IVES Technical Reviews
vinha & vinho

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2024.8095

Aplicação de borras de vinho branco para promover o crescimento de bactérias do ácido láctico e a fermentação malolática no vinho

Aitor Balmaseda[1,2], Cécile Miot-Sertier[1], Georgia Lytra[1], Benjamin Poulain[1], Cristina Reguant[2], Patrick Lucas[1], Claudia Nioi[1]

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

[2] Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Grup de Biotecnologia Enològica, C/ Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

No contexto da transição ecológica, a utilização de subprodutos do vinho para aplicações industriais constitui um desafio importante. As borras de vinho, o segundo subproduto do vinho em termos de quantidade, são uma fonte de nutrientes que podem ser utilizados para estimular o crescimento de microrganismos. Aqui, as borras de vinho branco foram usadas como um agente estimulador para o crescimento de bactérias do acido láctico no vinho (LAB, do inglês: *lactic acid bacteria*) e para promover a fermentação malolática do vinho (MLF, do inglês: *malolactic fermentation*) no vinho tinto.

Contexto

Depois do bagaço de uva, as borras de vinho são o segundo subproduto vitivinícola mais importante em termos de quantidade, representando ambos 21% e 10% da massa total de massa gerada durante a vinificação, respetivamente. As borras de vinho são compostas principalmente por ácidos orgânicos, hidratos de carbono, sais inorgânicos, proteínas, compostos fenólicos, resíduos vegetais das uvas e biomassa de levedura, o que conduz a fermentação alcoólica (FA).

A complexa composição química das borras de vinho é uma fonte de múltiplos compostos de interesse para o desenvolvimento de novas estratégias de valorização. No contexto da produção de vinho, as borras de vinho são uma fonte potencial de nutrientes e compostos protetores para as bactérias do ácido láctico (LAB), que realizam fermentação malolática (MLF)[1]. *Oenococcus oeni*, e em menor grau *Lactiplantibacillus plantarum, são as principais espécies de LAB que impulsionam* a MLF. Na maioria das vezes, desenvolvem-se espontaneamente no vinho durante ou após a FA[2]. As LAB têm necessidades nutricionais complexas, que, combinadas com as condições adversas do vinho (pH baixo e teor alcoólico moderado a alto, ou mesmo baixa concentração de ácido L-málico), podem, por vezes, comprometer a obtenção da MLF. Embora o uso de uma seleção de culturas *starter* seja uma prática comum para melhorar o controlo da MLF, a sua inoculação no vinho pode reduzir sua viabilidade e impedir uma MLF bem-sucedida.

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial das borras de vinho branco para estimular o crescimento de LAB e a obtenção de MLF. Avaliamos também o risco de deterioração associado à adição de borras de vinho, analisando o seu impacto no crescimento de *Brettanomyces bruxellensis*, e o seu impacto nos compostos aromáticos.

Design experimental

Quatro espécies comerciais *de O. oeni* foram utilizadas neste estudo: VF, VP41, IOEB-SARCO 277 e IOEB-SARCO 450. Além disso, foram utilizadas três espécies de *B. bruxellensis* da coleção CRBO: CRBO L0611, CRBO L0422, CRBO L0424.

Três lotes de borras de vinho (referidas como borras 1, 2 e 3) de variedades brancas inoculadas com *S. cerevisiae* Zymaflore® CH9 foram coletadas durante a colheita de 2021, e outra (borra 4) foi coletada durante a colheita de 2022. Todas as uvas vieram de vinhedos de Bordéus, em França. As borras de vinho foram liofilizadas antes do uso.

Os estudos foram realizados em diferentes meios: meio de crescimento do mosto de uva, meio semelhante ao do vinho (WLM, do inglês: *wine-like medium*) e vinhos tintos naturais.

Detalhes do projeto experimental completo podem ser encontrados no artigo original[3].

Estimulação de bactérias do ácido láctico (LAB)

A utilização de borras de vinho como nutriente no desenvolvimento da biomassa microbiana é uma das alternativas de reciclagem propostas para este subproduto, principalmente devido aos compostos azotados libertados que são bastante baixos, no mosto de uvas.

Aqui, testamos borras de vinho branco liofilizadas como a única fonte de nutrientes (além do sumo de uvas tintas) num novo meio de baixo custo. Mostramos que o crescimento de *O. oeni* aumentou na presença de borras de vinho, independentemente da origem das borras de vinho (Figura 1).

Os nossos resultados podem estar relacionados ao aumento de substâncias nutritivas e protetoras causado pela adição de borras de vinho, o que, por sua vez, provavelmente se deve a um aumento das proteínas solúveis no vinho, relacionado à autólise de leveduras[4].

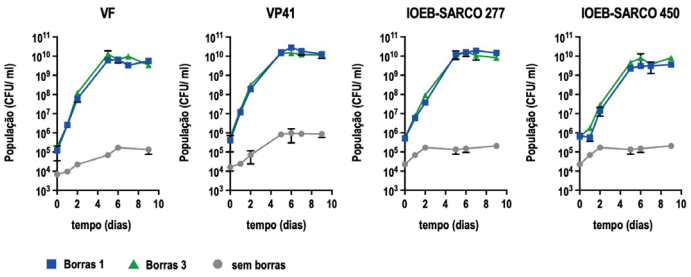


FIGURA 1. Crescimento de castas de *O. oeni* utilizando borras como nutriente no meio de cultura: o quadrado e o triângulo referem-se a 10 g/ l de borras 1 e borras 3, o círculo refere-se a nenhuma borra.

Borras de vinho melhoram o crescimento das LAB e a MLF

No nosso estudo, as borras de vinho branco liofilizadas foram usadas pela primeira vez para melhorar a MLF no vinho. Utilizando um regime de inoculação regular de 10^6 células/ ml de *O. oeni*, mostramos que o desempenho da MLF foi melhorado na presença de borras 1, com diferentes espécies no WLM (Figura 2A). Todas as estirpes completaram a MLF na presença ou ausência de borras de vinho no WLM, mas na presença de borras de vinho a cinética de crescimento das LAB melhorou. O efeito das borras de vinho sobre o WLM também foi testado em proporções de inoculação mais baixas: 10^2 e 10^4 células/ ml.

Os resultados mostraram que é possível reduzir a quantidade de cultura inicial necessária para inocular um vinho antes da MLF, principalmente quando se utiliza a maior concentração de borras de vinho testada (0,5 g/ l). Esta é uma aplicação promissora, uma vez que a duração da fermentação pode ser muito prolongada, mesmo que se conclua.

Além de testar o efeito da adição de borras de vinho ao WLM, também foram avaliadas fermentações num vinho tinto natural. Também aqui a adição de borras de vinho ao vinho tinto melhorou o desempenho da MLF. No vinho inoculado com 10^6 células/ ml, a MLF foi concluída em todas as condições de fermentação, inclusive nas condições de controlo sem adição de borras de vinho (Figura 2B). Geralmente, os três vinhos suplementados com borras de vinho em duas concentrações diferentes terminaram a MLF após 12 dias.

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

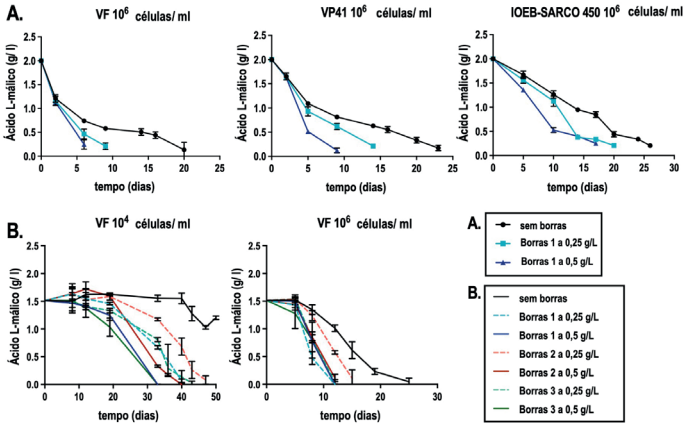


FIGURA 2. Desempenho da MLF na presença de borras de vinho. A) WLM com diferentes castas. B) Vinho tinto natural com ou sem inoculação.

Além disso, no vinho com 0,25 g/ l de borras 2, a MLF durou 15 dias, ou seja, um pouco mais do que noutros vinhos. Os vinhos inoculados com 10^4 células/ ml de *O. oeni* apresentaram tendência semelhante (Figura 2B). Os vinhos sem adição de borras de vinho não apresentaram MLF. Curiosamente, o efeito positivo na redução do tempo de MLF foi observado com todas as borras de vinho em ambas as condições de inoculação. Isto apoia a hipótese de que o efeito observado é dependente da dose, e depende da quantidade de borras de vinho adicionadas, como observado no WLM.

As borras 1 reduziram a MLF mais do que as borras 2, quando inoculadas a 0,5 g/ l (Figura 2.B). Isto pode estar relacionado com o fato de que, apesar de provirem do mesmo vinho, houve uma diferença de três meses entre as épocas de colheita das borras 1 e 2. Enquanto isso, 0,25 g/ l de borras 2 não concluíram a MLF. Isto indica que, durante o envelhecimento, a composição das borras de vinho recuperadas se altera, assim como o seu efeito na MLF. Este facto não é surpreendente, uma vez que as borras de levedura sofrem um processo autolítico no qual são libertados alguns compostos intracelulares e das membranas/ relacionados com a parede[4]. Podemos levantar a hipótese de que, durante a autólise, alguns dos compostos relacionados com o efeito positivo observado no crescimento de *O. oeni* foram libertados no vinho e, portanto, não estavam presentes nas borras de vinho recolhidas. Outra hipótese é que os compostos nutritivos utilizados pelas LAB sejam submetidos à lise. Portanto, os resultados indicam que o processo autolítico impacta as propriedades nutricionais das borras de vinho, ao utilizá-las como potenciador da MLF.

No geral, os resultados mostram que as borras de vinho melhoraram o crescimento de *O. oeni* e o desempenho da MLF no WLM (Figura 2A) e no vinho natural (Figura 2B). Além disso, permitiram a conclusão da MLF nos vinhos com baixa população bacteriana, nos quais a MLF não foi concluída quando as borras de vinho não foram adicionadas. A liofilização pode ser uma ferramenta adequada para preservar e armazenar borras de vinho; as borras congeladas também são mais fáceis de dosear quando comparadas com as borras líquidas de vinho fresco. As concentrações adicionadas de borras de vinho neste estudo foram de 0,25 g/ l e 0,5 g/ l, que correspondem a 25 g/ hl e 50 g/ hl, respetivamente. Estas concentrações são semelhantes às de outras preparações enológicas (também comercializadas sob a forma de pó) utilizadas como ativadores da FA ou da MLF, que variam entre 20 e 50 g/ hl. A utilização e concentrações de borras de vinho propostas neste estudo podem, portanto, ser facilmente adaptadas a uma aplicação industrial.

Impacto do tratamento de borras nos compostos voláteis do vinho

No final da MLF (em amostras de vinho com ou sem tratamento de borras de vinho) as concentrações de vários ésteres aumentaram significativamente dependendo da matriz. Algumas concentrações de ésteres aumentaram após a MLF devido ao metabolismo das LAB[5]. Além disso, outras também aumentaram significativamente em concentração em comparação com os do vinho sem adição de borras de vinho, por exemplo, 2-metilpropanoato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo e 3-metilbutanoato de etilo no Merlot e acetato de 2-metilpropil no Petit Verdot. Estes resultados sugerem que a adição de borras de vinho branco pode ter um impacto positivo nestes ésteres alquílicos de ácidos gordos de cadeia curta e ramificada, porque são conhecidos por contribuírem fortemente para aumentarem a perceção dos aromas frutados.

Impacto das borras no crescimento de *Brettanomyces bruxellensis*

O crescimento de B. bruxellensis no vinho pode reduzir a qualidade do vinho devido à produção resultante de fenóis voláteis[6]. Assim, foi importante abordar o efeito das borras de vinho no crescimento de *B. bruxellensis*. Dois vinhos pasteurizados diferentes com e sem adição de borras 1 e 4 foram inoculados com aproximadamente 10^2 - 10^3 UFC/ ml de três espécies de *B. bruxellensis*. Os resultados mostram que não promoveram o crescimento de *B. bruxellensis* no vinho (Figura 3).

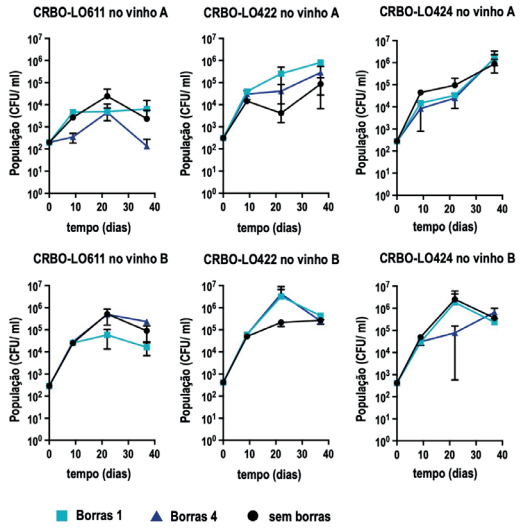


FIGURA 3. Crescimento de diferentes estirpes de *B. bruxellensis* em dois vinhos (A e B), sem borras (círculo), e na presença de 0,5 g/ l de borras (quadrado) 1 e borras 4 (triângulo).

Conclusão

Neste estudo integrativo de borras de vinho como ativadores de crescimento de LAB e da MLF no vinho, demonstramos que não há risco potencial de deterioração microbiana associada ao seu uso, e a qualidade aromática do vinho não é comprometida. Estes resultados fornecem uma primeira base para considerar a futura aplicação desta prática, sob a autorização da OIV e dos CDOs, que baseiam as suas decisões em evidência científica. ■

Agradecimento: *Os autores agradecem às adegas que forneceram as borras e vinhos neste estudo. Os autores agradecem ao projeto ANR (ANR-21-CE43-0003) pelo financiamento.*

Extraído do artigo de investigação "Application of white wine lees for promoting lactic acid bacteria growth and malolactic fermentation in wine" (International Journal Of Food Microbiology, 2024).

1 Balmaseda, A., Rozès, N., Bordons, A., & Reguant, C. (2021). Simulated lees of different yeast species modify the performance of malolactic fermentation by *Oenococcus oeni* in wine-like medium. *Food Microbiology, 99*, 103839. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103839

2 Lerm, E., Engelbrecht, L., & Du Toit, M. (2016). Malolactic Fermentation : The ABC's of MLF. *South African Journal Of Enology And Viticulture, 31*(2). https://doi.org/10.21548/31-2-1417

3 Balmaseda, A., Miot-Sertier, C., Lytra, G., Poulain, B., Reguant, C., Lucas, P., & Nioi, C. (2024). Application of white wine lees for promoting lactic acid bacteria growth and malolactic fermentation in wine. *International Journal Of Food Microbiology, 413*, 110583. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110583

4 Alexandre, H., & Guilloux-Bénatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine – a review. *Australian Journal Of Grape And Wine Research, 12*(2), 119127. https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00051.x

5 Lytra, G., Miot-Sertier, C., Moine, V., Coulon, J., & Barbe, J. (2020). Influence of must yeast-assimilable nitrogen content on fruity aroma variation during malolactic fermentation in red wine. *Food Research International, 135*, 109294. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109294

6 Lleixà, J., Martínez-Safont, M., Masneuf-Pomarède, I., Magani, M., Albertin, W., Mas, A., & Del Carmen Portillo Guisado, M. (2021). Genetic and phenotypic diversity of Brettanomyces bruxellensis isolates from ageing wines. *Food Bioscience, 40*, 100900. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100900

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