

ZrO₂ – O TENDINȚĂ MODERNĂ ÎN STABILIZAREA PROTEICĂ A VINURILOR ALBE

Marina TÎRSÎNĂ

Departamentul Oenologie și Chimie, grupa OEPV-211M, Facultatea Tehnologia Alimentelor,
Universitatea Tehnică a Moldovei, Chișinău, Republica Moldova

Autorul corespondent: Marina Tîrsînă, marina.tirsina.98@gmail.com

Rezumat. *Lucrarea respectivă reprezintă un studiu axat pe instabilitatea proteică a vinurilor, în particular a celor albe, în cadrul căruia s-au evaluat perspectivele de stabilizare a vinurilor contra precipitărilor proteice cu materiale și metode noi și inofensive pentru consumator, inerte față de matricea vinului și care nu provoacă efecte colaterale nedorite asupra complexului organoleptic al vinului.*

Pentru determinarea gradului de instabilitate proteică, asupra probelor s-au realizat un șir de teste termice dar și un test-expres, testul Protocheck. Acestea din urmă au fost efectuate în contextul aprecierii dozelor de sorbenți pentru cleirile deproteinizante – tradiționala bentonită, și sorbentul nou de perspectivă – ZrO₂.

Cuvinte cheie: *instabilitate proteică, teste proteice, bentonită, ZrO₂, spectre de absorbție UV-VIS*

Introducere

Stabilitate fizico-chimică a vinului este limitată în timp de o serie de factori intrinseci și extrinseci. În mare măsură, aceasta se datorează nivelului de stabilitate a proteinelor prezente în stare coloidală în mediul vinului. În principiu, instabilitatea proteică apare datorită denaturării acestora din urmă și se manifestă prin apariția unei ușoare opalescențe care ulterior formează precipitate ce se depun pe fundul buteliei formând un strat de depozit fin, alb-cenușiu, dezagreabil. Proteinele vinului provin, în principal, din struguri și sunt proteine legate de patogeneză (PR). Cele mai abundente sunt chitinazele și proteinele asemănătoare taumatinei (TLP) cu mase moleculare joase cuprinse între 20 și 30 kDa [1, 2].

Aprecierea cantitativă a stabilității proteice a vinului devine dificilă în condițiile în care, diferite teste analitice oferă rezultate diferite. Aceste diferențe se datorează parametrilor individuali fizico-chimici ai vinului, condițiilor de desfășurare a testelor, dar și corectitudinii modului operatoriu. Însă, dat fiind faptul că principalul factor care contribuie la destabilizarea proteinelor este șocul termic, convingerea că testele pe bază de denaturare termică dau cele mai bune rezultate este argumentată.

Stabilitatea sau instabilitatea proteică a vinurilor se determină prin stimularea desfășurării proteinelor termolabile sub influența temperaturilor ridicate (80°C) și măsurarea turbidității înainte și după test. Ulterior, se formulează concluzii generale despre starea de stabilitate a vinului și, implicit, necesitatea unui tratament care, la rândul său, trebuie să fie adecvat situației reale, și să nu supra- sau sub-estimeze dozele de sorbenți deproteizanti pentru a evita ineficiența tratamentului sau eliminarea unor elemente importante pentru vin, din punct de vedere structural și organoleptic [3, 4].

Actualmente, în rândurile vinificatorilor din R. Moldova, și nu numai, modalitatea de stabilizare proteică a vinurilor rămâne a fi tratamentul complex cu bentonite, însă acesta prezintă o serie de inconveniențe sub aspect al calității vinurilor tratate (înlăturarea aromelor), cât și sub aspect economic și ecologic. Din acest motiv, se caută metode de asigurare a stabilității proteice care să fie eficiente și inofensive față de vin și consumator [5, 6, 7].

O metodă fizico-chimică de stabilizare proteică care este, relativ nouă dar destul de promițătoare este utilizarea oxidului de zirconiu - ZrO₂. Perspectiva acestui tratament devine tot mai intrigantă, prin prisma multitudinii avantajelor pe care le prezintă: este inert față de vin, oferă volume reduse de sedimente proteice, permite regenerarea lui după tratament și resectiv, utilizarea repetată [8, 9].

În cadrul acestui studiu s-au analizat șase varietăți de vin alb, care au fost expuse testelor termice de stabilitate proteică, la cele mai diferite regimuri de temperatură și timpi de încălzire/răcire, dar și medii diferite. Scopul acestei diversificări de testare este de a-l identifica pe cel care exprimă conținutul real de proteine din vin, cu cea mai mică eroare posibilă.

Materiale și metode

Probele de vin selectate pentru analiza experimentală provin din roada anului 2020, trei dintre care sunt vinuri seci produse din varietățile europene Chardonnay, Pinot Grigio, Sauvignon Blanc în cadrul ÎM „Vinăria Purcari”, alte trei sunt obținute la Departamentul Oenologie și Chimie al FTA, UTM, din soiurile autohtone – Legenda, Riton și Viorica.

Toate testele au fost efectuate în laboratoarele din cadrul Departamentului Oenologie și Chimie al FTA, UTM. Inițial, toate probele au fost filtrate prin hârtie de filtru, condiționate la temperatura camerei (25°C); ulterior s-au măsurat turbiditățile inițiale ale probelor prin metoda nefelometrică. Totodată a fost monitorizat și complexul fenolic al vinurilor prin analiza spectrofotometrică în UV-VIS.

Metoda de testare lentă la cald presupune tratarea termică în cuptor termostatat, la temperatură constantă de 80°C timp de 10, 30, 120, 360 min., urmat de răcirea și măsurarea turbidității fiecărei probe după 1, 2, 3, 4, 5h distanță de încheierea tratamentului. Metoda testului rapid la cald prevede tratarea termică în baie cu apă la temperatură constantă de 80°C, timp de 30 minute, apoi răcirea și măsurarea turbidității fiecărei probe după 45 minute de la încheierea testului. Testul expres Protocheck constă în măsurarea inițială a turbidității (T_1), adăugarea probei de analizat la volumul kitului, omogenizarea uniformă a lui și măsurarea turbidității dezvoltate (T_2).

Tratamentul de deproteinizare cu bentonită a prevăzut prepararea suspensiei de bentonită de concentrație 5% din bentonită granulară Kolirex CP (Dal Cin, Italia) prin dizolvare în apă distilată. Suspensia obținută a fost menținută 30 min în repaos pentru gonflare, apoi administrată. Tratamentul cu ZrO_2 se rezumă la cântărirea sorbentului sub formă de pulbere, adăugarea acesteia direct în probele de analizat și încorporarea lui cu o baghetă de sticlă.

Toate măsurările au fost triplicate, pentru calcule fiind luate valorile medii dintre cele 3 măsurări paralele.

Pentru realizarea practică a experimentelor au fost utilizate următoarele utilajele și aparate: etuvă cu stabilirea digitală a temperaturii Drying oven SLN 53 SIMPLE, +5...+250°C; cuptor de calcinare SNOL 3/1000 LHM01, 3 litri, +10...+1100°C; baie de apă cu agitare Stuart SBS 40, 24 litri, +5...+95°C; spectrofotometru SPECTROCORD 250 PLUS, 190–1100 nm; centrifugă Hettich EBA 21, 18 000 rpm; turbidimetru WTW Turb 355 IR, NTU 0...10000.

Rezultate și discuții

Astfel cum avem nevoie de testul cel mai relevant și care oferă cea mai veridică informație, ținând cont de faptul că denaturarea proteinelor se desfășoară sub influența căldurii, am considerat mai veridice decât alte teste, testele la temperatură (în baie și în etuvă).

Testul la cald în etuvă, a avut 4 programe de încălzire. Din graficul reprezentat se poate remarca faptul că turbiditatea probelor crește cu mărirea perioadei de menținere la cald, moment condiționat de proprietățile proteinelor supuse șocului termic de a nu forma turbureli instantaneu, ci pe parcursul tratamentului. Din acest motiv se recomandă aplicarea unor condiții mai aspre de tratare, în vederea identificării potențialului real existent de denaturare a proteinelor.

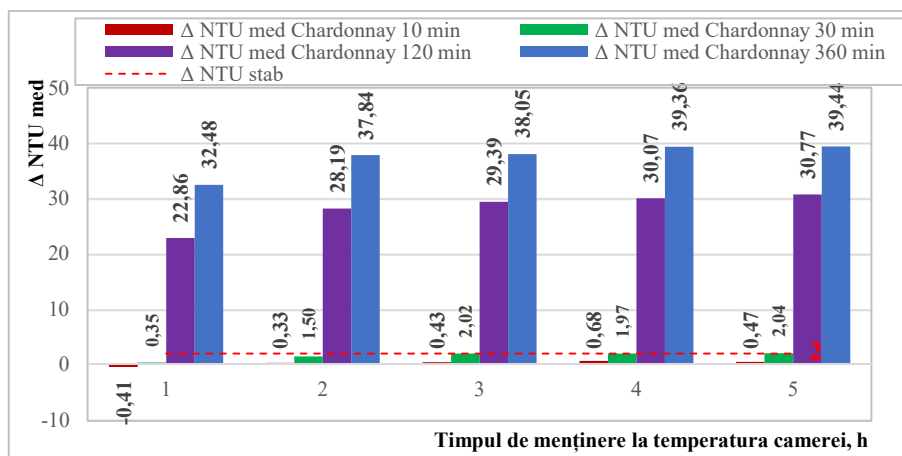


Figura 1. Dependența turbidității vinului Chardonnay în funcție de perioada de încălzire și cea de răcire a probelor

Pentru a fi testată stabilitatea vinului, proteinele termoinstabile trebuie să fie excitate și activate prin încălzire experimentală în baia cu apă, care asigură o încălzire mai uniformă a conținutului eprubetelor față de încălzirea cu aer cald – aceasta mai greu se încălzește, în schimb, își menține mai bine temperatura constantă. Acest fapt este demonstrat de turbiditățile obținute la testarea probelor, expuse în Fig. 2, care exteriorizează predispoziția vinului la casarea proteică într-un timp mai scurt și cu eforturi mai mici.

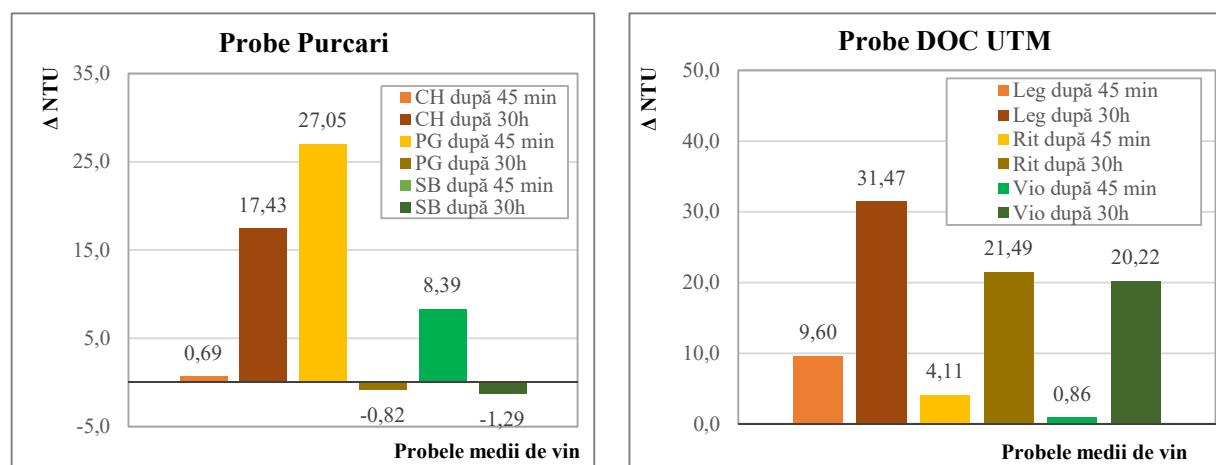


Figura 2. Turbiditatea probelor de vin încălzite în baie de apă, $t = 80^{\circ}\text{C}$, $\tau_{\text{măs.1}} = 30\text{min}$, $\tau_{\text{măs.2}} = 45\text{min}$, $\tau_{\text{măs.3}} = 30\text{h}$.

În baza rezultatelor oferite de testul în baie s-au calculat dozele de bentonită granulară Kolirex CP utilizată în tratările experimentale. Dozele de bentonită folosite au fost subestimate, iar probabilitate casării proteice nu a fost înlăturată pentru 5 din 6 probe. Rezultatele măsurărilor arată că doar doza cea mai mare de bentonită aplicată în tratarea vinului Chardonnay oferă stabilitate vinului. În acest sens, ar fi necesar ca vinurile să fie tratate cu o doză mai mare de bentonită pentru a ajunge la pragul de stabilitate a vinului ($\Delta\text{NTU} \leq 2$). Paralel, pentru toate tratările a fost studiat ce se întâmplă cu complexul fenolic prin analiza spectrofotometrică.

Oxidul de Zr (IV) - adsorbantul sub formă de pulbere prezintă alternativa pentru bentonită. Folosit în cadrul experimentelor sub formă de pulbere cu puritate chimică 99%, în doze de 5g/l, 15g/l și 25g/l, a dovedit o stabilizare foarte bună a probelor. Pentru a evita anumite erori, probele tratate au fost testate în baia cu apă, iar rezultatele obținute nu prezintă diferențe esențiale, respective statutul probelor analizate rămâne a fi - stabile proteic.

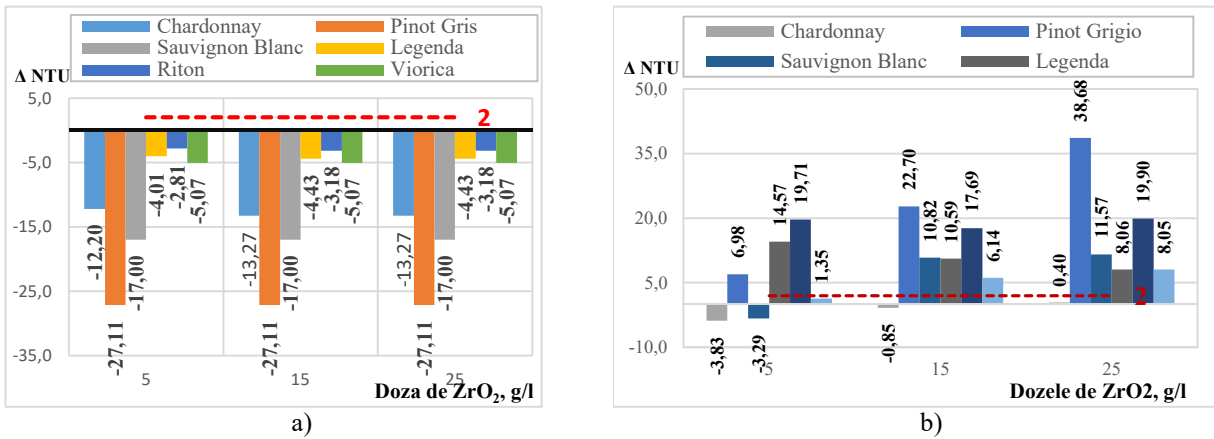


Figura 3. Dependența turbidității probelor în funcție de dozele de ZrO₂ administrate. Măsurări înregistrate a) după 5 zile de la tratament, b) după tratarea în baie cu apă (t=80°C, τ=30min) și menținerea 45min. în repaus

Diferențele de turbiditate înainte și după tratarea cu ZrO₂ și testarea în baie arată că dozele de sorbent necesar au fost depășite și doar în cazul probelor de Viorica doza 5g/l este insuficientă, iar cea de 15 g/l deja este prea mare. În acest caz s-ar putea cerceta care ar putea fi doza optimală din intervalul 5...15 g/l pentru stabiliza vinul din punct de vedere proteic fără a consuma cantități mari de sorbent. Pentru celelalte probe de vin – Chardonnay, Pinot Grigio, Sauvignon Blanc; Legenda și Riton, implicit apare necesitatea precăutării dozelor individuale de ZrO₂, mai mici de 5 g/l, care să ofere stabilitate vinului fără consum mare (și inutil) de sorbent.

În ceea ce privește complexul fenolic, studiat prin analiza spectrofotometrică UV-VIS, aspectul curbei (din Fig. 4) este obținută prin diferența între spectrul inițial și spectrul după tratamentul probei Chardonnay, denotă eliminarea de către ZrO₂ a proteinelor și a unor concentrații de substanțe fenolice care erau legate de proteine.

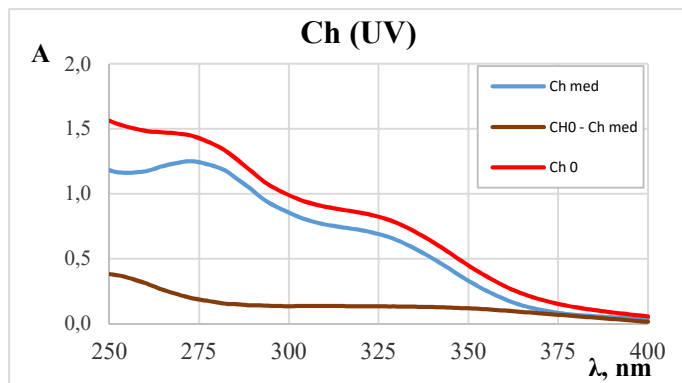


Figura 4. Spectrul de absorbție în UV a probei de) Chardonnay netratat, Chardonnay tratat cu ZrO₂, spectrul diferenței. L=10mm, Diluția = 10 ori

Ne-am convins că, comparativ cu tratamentul cu doze exagerate de bentonită, dozele mari de ZrO₂ utilizate nu generează probleme, deoarece în afară de proteine, ele practic nu elimină nimic altceva, cu atât mai mult că sedimentele formate pot fi izolate, recuperate, ZrO₂ din componența lor poate fi regenerat prin spălarea cu produse chimice sau prin tratarea termică.

Regenerarea sedimentelor de ZrO₂ a fost efectuată într-un cuptor de calcinare la 1000°C timp de o oră. Exploatarea proprietăților de adsorbție a oxidului de Zr regenerat s-a efectuat prin tratarea aceluiași probe de vin cu doza de 25 g/l și studierea lor. Fig. 5 demonstrează și confirmă datele bibliografice că eficiența Zr-ului după regenerare rămâne aceeași, pe alocuri prezentând efect mai bun față de tratamentul inițial cu aceeași doză, apt care îi permite pe bună dreptate să înlocuiască tradiționala bentonită și să fie inclus în scheme de stabilizare proteică în flux continuu.

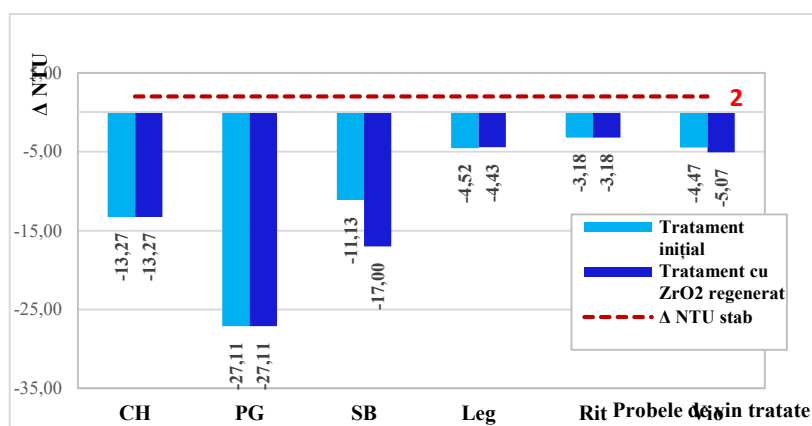


Figura 5. Diferențele de turbiditate a probelor de vin tratate cu ZrO₂ și cu ZrO₂ regenerat.

Concluzii

Instabilitatea proteinelor din vinuri este un fenomen multifactorial, iar tehnologiile de stabilizare proteică au nevoie de cunoștințe detaliate despre matricea vinului care urmează a fi tratat, despre cantitatea de proteine instabile prezentă în mediul vinului dar și interacțiunile acestora cu diverși compuși ai vinului. Deoarece, multitudinea de teste care identifică gradul de instabilitate a vinurilor nu oferă rezultate univoce, aplicarea unui sau altui test trebuie să fie condiționată de „soarta” ulterioară a vinului-condițiile de transportare (timp, temperatură, agitare), stocare, comercializare.

S-a dovedit că deproteinizarea vinurilor cu bentonită rămâne a fi un tratament care sărăcește vinul din punct de vedere organoleptic prin reduceri importante ale substanțelor fenolice, în timp ce ZrO₂ demonstrează capacitate de acțiune la nivel molecular și neutralitate față de complexul fenolic. Pe lângă aceasta sedimentele obținute de la tratarea cu ZrO₂ au fost colectate și regenerate prin combustia materiei organice. Regenerat, ZrO₂ a demonstrat aceeași eficiență deproteinizantă – argument forte pentru integrarea tratamentului vinurilor albe cu ZrO₂ în scheme tehnologice în flux cu recuperarea sorbentului.

Referințe

- MARANGON, M. New tools for white wine protein stabilization. ACENOLOGIA, 31.10.2017.
- MARANGON, M., VAN SLYTER, S. C., WATERS, E. J., MENZ, R. I. (2014). Structure of Haze Forming Proteins in White Wines: Vitis vinifera Thaumatin Like Proteins. PLoS ONE 9.
- CELOTTI, E., SALVIAN, J., FERRARETTO, P. (2015). Test di stabilità proteica a confronti. L'Enologo. 10, 79-85.
- TOLEDO, L. N., SALAZAR, F. N. AQUINO, A.J.A. A theoretical approach for understanding the haze phenomenon in bottled white wines at molecular level, S. Afr. J. Enol. Vitic. vol.38 n.1 Stellenbosch 2017
- LEE, T. (1986). Protein instability: nature, characterization and removal by bentonite.
- SALAZAR, G. FERNANDO, N. (2007). PhD Thesis. White wine continuous protein stabilisation. Taragona, Spain.
- COSME, F., FERNANDES, C., RIBEIRO, T., FILIPE-RIBEIRO, L., NUNES FERNANDO, M. (2020). White Wine Protein Instability: Mechanism, Quality Control and Tevhnological Alternatives for Wine Stabilisation-An Overview. Beverages, 6, 19.
- SALAZAR, F. N., ZAMORA, F., CANALS, J. M., LOPEZ, F. (2010). Protein stabilization in sparkling base wine using zirconia and bentonite: influence on the foam parameters and protein fractions. J.Int. Sci. Vigne Vin. 6, 51-58.
- PASHOVA, V., GUELL, C., LÓPEZ, F. (2004). White wine continuous protein stabilization by Packed Column. J. Agric. Food Chem. 52, 1558–1563.