IVES Technical Reviews
vinha & vinho

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2025.8497

Vinificação em tubo de ensaio: uma metodologia para a análise enológica de alto rendimento de vinhos brancos obtidos a partir de uvas colhidas de videiras individuais

Patricia Claudel[✉1], **Vincent Dumas**[1], **Cécile Thibon**[2], **Gregory Lemarquis**[3], **Nathalie Jaegli**[1], **Ana Sivsivadzé**[1], **Raymonde Baltenweck**[1], **Philippe Hugueney**[1], **Éric Duchêne**[1]

[1] Université de Strasbourg, INRAE, UMR SVQV, 68000 Colmar, France,
[2] Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, Bordeaux INP, UMR ŒEnologie, ISVV, 33882 Villenave d'Ornon, France,
[3] INRAE, UEAV, 68000 Colmar, France

O aroma das uvas tem sido um fator chave na seleção de castas durante séculos[1] e continua a ser um determinante crucial da qualidade do vinho. No entanto, compreender apenas a composição das uvas não é suficiente para prever com precisão a qualidade e as características do vinho resultante. Embora inúmeros estudos tenham explorado a base genética da biossíntese dos compostos aromáticos das uvas[2], e apesar do crescente conhecimento sobre a composição do vinho, a base genética da diversidade de compostos aromáticos do vinho permanece relativamente inexplorada. Para investigar a relação entre a variação genética e os compostos aromáticos num grande número de genótipos de videiras, desenvolvemos um método de vinificação em tubo de ensaio (TTV) em pequena escala e alto rendimento para produzir vinhos brancos a partir de videiras individuais.

Contexto e objetivos do estudo

Os vinhos experimentais são tipicamente produzidos em garrafões de 10 a 25 litros, mas esta escala não é viável para estudos genéticos que envolvam centenas de genótipos. Assim sendo, é necessária uma metodologia simples e padronizada, que possa ser aplicada numa escala muito mais reduzida, permitindo uma análise enológica de vinhos brancos de alto rendimento. Para resolver esta questão, desenvolvemos um protocolo específico para a produção de vinhos brancos a partir de menos de 100 ml de mosto. Avaliamos o método TTV em castas comerciais e genótipos de uma progénie bi-parental, abrangendo uma ampla paleta aromática. Os vinhos foram analisados utilizando parâmetros enológicos padrão e perfil GC-MS de compostos voláteis.

Vinificação de vinho branco em pequena escala e alto rendimento

Foram colhidos entre 1 e 2,5 kg de uvas de uma seleção de castas comerciais (Riesling, Gewurztraminer, Chardonnay, Chasselas, Floreal e Muscat à Petits Grains Blancs – em português: Moscatel Galego Branco) bem como de quatro genótipos selecionados a partir da progénie de um cruzamento bi-parental entre Riesling e Gewurztraminer[3], representando uma ampla paleta aromática. Os mostos foram obtidos após prensagem dos bagos, utilizando uma Peneira Automática C80® (ROBOT COUPE SNC, Vincennes, França) e foram adicionados 6g de SO2/ hl antes da centrifugação (3500 rpm, 10 min). Após 24h de decantação a 10°C e trasfega, os mostos clarificados foram suplementados com i) mosto concentrado retificado, para obter uma concentração alcoólica final 12,5% e ii) fosfato de diamónio, para obter 200 mg/ l de azoto assimilável. Os mostos foram inoculados com a levedura Levulia® GC (AEB-France, Sigolsheim, França). O mosto de cada casta foi então distribuído em cinco tubos de 85 ml para a fase de fermentação, que foi realizada em ambiente com temperatura controlada a 22 °C (Figura 1). No final da fermentação, os vinhos obtidos foram estabilizados com 8g de SO2/ hl e armazenados numa câmara fria a 10 °C antes da análise.

Foi necessário um espaço 0,3 m² para realizar 50 TTVs. Duas pessoas executaram as operações de pré-fermentação, incluindo o desengace, esmagamento, extração do sumo, decantação e a adição de levedura. O processo de vinificação foi monitorizado por uma única pessoa.

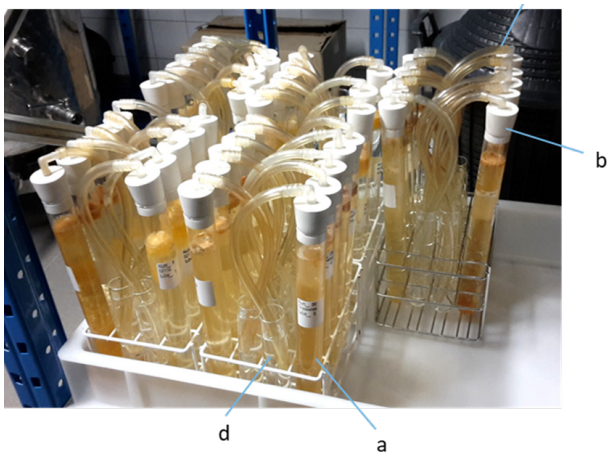


FIGURA 1. Configuração experimental de vinificação em tubo de ensaio. Foram transferidos 85 ml de mosto para tubos de vidro de 100 ml: a) selados com uma rolha de borracha, b) equipados com um tubo flexível para borbulhamento, c) cuja extremidade foi imersa num tubo com água (d) para prevenir a oxidação do vinho durante a fermentação.

TABELA 1. Médias ± desvios-padrão (n = 5, exceto Moscatel, n = 3) dos parâmetros enológicos dos vinhos obtidos por vinificação em tubo de ensaio (TTV).

Variedade ou genótipo	pH	Glucose + Frutose g/ l)	Álcool (% v/ v)
Chardonnay	3,30D* ± 0,02	1.44bcd ± 1.52	13,8 ^{ab} ± 0,25
Floreal	3.53b ± 0.02	0.44cd ± 0.31	12,6 ^{ab} ± 0,88
Gewurztraminer	3.65a ± 0.04	0,94cd ± 0,68	15,0 ^{a} ± 1,27
Riesling	2,82 g ± 0,02	4.42-A ± 2.28	13,0 ^{ab} ± 0,85
Chasselas	3.39C ± 0.02	0.30d ± 0.00	11,0 ^{b} ± 1,67
Muscat à petits grains blancs	3.03e ± 0.01	1.43bcd ± 1.04	14,2 ^{ab} ± 0,86
0074E	3.31d ± 0.02	3.26ABC ± 1.41	15,0 ^{a} ± 1,22
0211E	3.05e ± 0.02	4.02AB± 2.4	15,1 ^{a} ± 0,72
0238E	2.92f ± 0.02	1,04cd ± 1,26	13,2 ^{ab} ± 2,87
4095G	2.90F ± 0.02	0,78cd ± 0,69	15,1 ^{a} ± 0,47

*Letras diferentes indicam diferenças significativas a p ≤ 0,05, de acordo com o teste de diferença significativa honestas de Tukey.

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

Avaliação dos parâmetros enológicos

Todas as fermentações realizadas pelo método TTV quase atingiram a secura em 25 dias. Os valores dos parâmetros enológicos (pH, açúcares residuais e teor alcoólico) dos vinhos resultantes estavam em conformidade com os padrões enológicos habituais (Tabela 1).

Discriminação dos vinhos com base no seu perfil volátil

Para investigar a capacidade do método TTV para discriminar castas, foi realizado um perfil de compostos voláteis. Os compostos voláteis foram extraídos de amostras de três ml de cada vinho utilizando micro extração em fase sólida de *headspace* (HS-SPME) e analisados por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS). Um total de 108 compostos voláteis de diferentes famílias químicas foi identificado. Estes incluíram compostos aromáticos derivados da fermentação, tais como ésteres, ácidos gordos voláteis e álcoois superiores, bem como compostos varietais, tais como monoterpenos, C13-norisoprenóides e C15-sesquiterpenos. Alguns benzenóides, aldeídos, cetonas e lactonas também foram detetados. Os tióis voláteis foram analisados utilizando um método de extração específico descrito por Thibon *et al*[4].

Os resultados, resumidos na Figura 2, demonstram que o método TTV pode discriminar castas com base no seu perfil volátil. Castas intensamente aromáticas do tipo Moscatel (Muscat, 0074E) apresentam cargas positivas tanto no Eixo 1 (Dim1) quanto no Eixo 2 (Dim2) (Figura 2A) e apresentam altos níveis de monoterpenos, como linalol e α-terpineol (Figura 2B). O genótipo 4095G é caracterizado por uma coordenada positiva alta em Dim1 e uma coordenada negativa em Dim2, associada a níveis elevados de monoterpenos. Estes compostos varietais contribuem para as características florais, frutadas e cítricas destes vinhos[5]. As variedades aromáticas não-Moscatel, como Riesling e Gewurztraminer, com cargas negativas em Dim1 e Dim2, são separadas de castas não aromáticas, como Chasselas e Chardonnay, com cargas positivas em Dim1 e cargas negativas em Dim2. O Gewurztraminer apresentou altos níveis de terpenóis, destacando-se o mais alto teor de citronelol de todas as castas estudadas. O Riesling e o genótipo 0238E apresentaram os níveis mais elevados de TDN, um composto C13-norisoprenóide conhecido pelo seu aroma a petróleo ou odor a "pedra húmida" em vinhos jovens Riesling, contribuindo significativamente para a tipicidade aromática desta casta[6] [7]. Altas concentrações de 3-sulfanilhexan-1-ol (3SH) foram encontradas em Gewurztraminer e 4095G, com níveis particularmente altos em 0074E. Contrariamente, 4-metil-4-sulfanilpentan-2-ona (4MSP) só foi detetado em Floreal e 0074E. Estes tióis voláteis são apreciados pelos seus agradáveis aromas frutados, que lembram gomos de groselha preta, maracujá e toranja.

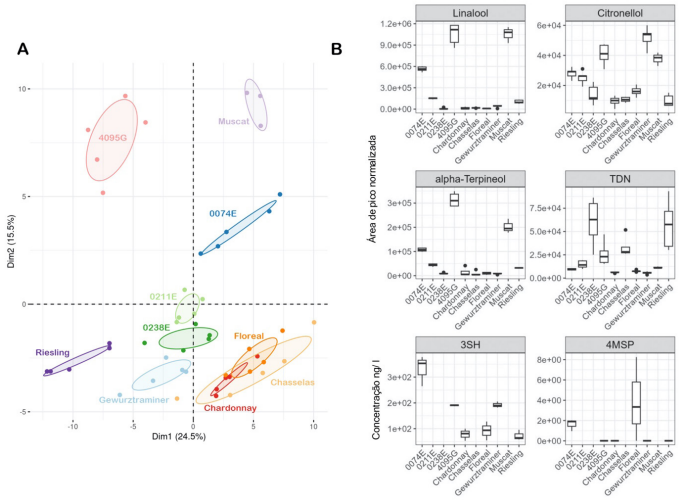


FIGURA 2. Perfil dos compostos voláteis em vinhos produzidos pela vinificação em tubo de ensaio (TTV). A) Análise de componentes principais (PCA), que ilustra a discriminação dos vinhos com base nas castas. (B) Variação de compostos voláteis significativos selecionados nas diferentes amostras de vinho. TDN: 1,1,6-trimetil-1,2-diidronaftaleno, 3SH: 3-sulfanil-hexan-1-ol, 4MSP: 4-metil-4-sulfanil-pentan-2-ona.

Conclusão

O nosso estudo demonstra que o método TTV é altamente eficaz na produção de vinhos brancos numa escala muito pequena (ou seja, menos de 100 ml), refletindo fielmente o potencial aromático de diferentes castas. Este método de vinificação em pequena escala e de alto rendimento permite a produção de centenas de vinhos brancos, possibilitando a avaliação do potencial enológico de numerosos genótipos de videira a partir da colheita de uma única videira. Esta abordagem de fenotipagem direta orientada para o vinho foi concebida para abrir caminho para a determinação genética científica dos aromas do vinho, particularmente para compostos não diretamente presentes nas uvas; esta metodologia abre também nas perspetivas para a melhoria genética de castas com características desejáveis.

Além disso, esta técnica oferece vantagens significativas para os profissionais da indústria do vinho, como enólogos e departamentos de I&D (pesquisa e desenvolvimento) na produção vinícola, pois fornece um meio rápido e eficiente em termos de recursos para avaliar técnicas de fermentação ou tratamentos em pequena escala antes da implementação em larga escala. Este método pode ser potencialmente utilizado para estudar a dinâmica da fermentação, explorar o potencial enológico de estirpes de leveduras, avaliar a estabilidade do vinho e investigar o impacto de diferentes práticas vitícolas e fatores ambientais na qualidade do vinho. ■

Extraído do artigo de investigação "A test-tube vinification method for high-throughput characterisation of the oenological and aromatic potential of white wines" (OENO One, 2024).

1 Lacombe, T. (2012). Contribution à l'étude de l'histoire évolutive de la vigne cultivée (Vitis vinifera L.) par l'analyse de la diversité génétique neutre et de gènes d'intérêt. [Thesis, Institut National d'Etudes Supérieures Agronomiques de Montpellier]. https://hal.inrae.fr/tel-02811247

2 Lin, J., Massonnet, M., & Cantu, D. (2019). The genetic basis of grape and wine aroma. *Horticulture Research*, 6(1), 81. https://doi.org/10.1038/s41438-019-0163-1

3 Duchêne, E., Butterlin, G., Dumas, V., & Merdinoglu, D. (2012). Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(4), 623-635. https://doi.org/10.1007/s00122-011-1734-1

4 Thibon, C., Pons, A., Mouakka, N., Redon, P., Méreau, R., & Darriet, P. (2015). Comparison of electron and chemical ionization modes for the quantification of thiols and oxidative compounds in white wines by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1415, 123-133. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.08.027

5 Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2006). Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications (2nd ed.). John Wiley & Sons, Ltd.

6 Winterhalter, P., & Schreier, P. (1994). C13-Norisoprenoid glycosides in plant tissues: An overview on their occurrence, composition and role as flavour precursors. *Flavour and Fragrance Journal*, 9(6), 281-287. https://doi.org/10.1002/ffj.2730090602

7 Schüttler, A., Friedel, M., Jung, R., Rauhut, D., & Darriet, P. (2015). Characterizing aromatic typicality of Riesling wines: merging volatile compositional and sensory aspects. *Food Research International*, 69, 26-37. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.010

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