

## ASPECTOS SENSORIAIS DO “CARÁCTER BRETT”. NOVA AVALIAÇÃO DO LIMIAR DE PERCEPÇÃO OLFACTIVO DE FENÓIS VOLÁTEIS NO VINHO TINTO

Andrea ROMANO, Marie Claire PERELLO, Aline LONVAUD-FUNEL, Gilles DE REVEL

UMR 1219 Œnologie, Université Victor Segalen Bordeaux 2, INRA, ISVV, Talence, France.

*Trabalho apresentado no Congresso “Wine Active Compounds”, 27-29 de Março de 2008, Beaune, França*

### INTRODUÇÃO

A contaminação do vinho por *Brettanomyces bruxellensis* é um grave problema que suscitou alguma atenção.

Esta alteração, por vezes denominada “carácter brett”, dá lugar à produção de um espectro de gostos e aromas definidos como alho, pão, suor de cavalo, cavalo e medicinal [1]. Os etilfenóis (concretamente o 4-etilfenol e 4-etilguaicol) são os marcadores mais conhecidos deste defeito, cujo limiar de percepção, mais frequentemente referenciado, é de 400 µg l<sup>-1</sup> [2]. Este limiar tem uma importância económica significativa uma vez que os enólogos o converteram num ponto de referência para o tratamento dos vinhos, já que se considera que este valor indica o risco de contaminação por *B. bruxellensis*. Num estudo anterior [3] demonstramos que a produção de fenóis voláteis no vinho por *B. bruxellensis* é acompanhada pela síntese de ácidos orgânicos (desde o C<sub>3</sub> até C<sub>10</sub>) e ésteres etílicos de ácidos de cadeia curta (desde o C<sub>2</sub>C<sub>6</sub> até ao C<sub>2</sub>C<sub>10</sub>).

Este trabalho tem como objectivo determinar a influência desta actividade metabólica no desenvolvimento do carácter Brett e, em particular, na percepção das notas de “fenólico” típicas deste defeito sensorial.

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### Materials

Todos os produtos químicos utilizados foram do mais alto grau de pureza disponível. Para as análises químicas e sensoriais utilizaram-se vinhos tintos de Bordéus (etanol 12.5 - 13.9 % v/v, açúcares redutores 1.2 -2.4 g/l, acidez volátil 0.38 -0.74 g/l (ácido sulfúrico), pH 3.6 -4.0). O vinho utilizado para a determinação dos limiares continha 13 µg/l de etilfenóis e não apresentava defeitos sensoriais detectáveis. Sempre que necessário foram adicionados ao vinho 4-etilfenol, 4-etilguaicol, ácido isobutírico (2-metil propiónico) e ácido isovalérico (3-metilbutírico).

#### Análise sensorial

Efectuou-se uma análise descritiva de 51 vinhos tintos de Bordéus da vindima de 2005. Uma câmara de provadores constituída por 4 profissionais do sector traçou um perfil sensorial completo de cada um dos vinhos. A sessão de provas tinha como objectivo definir o perfil de um vinho comercial. As amostras foram apresentadas aos provadores utilizando copos de prova em forma de tulipa.

Os limiares de percepção foram calculados seguindo as linhas de orientação proporcionadas pela Organização Internacional para a Padronização [4]. Efectuaram-se seis séries de prova de escolha forçada entre três alternativas (3-AFC). Cada uma das séries continha uma mostra positiva adicionada com concentrações crescentes (17 - 34 - 68 - 137 - 275 - 550 µg/l) de etilfenóis com uma proporção 4-etilfenol: 4-etilguaicol de 10:1. O painel de prova foi constituído por 10 provadores especializados, que pertenciam ao grupo de trabalho do laboratório. As amostras foram avaliadas através das funções olfactivas orthonasais e consistiram em amostras de 4ml de vinho, sendo estas apresentadas em garrafas de 25 ml com cápsulas de rosca. Todas as provas foram efectuadas numa sala equipada com cabines de prova individuais.

### Análises químicas

Efectuou-se a determinação do etanol, da acidez volátil e dos açúcares residuais totais de acordo com métodos internacionais para a análise de mostos e vinhos publicados pela “Organização Internacional da Vinha e do Vinho” (OIV). Os fenóis voláteis foram determinados por GC-MS adequada a uma micro-extracção em fase sólida (SPME) sobre fibras de poliacrilato [3].

Foram ainda determinados outros compostos voláteis mediante análise dos extractos orgânicos, por CG-FID ou por GS-SM.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os perfis sensoriais do vinho foram examinados tendo em conta os descritores atribuídos ao carácter Brett. Subdividiram-se os vinhos em três classes. Os vinhos “fortemente contaminados”, foram descritos pelos quatro provadores da câmara como sendo descritores fenólicos, nos vinhos “medianamente contaminados”, estes descritores, foram encontrados pelo menos por um dos provadores e os vinhos “não contaminados” não apresentavam praticamente defeitos. Os vinhos foram submetidos a análises por CG-SM para determinar os fenóis voláteis. O 4-etilfenol e o 4-etilguaicol estavam presentes em todas as amostras com um quociente médio de concentrações de 10:1, típico dos vinhos de Bordéus. Surpreendentemente, observou-se uma pequena correlação entre os dados sensoriais e as concentrações de etilfenóis (tabela 1).

Tabela 1. Análise descritiva e concentrações correspondentes de etilfenóis em vinhos.

Perfil sensorial	Número de vinhos	Etilfenóis (µg/l)		
		min	máx	média
Fortemente contaminados	5	196	746	375
Medianamente contaminados	10	8	563	272
Não contaminados	38	5	1370	403

Pôs-se, então, a hipótese de que os compostos voláteis produzidos por *B.bruxellensis* influenciaram as propriedades sensoriais dos vinhos contaminados, interferindo, certamente, com a percepção das notas “fenólicas”. Vinte e seis (5 fortemente contaminados, 6 medianamente contaminados e 15 não contaminados) foram analisados por CG-FID para determinar os ácidos carboxílicos e os ésteres etílicos. Foi possível evidenciar uma correlação estatisticamente significativa ( $1-\alpha = 0.001$ ) entre os etilfenóis e os ácidos isobutírico (iC4) e isovalérico (iC5) (tabela 2).

Tabela 2. Análise dos ácidos carboxílicos e dos ésteres etílicos em vinhos. Foram apresentados também os coeficientes de correlação ( $r$ ) com os etilfenóis.

	Concentração (mg/l)								
	C <sub>3</sub> <sup>+</sup> C <sub>4</sub>	iC <sub>4</sub>	iC <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>6</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>8</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>10</sub>
Min (mg/l)		1.34	1.87	0.63	0.51	0.21	0.07	0.10	0.18
Máx (mg/l)	<0.1 mg/l	4.67	6.73	1.92	2.22	1.36	0.48	0.50	0.67
Média (mg/l)		2.62	3.49	1.02	0.82	0.45	0.31	0.27	0.42
Correlação ( $r$ ) com etilfenóis	n.a.	<b>0.66</b> *	<b>0.78</b> *	0.05	0.14	0.07	0.19	0.13	0.29

\* = Nível de confiança 99,9%

Com o intuito de verificar se estes ácidos carboxílicos tinham tido um efeito sobre a percepção das notas fenólicas, efectuaram-se duas séries de provas de escolha forçada entre três alternativas (3-AFC). Na primeira série de ensaios, determinou-se um limiar de percepção global no vinho para a mistura 4-etilfenol:4-etilguaicol na proporção 10:1. Na segunda experiência, foi adicionado ao vinho 1mg/l de ácido isobutírico e 1 mg/l de ácido isovalérico. Numa série de ensaios prévios comprovou-se que com estas concentrações as notas olfactivas de “ranço”, típicas destes compostos, não se detectavam.

Por último, definiu-se o limiar de percepção dos etilfenóis nos vinhos modificados. Os valores correspondem a 0,5 de probabilidade de percepção após correcção.

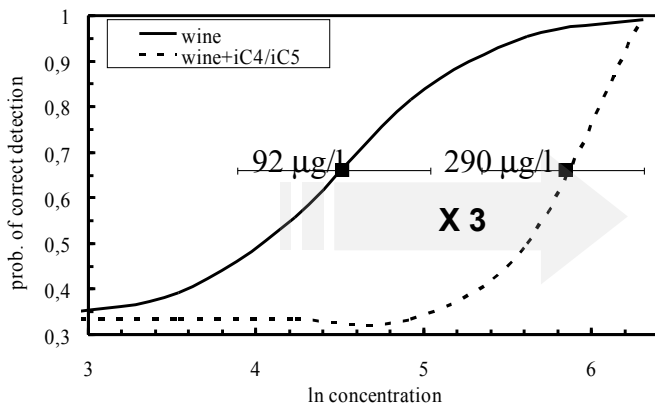


Figura 1. Probabilidades de sucesso e limiares de percepção orthonasal de etilfenóis em dois vinhos diferentes. As barras de erro representam os 95% dos limites de confiança.

A comparação entre os dois limiares de percepção permitiu-nos comprovar que os ácidos isobutírico e isovalérico exercem um efeito de máscara relativamente aos etilfenóis, de facto, o valor do limiar de percepção era três vezes maior quando se adicionavam ao vinho ácidos carboxílicos. Isto explica em parte a escassa correlação entre os dados sensoriais e as concentrações dos etilfenóis.

Os ácidos isobutírico e isovalérico produzidos por *B. bruxellensis* ou outras espécies microbianas podiam desempenhar um papel positivo ao mascarar as desagradáveis notas fenólicas, sempre que estas permaneçam abaixo do seu limiar de percepção. Outro resultado bastante interessante, tem a ver com as estimativas preliminares dos limiares de percepção dos ácidos isobutírico e isovalérico (2,8 e 3,1 mg/l respectivamente) que foram mais baixos que as quantidades encontradas na maioria dos vinhos, o que sugere que estes valores podem depender da complexidade do vinho.

Os limiares de percepção calculados para os etilfenóis no vinho foram, significativamente, mais baixos que os publicados na bibliografia [2], mas, há que recordar, que estes são facilmente influenciáveis pela complexidade do vinho (5 fortemente contaminados e 5 não contaminados) para determinar outros fenóis voláteis (fenol, guaiacol, cresol, eugenol e siringol) contudo não foram encontradas diferenças significativas entre os seus perfis.

## AGRADECIMENTOS

Os autores querem agradecer ao “Instituto das Ciências da Vinha e do Vinho” (ISVV, Bordéus) pelo apoio financeiro.

**Bibliografia**

11. C. de Blackburn (ed.), *Food Spoilage Microorganisms*, Cambridge, UK, 2007, pp 354-398.
22. P. Chatonnet, D. Dubourdieu, J.N. Boidron, and M. Pons. *J.Sci.Food Agric.* 60 (1992) 165.
33. A. Romano, M.C. Perello, G. de Revel and A. Lonvaud-Funel, *J.Appl.Microbiol.* in press.
44. ISO 13301:2002 *General guidance for measuring odour, flavour and taste detection thresholds by a three-alternative forced-choice (3-AFC) procedure.*