IVES Technical Reviews
vinha & vinho

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2021.4661

# Não *Saccharomyces* como instrumento para modular a qualidade do vinho e estimular a fermentação malolática

Extraído do artigo de investigação "Impact of changes in wine composition produced by non-*Saccharomyces* on malolactic fermentation" (International Journal of Food Microbiology, 2021)[1].

**>>> Estudos recentes com leveduras não *Saccharomyces* promovem a sua utilização como inóculos na fermentação alcoólica do vinho, juntamente com a *S. cerevisiae*. A utilização destas leveduras não convencionais pode modular o perfil organolético dos vinhos. No entanto, não é claro como irão modular os vinhos em conjunção com a *Oenococcus oeni* após a fermentação malolática. Neste artigo, discutimos as principais consequências enológicas destas interações e o modo como a fermentação malolática pode ser estimulada utilizando algumas destas leveduras não *Saccharomyces*. <<<**

## ■ Contexto enológico atual

A indústria vitivinícola deve responder às atuais tendências dos requisitos dos consumidores, tais como a melhoria da complexidade aromática, que leva à diferenciação do vinho. Neste sentido, a utilização de leveduras não convencionais durante a fermentação alcoólica (FA) é uma possível abordagem para diferenciar os vinhos. As leveduras envolvidas nas primeiras fases da FA (ou seja, levedura não *Saccharomyces*) podem modular o perfil organolético dos vinhos.

A utilização de leveduras não *Saccharomyces* centra-se, principalmente, em algumas espécies, tais como a *Torulaspora delbrueckii* ou a *Metschnikowia pulcherrima*, que são fornecidas sob a forma de inóculos por empresas de enologia. Estas leveduras estão relacionadas com a modulação química do vinho em termos de libertação de aroma, diminuição da concentração de etanol e aumento da concentração de glicerol e manoproteínas. As estirpes comerciais de outras espécies (ou seja, a *Lachancea thermotolerans*, a *Pichia kluyveri* e a *Schizosaccharomyces pombe*) foram também associadas a alguns destes efeitos. Além disso, algumas espécies/estirpes não *Saccharomyces* podem desempenhar um papel de bioproteção contra microrganismos deteriorantes[2].

Curiosamente, algumas alterações químicas causadas por estas leveduras não *Saccharomyces* estão ligadas à mitigação das condições difíceis presentes no vinho para o desenvolvimento da fermentação malolática (FML)[3, 4].

A FML consiste na descarboxilação do ácido L-málico em ácido L-lático, sendo a principal espécie envolvida a bactéria do ácido lático *Oenococcus oeni*. A FML está relacionada com uma melhoria na qualidade do vinho, uma vez que esta biotransformação conduz a um aumento do pH, à melhoria das propriedades organoléticas e à estabilização microbiana[5]. Geralmente, a FML tem lugar após a FA, pelo que é altamente afetada pelo metabolismo das leveduras de fermentação anteriores; consequentemente, a inoculação de certas leveduras terá um grande impacto sobre o desenvolvimento da FML[6].

A *S. cerevisiae* é, normalmente, aplicada como inóculo para ser submetida a FA; portanto, qualquer alteração na levedura utilizada afetará, de alguma forma, o desempenho da FML. Assim, mesmo que sejam introduzidas melhorias no perfil organolético do vinho após a FA, é necessário considerar outras alterações que afetem a FML. Entre as diferentes espécies de não *Saccharomyces*, a *T. delbrueckii* e a *M. pulcherrima* demonstram os resultados mais promissores em termos de qualidade global do vinho[4].

Neste estudo[1], avaliámos o efeito da utilização das estirpes *T. delbrueckii* e *M. pulcherrima* na FML, no contexto da produção de vinho branco (Macabeo) e tinto (Cabernet Sauvignon). Foram utilizadas não *Saccharomyces* em inoculação sequencial com *S. cerevisiae* (após 48 h). A seleção desta estratégia de inoculação baseou-se nos resultados de um estudo anterior[6] que demonstrou mudanças mais relevantes na composição do vinho, devido a estirpes não *Saccharomyces*, ao utilizar este intervalo de tempo de inoculação.

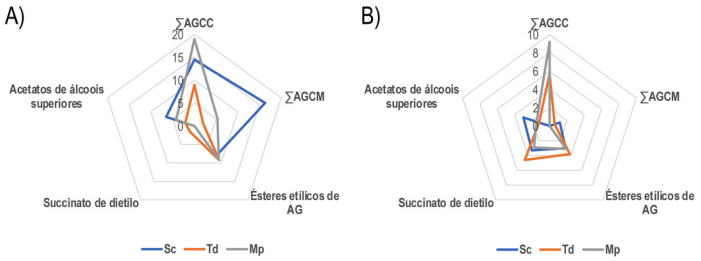



**Figura 1.** Concentrações de compostos voláteis do vinho (mg/L) após FA, agrupadas por famílias de compostos. A) Vinhos Macabeo. B) Vinhos Cabernet Sauvignon. ∑, Soma; AGCC (ácidos propiónico, butírico e valérico), AGCM (ácidos hexanoico, octanoico e decanoico), ésteres etílicos de AG (hexanoato de etilo, octanoato de etilo, dodecanoato de etilo), álcoois superiores (isobutanol, 1-butanol, 3-metil-1-butanol, 1-hexanol, cis-3-hexen-1-ol, 2-feniletanol, álcool benzílico), acetatos de álcoois superiores (isobutilo, isoamilo, hexilo e 2-feniletanol). Sc, Td e Mp correspondem a vinhos fermentados com *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii- S. cerevisiae* e *M. pulcherrima-S. cerevisiae*, respetivamente. Os valores apresentados são a média dos triplicados dos compostos com diferenças estatísticas.

## ■ O que é que a *T. delbrueckii* e *M. pulcherrima* podem fazer pela *O. oeni*?

Geralmente, podem reduzir a concentração de compostos relacionados com um efeito inibidor sobre a *O. oeni*. Nos vinhos obtidos a partir destas duas leveduras não *Saccharomyces*, observou-se uma redução dos ácidos gordos de cadeia média (AGCM) (Figura 1).

A preparação e o lançamento de Revisões Técnicas da IVES (IVES Technical Reviews) são apoiados pelo LabEx COTE através dos seus concursos para projetos de Transferência e valorização.

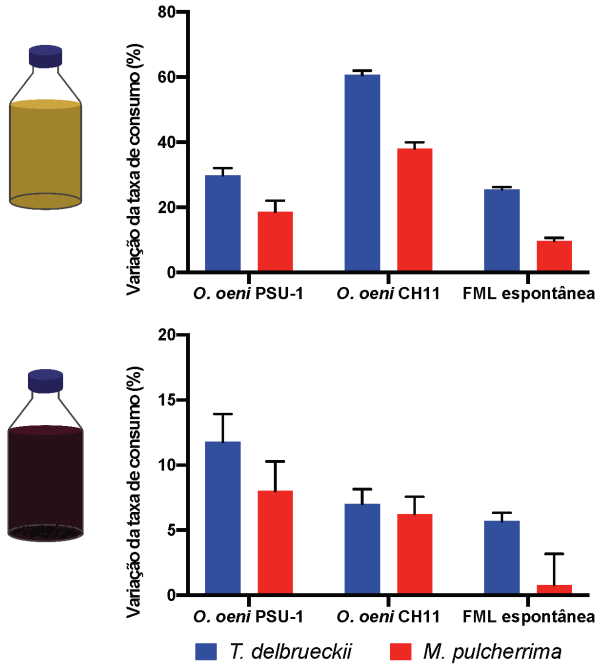



**Figura 2.** Percentagem de aumento da taxa de consumo de ácido L-málico durante a FML. A) Vinhos Macabeo. B) Vinhos Cabernet Sauvignon. Os valores representam o aumento (%) da taxa de consumo em cada FML de vinhos fermentados com leveduras não *Saccharomyces*, relativamente ao vinho de controlo, fermentado com *S. cerevisiae*.

Estes compostos podem limitar o crescimento da *O. oeni* e até diminuir o consumo de ácido L-málico[3]. Além disso, obteve-se uma redução significativa, de 0,5 % (vol/vol), no teor de etanol dos vinhos C. Sauvignon fermentados com *M. pulcherrima*.

Estes dois compostos, juntamente com o dióxido de enxofre, são os mais tóxicos para a *O. oeni* presente no vinho. O dióxido de enxofre pode ser adicionado exogenamente, e também produzido por leveduras durante a FA. A este respeito, os vinhos fermentados com *T. delbrueckii* apresentavam uma concentração total de $SO_2$ inferior (uma redução superior a 50 %) à dos vinhos fermentados com *S. cerevisiae* – ainda que nem todas as condições estudadas tenham atingido o limite de concentração admissível para estirpes de *O. oeni* inoculadas.

## ■ Então e o perfil organolético?

O aroma dos vinhos após a FA foi extremamente influenciado pela utilização de não *Saccharomyces*. O perfil volátil dependia da estratégia de inoculação, através da qual o recurso a não *Saccharomyces* levou ao aumento da concentração e do tipo de aromas (Figura 1). Após a FML, os vinhos foram homogeneizados em termos da estratégia de FML. A FML espontânea na produção de vinho branco resultou, assim, no menor perfil de aroma, ao passo que, na produção de vinho tinto, deu origem aos vinhos mais aromáticos.

Além disso, a utilização de não *Saccharomyces* contribuiu, de certa forma, para a extração polifenólica e aumentou a concentração de antocianinas nos vinhos tintos, com valores que vão desde 388 mg/L, em vinhos fermentados com *S. cerevisiae*, a 451 e 426 mg/L, em vinhos fermentados com *T. delbrueckii* e *M. pulcherrima* respetivamente.

## ■ Então, podemos promover a FML com a utilização de não *Saccharomyces*?

O vinho é composto por um ambiente microbiano complexo em que os nutrientes são muito limitados. Nestas condições de stress, a redução dos compostos inibidores que afetam diretamente a *O. oeni* pode estimular a FML. Por conseguinte, os vinhos fermentados com leveduras não *Saccharomyces* registavam uma taxa superior de consumo de ácido L-málico (g/L de ácido L-málico por dia) do que os vinhos fermentados com *S. cerevisiae* (Figura 2). Em especial, os vinhos fermentados com *T. delbrueckii* exibiram as condições mais favoráveis ao desempenho da FML, o que se refletiu na rapidez da respetiva FML. Além disso, esta levedura promoveu a diversidade da *O. oeni*, que pode ser útil caso se pretenda uma FML espontânea.

Podemos, deste modo, concluir que a *M. pulcherrima* e, em especial, a *T. delbrueckii* parecem promover a FML. Muitos compostos estão relacionados com este efeito estimulante; alguns são conhecidos, mas ainda há trabalho a fazer neste campo para desvendar o quadro completo das interações entre as leveduras de vinho e a *O. oeni*. Além disso, uma vez que muitas das alterações metabólicas dependem da estirpe, a compatibilidade entre as estirpes da levedura e da bactéria é um fator-chave para obter resultados bem-sucedidos. ■

***Agradecimentos.*** *Este trabalho foi apoiado pelas subvenções AGL2015-70378-R e PGC2018-101852-B-I00, atribuídas pela Agência Estatal de Investigação espanhola. Aitor Balmaseda agradece a bolsa de pré-doutoramento concedida pelo Governo Catalão (2018FI_B 00501).*

*Aitor Balmaseda[1], Alba Martín-García[1], Miguel Ángel Leal[1], Nicolas Rozès[2], Albert Bordons[1], Cristina Reguant[1]*

1 Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Grup de Biotecnologia Enològica, C/ Marcel.lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

2 Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, C/ Marcel.lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

**1** Balmaseda, A., Rozès, N., Leal, M.A., Bordons, A., & Reguant, C. (2021). Impact of changes in wine composition produced by non-*Saccharomyces* on malolactic fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 337. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108954

**2** Jolly, N., Augustyn, O., & Pretorius, I. (2006). The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27(1), 15–38.

**3** Balmaseda, A., Bordons, A., Reguant, C., & Bautista-Gallego, J. (2018). Non-*Saccharomyces* in Wine: Effect Upon *Oenococcus oeni* and Malolactic Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 9(March), 534. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00534

**4** Ferrando, N., Araque, I., Ortís, A., Thornes, G., Bautista-Gallego, J., Bordons, A., & Reguant, C. (2020) Evaluating the effect of using non-*Saccharomyces* on *Oenococcus oeni* and wine malolactic fermentation. *Food Research International,* 138. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108954

**5** Lonvaud-Funel, A. (1999). Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. Antonie van Leeuwenhoek, *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 76(1–4), 317–331. https://doi.org/10.1023/A:1002088931106

**6** Martín-García, A., Balmaseda, A., Bordons, A., & Reguant, C. (2020) Effect of the inoculation strategy of non-*Saccharomyces* yeasts on wine malolactic fermentation. *Oeno One* 54, 1, 101-108. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54.1.2906