7,77
Σ	***0,29***	***22,33***	***0,09***	***5,94***	***0,09***	***4,07***	***0,17***	***10,85***	***0,09***	***9,79***
% relativa	*3,75*	*4,25*	*2,86*	*7,79*	*6,34*	*9,88*	*4,13*	*6,42*	*5,08*	*6,24*
Dfcum	0,29	5,73	0,08	0,85	0,02	0,49	0,06	0,94	0,04	0,71
Cycum	0,07	0,93	0,05	0,45	0,00	0,00	0,02	0,41	0,01	0,33
Ptcum	0,18	4,07	0,00	0,00	0,02	0,65	0,09	0,76	0,03	0,64
Pncum	0,09	1,90	0,17	1,74	0,04	0,63	0,36	5,71	0,12	4,96
Mvcum	0,44	14,02	1,97	9,20	0,11	1,26	1,23	12,79	0,38	11,71
Σ	***1,07***	***26,65***	***2,27***	***12,24***	***0,19***	***3,03***	***1,76***	***20,61***	***0,58***	***18,35***
% relativa	*13,84*	*5,07*	*72,06*	*16,05*	*13,38*	*7,35*	*42,72*	*12,20*	*32,77*	*11,69*
Mvcaf	0,00	0,00	0,18	1,57	0,00	0,00	0,03	1,14	0,02	1,03
% relativa	*0,00*	*0,00*	*5,71*	*2,06*	*0,00*	*0,00*	*0,73*	*0,67*	*1,13*	*0,66*
Total	***7,73***	***525,65***	***3,15***	***76,26***	***1,42***	***41,21***	***4,12***	***168,91***	***1,77***	***156,97***

Legenda: Df - Delfinidina-3-glucósido; Cy - Cianidina-3-glucósido; Pt - Petunidina-3-glucósido; Pn - Peonidina-3-glucósido; Mv - Malvidina-3-glucósido; Dfac - Delfinidina-3-(6''-O-acetilglucósido); Ptac - Petunidina-3-(6''-O-acetilglucósido); Mvac - Malvidina--3-(6''-O-acetilglucósido); Dfcum - Delfinidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Cycum - Cianidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Ptcum - Petunidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Pncum - Peonidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Mvcum - Malvidina–3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Mvcaf - Malvidina–3-(6''-O-cafeilglucósido)

Pelo contrário, o Borraçal é o que apresenta menor riqueza antociânica, tanto no vinho como no precipitado, no entanto a diminuição é apreciável (designadamente em antocianinas não esterificadas) relativamente aos outros vinhos elementares.

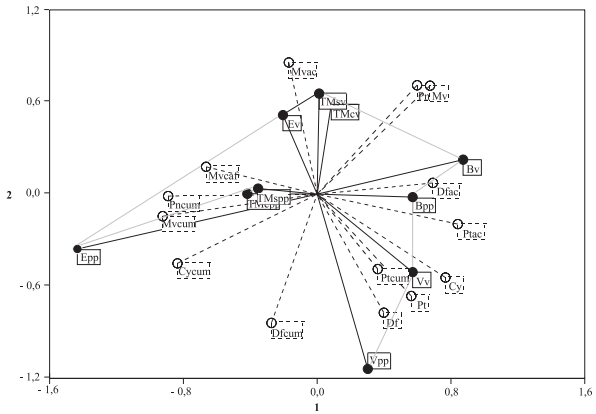
No vinho Espadeiro, que relativamente ao Borraçal possui um teor mais elevado de antocianinas, ocorre uma precipitação semelhante mas constituída fundamentalmente por antocianinas esterificadas.

Quanto ao Tinta Miúda, observa-se que o teor de antocianinas é ligeiramente superior no vinho com engaço, mas o teor no precipitado respectivo é cerca de duas vezes superior. Pode então pensar-se que a presença do engaço favorece a sua posterior precipitação.

Através da análise em componentes principais, cujas 3 primeiras componentes

representam 85,8 % da variância total, é possível ainda avaliar globalmente a composição em antocianinas dos vinhos e dos precipitados correspondentes.

A primeira e a segunda componentes principais (Figura 2), que explicam 43,4 % e 30,8 %, respectivamente, da variância total, permitem definir essencialmente três grupos: um grupo localizado no 4º quadrante, formado pelo vinho e precipitado do Vinhão; um segundo grupo, situado no 1º e 2º quadrantes, constituído pelo vinho e precipitado do Borraçal, pelos vinhos Tinta Miúda com engaço e sem engaço e pelo vinho Espadeiro; e um terceiro, posicionado no 3º quadrante, compostos pelos precipitados dos Tinta Miúda e do Espadeiro.



Legenda: E - Espadeiro; V - Vinhão; B - Borraçal; TMs - Tinta Miúda sem engaço; TMc - Tinta Miúda com engaço; v - vinho; pp - precipitado; Df - Delfinidina-3-glucósido; Cy - Cianidina-3-glucósido; Pt - Petunidina-3-glucósido; Pn - Peonidina-3-glucósido; Mv - Malvidina-3-glucósido; Dfac - Delfinidina-3-(6''-O-acetilglucósido); Ptac - Petunidina-3-(6''-O-acetilglucósido); Mvac - Malvidina--3-(6''-O-acetilglucósido); Dfcum - Delfinidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Cycum - Cianidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Ptcum - Petunidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Pncum - Peonidina-3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Mvcum - Malvidina--3-(6''-O-*p*-cumarilglucósido); Mvcaf - Malvidina--3-(6''-O-cafeilglucósido)

Fig. 2 - Projecção dos vinhos elementares, dos precipitados correspondentes e das antocianinas no espaço definido pela primeira e segunda componentes principais: *(●) vinhos e precipitados; (○) antocianinas*. O traço cinzento representa a "árvore de expansão mínima" associada.

Projection of wines and corresponding deposits and anthocyanins in the space defined by the first and second principal components: (●) wines and deposits; (○) anthocyanins. Grey tracing indicates the "minimum spanning tree" associated.

É possível constatar que os compostos mais directamente relacionados com esta discriminação são os ésteres cinâmicos, sobretudo cumáricos, que precipitam preferencialmente, em particular no Espadeiro. Este facto contribui para a maior importância relativa destes compostos em qualquer dos precipitados analisados relativamente aos vinhos que lhes deram origem.

As antocianinas não esterificadas contribuem também para a separação destes grupos, essencialmente pela composição particular dos vinhos Vinhão e Borraçal e, consequentemente, dos respectivos precipitados, tal como atrás referido.

Ao nível das antocianinas não esterificadas, existe uma tendência para a precipitação de delfinidina-3-glucósido, de cianidina-3-glucósido e de petunidina-3-glucósido, talvez por se tratar de antocianinas mais polares e por isso mais facilmente eliminadas do vinho, tal como referido por Caillet *et al.* (1995). A precipitação de malvidina-3-glucósido é considerável em termos absolutos mas perde importância em termos relativos, por ser o pigmento não esterificado mais representativo em todos os vinhos.

Os resultados obtidos sugerem ainda que a precipitação tartárica pode ter alguma influência na precipitação preferencial de certas antocianinas monómeras, mas o tipo de vinho (a casta) é determinante, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo.

CONCLUSÕES

Os precipitados são constituídos por duas fracções, em função da sua solubilidade: uma fracção solúvel, onde se incluem os tartaratos, as antocianinas (na forma monómera) e outros constituintes, e uma fracção insolúvel. Na fracção quantificada com a designação "outros constituintes" deverão estar incluídos diversos compostos, designadamente compostos fenólicos - antocianinas e procianidinas essencialmente sob a forma polimerizada. Da fracção insolúvel poderão fazer parte microrganismos, mucilagens ou resíduos das partes sólidas da uva, bem como polímeros ou pigmentos condensados, responsáveis pela intensa coloração vermelha apresentada por esta fracção.

Dentro das antocianinas constata-se existir uma precipitação preferencial de ésteres cinâmicos, sobretudo cumáricos. As antocianinas não esterificadas também constituem parte importante dos precipitados, observando-se uma tendência para a precipitação de delfinidina-3-glucósido, de cianidina-3-glucósido e de petunidina-3-glucósido, talvez por se tratar de compostos mais polares e por isso mais facilmente eliminados do vinho. A precipitação de malvidina-3-glucósido é considerável em termos absolutos, mas perde importância em termos relativos, por ser o pigmento não esterificado mais representativo em todos os vinhos.

Por outro lado, os resultados obtidos sugerem que a precipitação tartárica pode ter alguma influência na precipitação preferencial de certas antocianinas monómeras, mas o tipo de vinho (a casta) é determinante, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo.

SUMMARY

The precipitation of colouring matter in red wines. Contribution to the study of the deposits composition

The colour instability of some red wines, particularly those from the Delimited Region of Vinhos Verdes, has caused a great depreciation of these products, with heavy economics and social effects. In fact, in recent years an excessive precipitation of colouring matter has been observed at the bottom of the storage tanks and even in bottled wines. This precipitation occurs along with the natural evolution of red wine during the storage period, and origins a considerable modification of its colour, that is one of the most important aspects for the evaluation of its quality.

In this work is presented the study of some characteristics of the deposits of Vinhos Verdes *Vinhão*, *Espadeiro* and *Borraçal*, as well as the characteristics of the deposits of a *Tinta Miúda* wine with stem and without stem, that seems to be closely related with colouring matter stability. Their knowledge is of considerable interest to better understand the compounds and the mechanisms involved in that precipitation. Thus, it can contribute to find any solution to this problem.

The deposits are constituted by a soluble fraction and an insoluble fraction. The former is mainly formed by tartrates, while monomeric anthocyanins only represent a small part of it. The latter is possibly constituted by micro-organisms, mucilages or the remaining solid part of the grape, as well as polymers or condensed pigments that are responsible for its red coloration.

Among the anthocyanins there are a preferential precipitation of the cinnamic esters, mainly the cumaric ones. The non esterified anthocyanins have also an important precipitation, especially delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside and petunidin-3-glucoside, probably due to their higher polarity.

The results also suggest that the preferential precipitation of some monomeric anthocyanins may be due to the tartaric precipitation, but the type of wine (the grape cultivar) is the most determining factor.

RÉSUMÉ

La precipitation de la matiére colorante des vins rouges. Contribution pour l'étude de la composition des précipités

La grande instabilité de la couleur de certains types de vin rouge, tout particulièrement ceux de la dénomination d'Origine "Vinhos Verdes", a donné origine a une dépréciation du produit, avec importantes répercussions économiques et sociaux. En effet, dans les dernières années il est observé une excessive précipitation de la matière colorante dans ces vins, bien visible dans le fond des cuves de conservation ou même dans les bouteilles. En parallèle avec l'évolution naturel du vin rouge, cette précipitation donne lieu a une modification appréciable de la couleur du vin, ce qui constitue un des facteurs plus importants dans l'évaluation de sa qualité.

Dans ce travail ont présent l'étude de quelques caractéristiques des précipités de "vinhos verdes" de cépage "Vinhão", "Espadeiro" et "Borraçal", et un vin de "Tinta Miúda" vinifié avec les rafles et sans les rafles, qu'on pense être plus rapporté avec la stabilisation de la matière colorante. Sa connaissance est une information d'intérêt important pour la compréhension des composés et des mécanismes concernés, pouvant contribuer indirectement pour la définition de solutions pour tel problème.

Les précipités sont constitués par une fraction soluble et une autre insoluble. Dans la première se trouvent surtout des tartrates et une part très petite des anthocyanines monomères. La dernière

probablement sera composé par microorganismes, mucilages ou des déchets des parties solides du raisin, bien que par des polimères ou pigments condensés responsables par l'intense couleur rouge de cette fraction.
On vérifie qu'au niveau des anthocyanines a lieu une précipitation préférentiel d'estères cynamiques, surtout cumariques. Les anthocyanines pas sterifiées sont aussi siège d'une précipitation considérable, spécialement la delphinidine-3- glucoside, la cyanidine-3-glucoside et la pétunidine-3-glucoside, peut être par ce qu'ils sont des composés plus polaires.
D'autre part, les résultats suggèrent que la précipitation tartrique peu avoir quelque influence dans la précipitation préférentielle de certaines anthocyanines monomères, mais le type de vin (le cépage) étant déterminant, tant du point de vue quantitatif que qualitatif.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anónimo, 1977. Caracterisation des troubles et des depots. *Cahier de travaux pratiques*. Université de Bordeaux II. Institut d'Oenologie.

CT83, 1992. Bebidas alcoólicas e espirituosas. *Projecto de Norma Portuguesa* prNP 4236, Direcção Geral da Qualidade, Lisboa.

Curvelo-Garcia A.S., Godinho M.C., 1990. Doseamento do ácido tartárico dos vinhos, por fluxo continuo segmentado. *Ciência Téc. Vitiv.*, **9**, 115-120.

Gaillard M., Ratsimba B., Favarel J.L, 1990. Stabilité tartrique des vins: comparasion de différents tests, mesure de l'influence des polyphénols. *Rev. franc. Oenol.*, **123**, 7-13.

Galhano A., 1986. Uma Região Demarcada. Uma Denominação de Origem. O vinho verde. 94 p. Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes.

García-Ruíz J.M., Alcántara R., Martín J., 1995. Effects of reutilized potassium bitartrate seeds on the stabilization of dry sherry wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 525-528.

Glories Y., 1978. *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. 195 p. Thèse doctorat d'Etat, Université de Bordeaux II.

Glories Y., 1979. Le froid et la matiére colorante des vins rouges. *Rev. Franc. Oenol.*, **73**, 37-39.

Guittard A., Mas J., Roques J., Brugirard A., 1982. Techniques de stabilisations tartriques appliquées aux vins du Roussillon. *Rev. Franc. Oenol*., **87**, 29-34.

Ribéreau-Gayon P., 1982. The anthocyanins of grapes and wines. *In*: *Anthocyanins as food colors*. 209-244. Markakis P. (ed.), Academic press, New York.

Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., 1976. *Traité d'oenologie. Sciences et techniques du vin.* Tome III. 719 p. Dunod (ed.), Paris.

Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Ribéreau-Gayon, P., Sudraud, P., 1977. *Traité d'oenologie. Sciences et techniques du vin*. Tome IV. 643 p. Dunod (ed.), Paris.

Rodriguez-Clemente R., Correa-Gorospe I., 1988. Structural, morphological and kinetic aspects of potassium hydrogen tartrate precipitation from wines and ethanolic solutions. *Am. J. Enol. Vitic.*, **39**, 169-179.

Roggero J.P., Coen S., 1987. Étude par CPLH de la reaction glucoside de malvidine - acetaldeyde - Composé phénolique. *Conn. Vigne Vin*, **21**, 163-168.

Rohlf, F., 1993. NTSYS - pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80. Exeter software. New York.

Salgues M., Heitz F., Bidan P., 1982. Réflexions sur la cristallisation du tartre dans les vins. *Bull. OIV*, **55**, 229-238.

Spranger-Garcia M.I., 1988. *Pigmentos vermelhos de bagaço de uva. Estudo da tecnologia de recuperação. Contribuição para o estudo de parâmetros definidores de estabilidade*. 222 p. Dissertação apresentada às provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária - EVN (ed.), Dois Portos.

Sudraud M.P., 1970. Utilisation de la gomme arabique et des alginates en Oenologie. *Rev. Franc. Oenol*., **39**, 22-26.

Tang H.-R., Hancock R.A., Covington A.D., 1992. Complexation between polyphenols and aluminium salts. *In*: *Plant polyphenols.Synthesis, properties, significance.* 437-445. Hemingway R.W. e Laks P.E. (ed.), Plenum press, New York.

Usseglio-Tomasset L., Di Stefano R., 1980. Osservazioni sull'evoluzione del colore dei vini rossi. *Vini d'italia*, **22**, 118-122.

Waters E.J., Peng Z., Pocock K.F., Jones G.P., Clarke P., Williams P.J., 1994. Solid-state ^{13}C NMR investigation into insoluble deposits adhering to the inner glass surface of bottled red wine. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1761-1766.