

QUANTIFICAÇÃO DA MANOSE POLIMÉRICA EM VINHOS POR ESPECTROSCOPIA DE FTIR E ANÁLISE MULTIVARIADA

Elisabete Coelho¹, António Barros¹, Fernando Gonçalves^{1,2}, António Dias Cardoso³, Sílvia Rocha¹, Ivonne Delgado¹ e Manuel A. Coimbra¹

¹ Departamento de Química, Universidade de Aveiro, E-mail: ecoelho@dq.ua.pt. ² Escola Superior Agrária de Viseu. ³ Estação Vitivinícola da Bairrada, Anadia.

INTRODUÇÃO

A espectroscopia de FTIR (Infravermelho com Transformadas de Fourier) é uma técnica de análise expedita que pode ser aplicada à indústria agro-alimentar no controlo de qualidade pela rapidez e facilidade na manipulação das amostras. Esta técnica tem sido implementada nas análises de rotina dos vinhos, sendo avaliados um grande número de parâmetros, tais como álcool, acidez volátil, pH, ácidos orgânicos, SO₂, açúcares e polifenóis (Dubernet *et al.*, 2000). Recentemente, esta metodologia foi também proposta para a quantificação de polissacarídeos em extractos poliméricos purificados a partir de vinhos brancos (Coimbra *et al.*, 2002a). Os polissacarídeos pertencem a um dos principais grupos de macromoléculas do vinho, são importantes para a estabilidade dos vinhos, desempenhando as manoproteínas um papel muito importante na evolução do tamanho das partículas coloidais (Riou *et al.*, 2002). Este trabalho evidencia as potencialidades do FTIR na região espectral entre 1200 e 800 cm⁻¹ para a quantificação de manose polimérica em vinhos brancos e tintos por análise dos extractos poliméricos secos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas duas castas brancas, Maria Gomes (MG) e Bical (Bi) e uma casta tinta, Baga (Ba) provenientes da Região Demarcada da Bairrada.

Os vinhos (500 mL) foram evaporados a pressão reduzida (T<35°C), dialisados e liofilizados (Coimbra *et al.*, 2002a). O material polimérico foi fraccionado em soluções de etanol de concentração crescente, tendo sido obtidos para cada vinho três fracções: insolúvel a 60% de etanol, insolúvel a 80% de etanol e a fracção solúvel em etanol (Coimbra *et al.*, 1996).

Os açúcares neutros foram analisados na forma de acetatos de alditol por GC-FID (Blakeney *et al.*, 1983; Harris *et al.*, 1988) e os ácidos urónicos foram analisados

colorimetricamente usando uma modificação do método Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973).

Os espectros de FTIR foram adquiridos na gama 4000-400 cm^{-1} , para cada amostra/fracção, com 8 cm^{-1} de resolução e 128 *scans*, usando uma célula de ATR de feixe simples (GoldenGate). Para a análise multivariada foi usada a região 1200-800 cm^{-1} , tendo sido aplicada a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Regressão Parcial dos Mínimos Quadrados (PLS1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras usadas neste estudo foram principalmente as fracções obtidas por precipitação do material polimérico com 60% de etanol (Et60). Os principais açúcares presentes nestes extractos são: manose, arabinose, galactose, ácido urónico, ramnose e glucose. As fracções Et60 contêm 75 a 92% da manose total dos vinhos (Coimbra *et al.*, 2000). Embora estas fracções sejam ricas em manose, a sua composição em açúcares apresentou variações significativas dependendo da tecnologia de vinificação e da casta utilizada (Gonçalves, 2001).

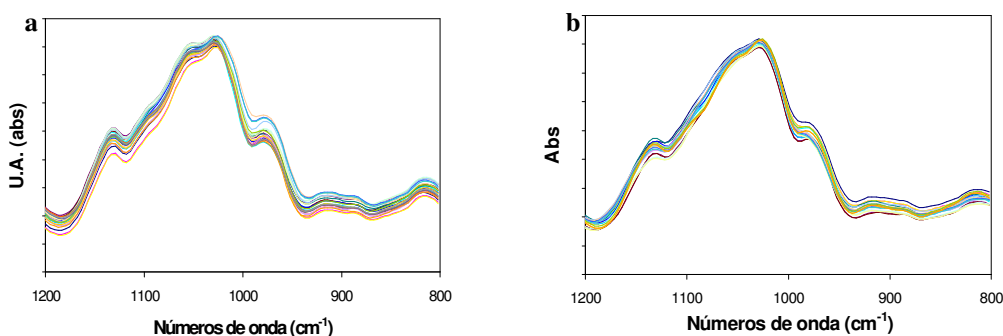


Figura 1- Espectros de FTIR do extracto Et60. a) Espectros das amostras com elevado conteúdo em manose (75-95%), b) Espectros das amostras com baixo conteúdo em manose (24-43%).

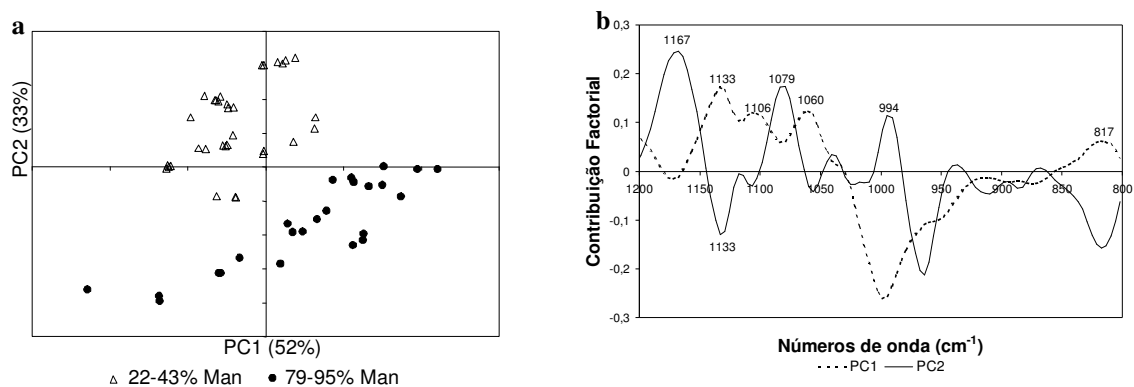


Figura 2- a) PCA dos espectros de FTIR das fracções Et60 de vinho branco, PC1 vs. PC2. b) Coeficientes b.

Na Figura 1a estão representados os espectros de FTIR de amostras com 79-95% de manose e de amostras com 22-43% de manose. Com o objectivo de observar se estes espectros traduzem a variabilidade do conteúdo em manose foi aplicado um PCA aos espectros de FTIR, obtidos para as fracções Et60 de vinhos brancos (Figura 2a). Verifica-se que o plano PC1-PC2 relaciona as amostras de acordo com o seu conteúdo em manose. As amostras com elevada quantidade relativa de manose (79-95 mol%) localizam-se no 4º quadrante (PC1 positivo - PC2 negativo) e as com baixo conteúdo em manose (22-43 mol%) no 2º quadrante (PC1 negativo - PC2 positivo). Os resultados mostram que a informação contida nos espectros de FTIR relaciona-se com a quantidade relativa de manose presente nas amostras. As bandas de FTIR que estão relacionadas com o conteúdo em manose (Figura 2b) são as bandas localizadas a 1167, 1133, 1106, 1060, 994 e 817 cm^{-1} , que correspondem ao PC1 positivo e PC2 negativo (4º quadrante) como também PC1 negativo e PC2 positivo (2º quadrante).

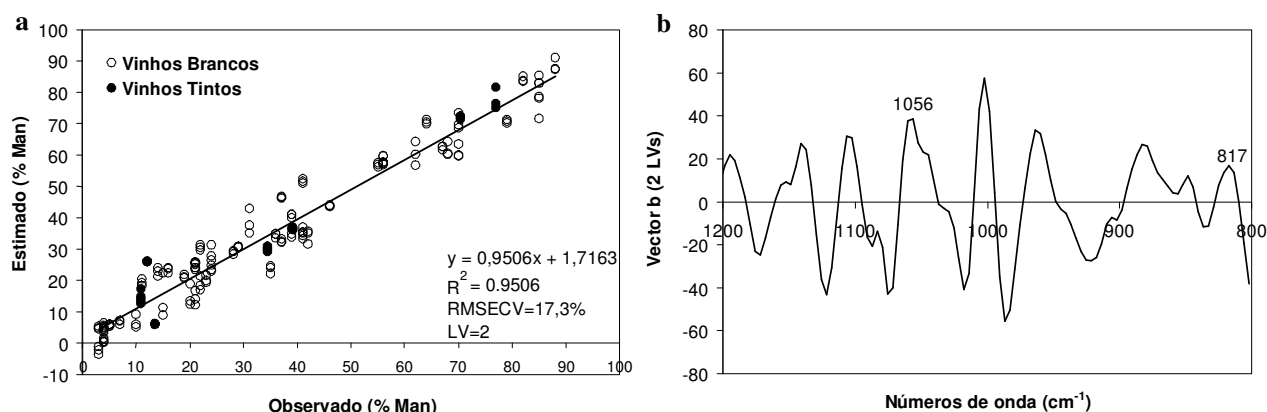


Figura 3- a) Curva de calibração para a quantificação de manose (mol%) usando um modelo PLS1 em vinhos brancos e tintos (2 variáveis latentes), b) Coeficientes **b**.

Com o objectivo de quantificar a manose presente nos extractos dos vinhos brancos e tintos foi aplicada uma regressão parcial dos mínimos quadrados aos espectros de FTIR, de todas as fracções de vinho branco e tinto (material polimérico total e fracções Et60 e Et80). Outros modelos já permitiam quantificar a manose polimérica em amostras de vinho branco e tinto separadamente, ou seja usando duas curvas de calibração (Coimbra *et al.*, 2002b). Para a quantificação conjunta foi necessário aplicar a técnica *Direct Orthogonalization*; uma técnica que permite, em amostras complexas, seleccionar somente a variação nos espectros que estão relacionadas com a quantidade a modelar. O erro associado à previsão (RMSECV) foi 17%, com um R^2 de 0,95. Os números de onda mais importantes nos vinhos brancos e tintos (Figura 3b), relacionados com a manose, são 1056 e 817 cm^{-1} , estas bandas aumentam com o aumento

do conteúdo em manose. As variações dos espectros de FTIR relativamente à manose são diminutas comparativamente a outros parâmetros. A curva de calibração representada na Figura 3a apresenta uma relação linear de 3 a 88 mol% de manose obtendo-se uma boa estimativa do conteúdo em manose para os vinhos brancos e tintos numa só curva de calibração.

CONCLUSÃO

A região 1200-800 cm^{-1} do espectro de FTIR combinada com a análise multivariada pode ser usada para quantificar manose polimérica em vinhos, sejam eles brancos ou tintos. Os resultados obtidos são mais um passo para que, num futuro próximo, seja possível usar o FTIR para quantificar os polissacarídeos directamente em amostras de vinho.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado por PAMAF, projecto 2054 e AGRO, Projecto 38.

BIBLIOGRAFIA

- BLAKENEY A.B., HARRIS P.J., HENRY R.J., STONE B.A., 1983. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.*, 113: 291-299.
- COIMBRA M.A., DELGADILLO I., WALDRON K.W., SELVENDRAN R.R., 1996. Isolation and Analysis of Cell Wall Polymers from Olive Pulp. In: LINSKENS, H.F. & JACKSON, J.F., EDS, SPRINGER-VERLAG, *Modern Methods of Plant Analysis, Plant Cell Wall Analysis*, vol.17, Berlin - Heidelberg, pp. 19-44.
- COIMBRA M.A., GONÇALVES F., RAMALHEIRA V., BARROS A., DELGADILLO I., DIAS CARDOSO A., 2000. Influence of skin contact and enzyme clarification of the polysaccharide composition of two monovarietal Bairrada white wines. *XXV^{ème} Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Paris, Section II-Enologie, pp. 229-235.
- COIMBRA, M. A. ; GONÇALVES, F.; BARROS, A; DELGADILLO, I., 2002a. Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometric Analysis of White Wine Polysaccharide Extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3405-3411.
- COIMBRA, M. A.; BARROS, A.; COELHO, E.; GONÇALVES, F.; DIAS CARDOSO, A.; ROCHA, S.; DELGADILLO, I., 2002b. FT-IR Spectroscopy and Multivariate analysis of wine Polysaccharides - Calibration Curves for Mannose. *XXVII^{ème} Congrès Mondial de la vigne et du Vin*, Bratislava, Section II-Oenologie, pp. 50-59.
- DUBERNET, M.; DUBERNET, V.; COULOMB, S.; LERCH, M.; TRAINÉAU, I., 2000. Analyse objective de la qualité des vendages par spectrométrie infra-rouge à transformé de Fourier (IRTF) et réseaux de neurones. *XXV^{ème} Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Paris, Section II-Enologie, 215-221.
- GONÇALVES, F.J.A., 2001. Isolamento e caracterização dos polissacarídeos de vinhos brancos da Bairrada - Efeito da maceração pelicular e da clarificação dos mostos, Tese de Mestrado, Universidade de Aveiro.
- HARRIS P.J., BLAKENEY A.B., HENRY R.J., STONE B.A., 1988. Gas chromatographic determination of the monosaccharide composition of plant cell wall preparations, *J. Assoc. Of. Anal. Chem.*, 71: 272-275.
- RIOU, V.; VERNHET, A.; THIERRY, D.; MOUTONNET, M., 2002. Aggregation of grape seed tannins in model wine - Effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 16: 17-23.