IVES Technical Reviews
vinha & vinho

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2023.7868

Não, a *Brettanomyces bruxellensis* não é responsável por todos os males!

Pierre Moulis[1,2], Cécile Miot-Sertier[1], Céline Franc[1], Laurent Riquier[1], Stéphanie Marchand[1], Gilles de Revel[1], Doris Rauhut[2], Patricia Ballestra[1]

[1] Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, UMR 1366, OENO, ISVV, F-33882 Villenave d'Ornon, France

[2] Department of Microbiology and Biochemistry, Hochschule Geisenheim University, 65366 Geisenheim, Germany

Nos vinhos, os aromas a bolacha de arroz e a pele de chouriço estão geralmente associados à alteração do «cheiro a rato». São um desvio crescente em certos vinhos. O trabalho apresentado permitiu isolar os microrganismos presentes em 25 vinhos alterados. Foram identificadas leveduras de deterioração *Brettanomyces bruxellensis*, bem como bactérias do ácido láctico das espécies *Oenococcus oeni* e *Lentilactobacillus hilgardii*. Além disso, foi verificada a sua capacidade de produzir N- heterocíclicos responsáveis pelo cheiro a rato. A *B. bruxellensis* é encontrada apenas numa minoria de vinhos alterados pelo cheiro a rato.

Introdução

O defeito do «cheiro a rato» é caracterizado por aromas que variam desde «arroz basmati» a «urina de rato» e «pele de chouriço». Só é percetível por via retro nasal, por razões de baixa volatilidade dos compostos, responsáveis pela alteração do pH do vinho[1]. Este último pode ser produzido por bactérias do ácido láctico como a *Lentilactobacillus hilgardii* e a *Oenococcus oeni*, bem como pela levedura *Brettanomyces bruxellensis*, já conhecida pela produção do carácter fenólico em vinhos[2] [3]. De maneira geral, esta levedura é muitas vezes culpada pelo defeito, mas será que a sua incidência é tão importante como supomos? Finalmente, muito poucos estudos se concentraram na diversidade microbiana dos vinhos afetados pelo «cheiro a rato». Este trabalho centra-se, portanto, na identificação dos microrganismos presentes em 25 vinhos alterados, e no estudo da sua capacidade de produzir alteração num ambiente modelo.

Resultados

Um conjunto de 353 isolados microbianos foram destacados a partir de 25 vinhos com um defeito de «cheiro a rato». Estes diferentes microrganismos foram identificados pelo MALDI-TOF MS. Entre as leveduras, 101 isolados revelaram a presença de 4 espécies: *B. bruxellensis*, *Pichia manshurica*, *Priceomyces* carsonii e Saccharomyces *cerevisiae*. Dos 252 isolados de bactérias do ácido láctico, 3 espécies foram identificadas: *O. oeni*, *L. hilgardii* e *Pediococcus parvulus*. As frequências das espécies identificadas são apresentadas na Figura 1.

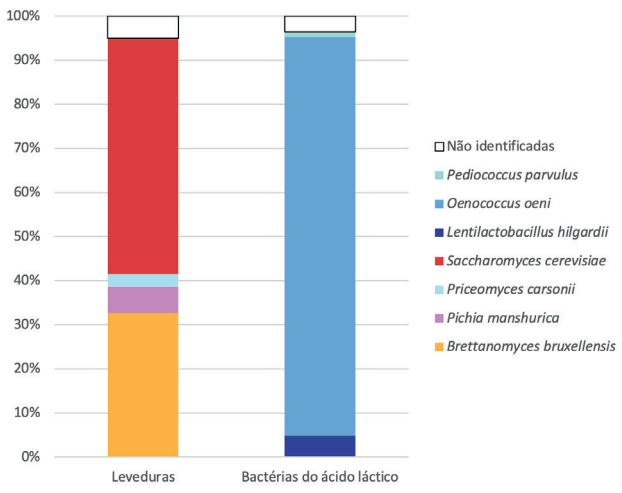


FIGURA 1. Espécies microbianas identificadas entre os isolados dos 25 vinhos alterados[4]

A capacidade de produção do «cheiro a rato» destes diferentes isolados de microrganismos foi avaliada num ambiente modelo *N*HAM (meio que contém todos os precursores conhecidos até à data para a produção de *N*-heterocíclicos). A esta capacidade, seguiu-se a determinação dos três compostos *N*-heterocíclicos conhecidos por serem responsáveis pela alteração do «cheiro a rato», nomeadamente a acetilpirrolina (APY), a etiltetrahidropiridina (ETHP) e a acetiltetrahidropiridina (ATHP)[5]. Apenas 53 isolados foram capazes de produzir a alteração, 13 de *B. bruxellensis*, 3 de *L. hilgardii* e 37 de *O. oeni*, representando 100% dos isolados testados destas espécies. O estudo foi então alargado a 22 estirpes de *B. bruxellensis*, 20 estirpes de *O. oeni* e 10 estirpes de *L. hilgardii* provenientes de diferentes recolhas (fornecidas pelo CRBO (Bordéus, França), laboratório GMGM (Estrasburgo, França), AWRI (Adelaide, Austrália) e DSM (Braunschweig, Alemanha)). O objetivo foi determinar a variabilidade no nível de produção dos três compostos *N*-heterocíclicos.

Os resultados são apresentados na Figura 2. Todas as estirpes testadas produziram pelo menos 2 destes compostos. As estirpes de *B. bruxellensis* produziram ATHP e ETHP. As bactérias do ácido láctico, por outro lado, tiveram tendência a produzir principalmente APY e ATHP. Observamos diferenças no nível de produção dos três compostos entre estirpes dentro da mesma espécie, mas não foi possível estabelecer qualquer ligação entre a tipagem genética das estirpes testadas, e a sua capacidade de produzir as moléculas de «cheiro a rato» sob condições padronizadas (ambiente *NHAM*).

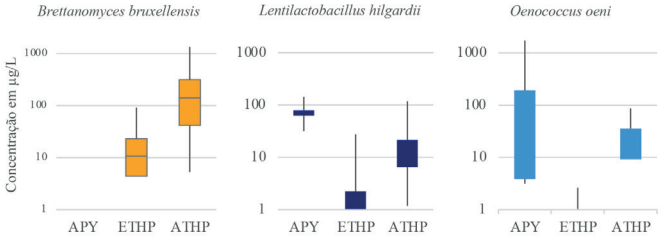


FIGURA 2. Compostos de alteração em µg/ L produzidos em ambiente modelo por estirpes de recolha[4].

Estas três espécies produtoras foram detetadas apenas em alguns vinhos estudados. A sua prevalência é apresentada na Figura 3. A *O. oeni* está presente em 84% dos vinhos, enquanto a *B. bruxellensis* e a *L. hilgardii* estão presentes em apenas 20% e 12% dos vinhos, respetivamente. Para 2 destes vinhos, nenhum microrganismo pertencente às 3 espécies pôde ser isolado. Curiosamente, um deles não continha microrganismos. A falta de informação obtida sobre estes vinhos não exclui a possibilidade de filtração prévia à amostragem.

A tradução deste artigo para português foi-lhe oferecida pela Sogrape. Consulte https://sogrape.com/pt/sustentabilidade

Por outro lado, o segundo continha outros microrganismos, como *Saccharomyces cerevisiae*. A possibilidade de que a alteração tenha sido produzida por algo que não estas 3 espécies permanece uma hipótese de trabalho.

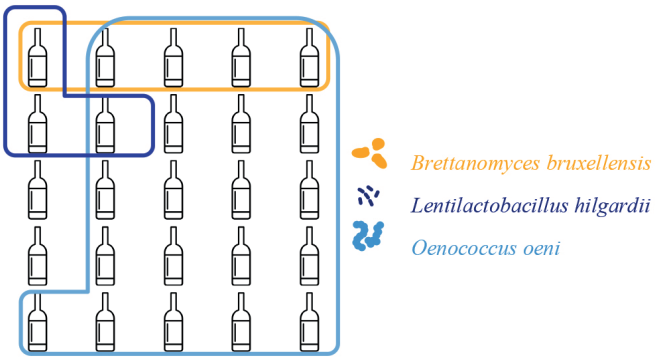


FIGURA 3. Prevalência das espécies isoladas de 25 vinhos alterados[4].

Outro estudo realizado no Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV, Villenave d'Ornon, França)[6], relativo ao desenvolvimento de um método de medição de *N*-heterocíclico, responsáveis pela alteração dos vinhos, centrou-se na quantificação destes 3 compostos em 62 vinhos defeituosos. Cada vinho analisado continha pelo menos um dos 3 compostos. Paralelamente aos *N*-heterocíclicos, foram testados o 4-etilfenol e o 4-etilguaiacol, responsáveis pelo caráter fenólico produzido por *B. bruxellensis*. Dos 62 vinhos alterados, apenas 8 tinham quantidades significativas de fenóis voláteis (acima dos limites de quantificação), ou seja, 12,9% dos vinhos. A ausência de compostos fenólicos na maioria dos vinhos afetados pelo cheiro a rato sugere que não existe ligação entre as duas alterações.

Conclusão

O objetivo deste estudo foi determinar a diversidade de microrganismos em vinhos alterados por «cheiro a rato» e avaliar sua capacidade de produção num meio modelo. A maioria dos microrganismos isolados de vinhos defeituosos pertencia às espécies *O. oeni*, *B. bruxellensis* e *S. cerevisiae*. Das 4 espécies de leveduras isoladas, apenas *B. bruxellensis* mostrou a capacidade de produzir alteração num meio modelo. Da mesma forma, apenas *O. oeni* e *L. hilgardii* têm esta capacidade entre as 3 espécies de bactérias do ácido láctico isoladas. Na maioria dos vinhos (16/ 25 vinhos), a única espécie microbiana encontrada e com a capacidade de produzir o defeito foi *O. oeni*. Por outro lado, *B. bruxellensis*, frequentemente associada à alteração, encontra-se em menos de 20% dos vinhos defeituosos. ■

Agradecimentos: *Esta investigação foi financiada no âmbito da Aliança Internacional de Projetos Bordéus-Adelaide-Geisenheim (BAG), através do Colégio Doutoral Franco-Alemão CDFA-03-18, da Região Nouvelle-Aquitaine e do Land de Hesse.*

1 Tempère, S., Chatelet, B., de Revel, G., Dufoir, M., Denat, M., Ramonet, P.-Y., Marchand, S., Sadoudi, M., Richard, N., Lucas, P., Miot-Sertier, C., Claisse, O., Riquier, L., Perello, M.-C., & Ballestra, P. (2019). Comparison between standardized sensory methods used to evaluate the mousy off-flavor in red wine. *OENO One, 53*(2). https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.2.2350

2 Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J., & Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 60*(2), 165–178. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600205

3 Peynaud, E., & Domercq, S. (1956). *Brettanyomyces* isolated from grapes and wine. Archiv Fur Mikrobiologie, 24(3), 266–280. https://doi-org.docelec.u-bordeaux.fr/10.1007/BF00419012

4 Moulis, P., Miot-Sertier, C., Cordazzo, L., Claisse, O., Franc, C., Riquier, L., Albertin, W., Marchand, S., De Revel, G., Rauhut, D., & Ballestra, P. (2023). Which microorganisms contribute to mousy off-flavour in our wines? *OENO One, 57*(2), 177–187. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.2.7481

5 Snowdon, E. M., Bowyer, M. C., Grbin, P., & Bowyer, P. K. (2006). Mousy off-flavor: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(18), 6465–6474. https://doi.org/10.1021/jf0528613

6 Kiyomichi, D., Franc, C., Moulis, P., Riquier, L., Ballestra, P., Marchand, S., Tempère, S., & de Revel, G. (2023). Investigation into mousy off-flavor in wine using gas chromatography-mass spectrometry with stir bar sorptive extraction. *Food Chemistry, 411*, 135454. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135454

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.