IVES Technical Reviews
vinha & vinho

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2025.9402

A utilização de *Torulaspora delbrueckii* nos vinhos de maceração carbónica modula as suas propriedades organoléticas e favorece a fermentação malolática

Candela Ruiz-de-Villa[1], Jordi Gombau[2], Montse Poblet[1], Albert Bordons[3], Joan Miquel Canals[2], Fernando Zamora[2], Cristina Reguant[3], Nicolas Rozès[1*]

[1] Grup de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
[2] Grup de Tecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, c/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain
[3] Grup de Biotecnologia Enològica, Rovira i Virgili University, Faculty of Oenology, Biochemistry and Biotechnology Department, Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

Recentemente, tem-se verificado um interesse crescente no estudo de leveduras não *Saccharomyces*, devido aos benefícios que trazem ao processo de produção do vinho e às suas propriedades organoléticas. A utilização da espécie *Torulaspora delbrueckii* na fermentação alcoólica (FA), juntamente com a *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), também foi observada como tendo um efeito positivo no desempenho da fermentação malolática (FML)[1]. Este efeito foi pouco estudado em vinificações especiais, como a maceração carbónica (MC), que consiste em desenvolver a FAL no interior dos grãos de uva não prensados numa atmosfera anaeróbica, produzindo assim vinhos muito aromáticos[2]. O objetivo deste estudo é investigar as implicações enológicas da inoculação de *T. delbrueckii* durante a primeira fase de vinificação por MC, de forma a melhorar o processo de fermentação e as caraterísticas organoléticas destes vinhos.

Materiais e métodos

As fermentações foram efetuadas em pequenos volumes, em recipientes de plástico de 15L, com a casta Garnacha Tinta na adega *Mas dels Frares* (Universidade Rovira i Virgili, DO Tarragona). Para efetuar a maceração carbónica (MAC), as uvas foram desengaçadas manualmente e os bagos inteiros não esmagados foram colocados nos recipientes, introduzindo CO_2 para conseguir um ambiente de anaerobiose (Figura 1). As condições foram as seguintes: duas condições sequenciais em que duas estirpes de *T. delbrueckii* foram inoculadas com Viniflora Prelude (Chr. Hansen Holding AS, Hoersholm, Dinamarca) e Viniferm NS Td (Agrovin, Alcázar de San Juan, Espanha), e o controlo sem inoculação. Após 5 dias de MC a 20°C, as uvas foram prensadas e as frações de mosto misturadas. O mosto fermentado de cada uma das condições foi trasfegado e inoculado com *S. cerevisiae* CLOS (Lallemand Inc., Montreal, QC, Canadá) para completar a fermentação alcoólica. Por fim, foram efetuadas três fermentações malo lácticas (FML) utilizando duas estirpes diferentes de *Oenococcus oeni* (Lalvin VP41 de Lallemand Inc. e Viniflora CH11 de Chr. Hansen Holding AS), respetivamente, para inoculação, e bactérias lácticas indígenas (BAL) numa FML espontânea (Sp) (Figura 1). Todas as fermentações (FA e FML) foram efetuadas em triplicado biológico. A análise estatística dos dados foi efetuada utilizando ANOVA e o teste de Tukey com o software XLSTAT versão 2022.5.1. Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

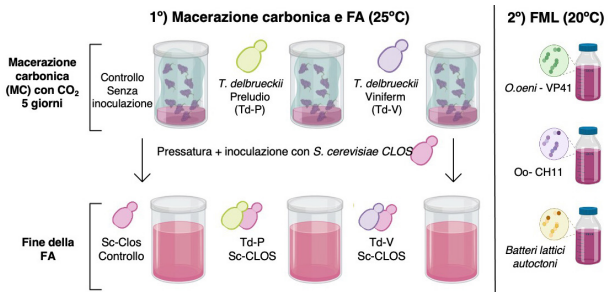


FIGURA 1. Desenho experimental.

Resultados

Efeito de *T. delbrueckii* na cor do vinho

Resultados interessantes foram obtidos em relação à cor e à composição fenólica dos vinhos derivados da inoculação com *T. delbrueckii* no início da maceração carbónica. A presença de *T. delbrueckii* provocou um aumento significativo da concentração de antocianinas nos vinhos finais, especialmente com a estirpe TdV (Figura 2A). Esta concentração mais elevada pode ser devida a várias causas, tais como a maior oxidação das antocianinas nos vinhos de controlo, que demoraram mais tempo a iniciar a FAL. Por outro lado, este efeito pode também estar associado a uma atividade pectolítica elevada, que foi observada em certas leveduras não *Saccharomyces*; no entanto, esta atividade ainda não foi demonstrada para *T. delbrueckii*. Foram também encontradas diferenças nas piranoantocianinas, Vitisina A e Vitisina B (Figura 2B). Estes pigmentos desempenham um papel importante na melhoria da estabilidade da cor dos vinhos, uma vez que são menos suscetíveis às alterações de pH e mais resistentes à descoloração causada pelo dióxido de enxofre[3]. As amostras de controlo no final do CM foram significativamente diferentes das inoculadas com *T. delbrueckii*, uma vez que não foram detetadas piranoantocianinas. Pelo contrário, tanto as amostras TdP como as TdV mostraram a presença destes pigmentos após o CM. No entanto, após a FA, as piranoantocianinas foram detetadas em todos os vinhos, sendo as suas concentrações mais elevadas nos vinhos com *T. delbrueckii* do que no Controlo. Durante a fase CM, não se registaram diferenças significativas na intensidade da cor (IC) entre as diferentes condições. No entanto, após a FA, os vinhos de controlo apresentaram uma redução significativa da IC, e foi possível diferenciar visualmente os vinhos de controlo dos inoculados com *T. delbrueckii* (Figura 2C).

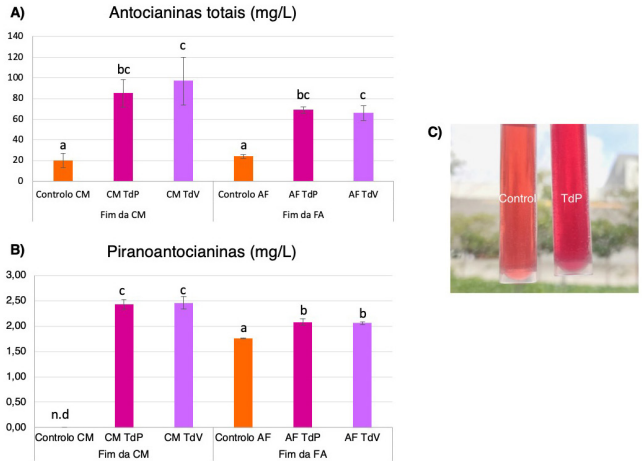


FIGURA 2. Compostos fenólicos analisados. A) Antocianinas livres analisadas por HPLC; B) Piranoantocianinas (Vitisinas A e B). C) Diferenciação dos vinhos a olho nu: Controlo (esquerda) e vinho inoculado com *T. delbrueckii* Prelude (direita). O fim da MC corresponde à amostragem após a maceração carbónica, antes da inoculação de *S. cerevisiae*, e o fim da FAL corresponde à amostragem após a fermentação alcoólica (FAL). Controlo corresponde à fermentação de Controlo; TdP e TdV correspondem a fermentações com *T. delbrueckii* Prelude ou *T. delbrueckii* Viniferm, respetivamente. Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre grupos ($p < 0,05$). Todos os dados são expressos como a média aritmética de três réplicas biológicas ± desvio padrão ($n = 3$).

Efeito de *T. delbrueckii* no aroma e nas propriedades organoléticas dos vinhos

A inoculação com as duas estirpes de *T. delbrueckii* influenciou significativamente o perfil volátil e as caraterísticas organoléticas gerais dos vinhos. As diferenças foram observadas principalmente após a FA com *T. delbrueckii*, com um aumento nas famílias de ésteres etílicos, álcoois superiores, ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) e acetatos de álcoois superiores. Os compostos que mais aumentaram foram o 1-propanol, o 2-metilpropanol, o acetato de isoamilo, o acetato de 2-feniletanol, o

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

decanoato de etilo, o dodecanoato de etilo e o isopropanol; estes foram caracterizados pelos descritores: álcool, vinho, banana, rosa, uva e folhas. A estirpe TdP apresentou um aumento significativamente maior nas concentrações de 2-feniletanol, 2-metilpropanol e acetato de isoamilo do que a estirpe TdV. O acetato de isoamilo é um composto caraterístico dos vinhos CM[2] cujo descritor é banana. Este composto atingiu concentrações de 0,62 mg/L (Controlo), 0,63 mg/L (TdP) e 0,47 mg/L (TdV) após a CM sem diferenças significativas. No entanto, os vinhos TdP e TdV apresentaram um aumento significativo da concentração de acetato de isoamilo após a FA, atingindo concentrações de 3,37 mg/L e 1,32 mg/L, respetivamente, em relação ao vinho Controlo FA a 0,58 mg/L (Figura 3A).

Por último, para compreender de forma abrangente o impacto da inoculação de *T. delbrueckii* durante a MC, foi efetuada uma análise sensorial após a FA. Foi efetuado um teste triangular por 15 júris treinados, utilizando óculos pretos para minimizar o enviesamento visual. Os resultados mostraram diferenças significativas entre o Controlo e o TdP, bem como entre o Controlo e o TdV, mas nenhuma distinção entre o TdP e o TdV. Posteriormente, foi efetuada uma prova descritiva dos vinhos após a FA: o vinho TdV apresentou aromas intensos a frutos vermelhos, erva e banana, bem como valores de perceção geral mais elevados, enquanto que no caso do vinho TdP, o aroma a banana e a perceção geral melhoraram em comparação com o vinho de controlo. Surpreendentemente, o aroma a banana foi o único descritor responsável por uma diferença significativa entre os vinhos com *T. delbrueckii* e o vinho de controlo (Figura 3B). Isto sugere que os consumidores associaram um aroma de banana mais pronunciado à presença de *T. delbrueckii* durante a MC.

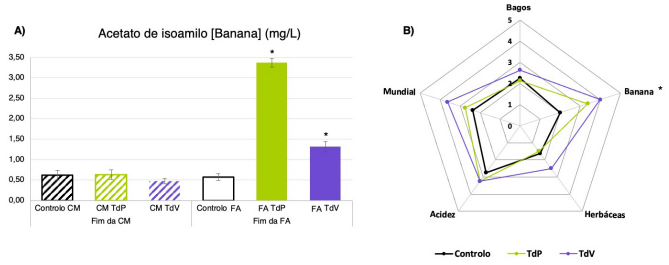


FIGURA 3. Concentração de acetato de isoamilo (mg/L) (A). Diagrama em teia de aranha da análise sensorial dos vinhos após FAL (B). Os asteriscos (*) indicam os atributos que apresentaram diferenças significativas (P < 0,05). Controlo corresponde à condiçoes de controlo fermentadas apenas com Sc; TdP e TdV correspondem às fermentações com *T. delbrueckii* Prelude e Viniferm, respetivamente. Todos os dados são expressos como a média aritmética de três réplicas biológicas ± desvio padrão (n = 3).

Efeito de *T. delbrueckii* no desempenho da fermentação malolática

Uma vez concluída a FA, foram aplicadas três estratégias de FML: inoculação com as estirpes OoVP41 e OoCH11 de *O. oeni* e fermentação espontânea. A inoculação com culturas iniciadoras de *O. oeni* foi efetuada de forma a avaliar o seu potencial sob a pressão competitiva das BAL endógenas.

A Figura 4 mostra a cinética da FML das três condições do vinho com as suas respetivas estratégias de FML. A inoculação com OoVP41 resultou numa duração mais curta da FML do que a inoculação com OoCH11 e do que na FML espontânea. Os vinhos TdP e TdV que foram inoculados com OoVP41 completaram a FML dois dias mais cedo (i.e., em 8 dias) do que os vinhos de controlo com a mesma estirpe (em 10 dias). Estudos anteriores executados em condições de laboratório[4] caracterizaram igualmente a estirpe OoVP41 como uma estirpe fermentativa muito eficaz, corroborando este resultado nestas condições de concorrência. A influência da *T. delbrueckii* na FML também foi observada quando se utilizou a estirpe OoCH11. Foram observadas diferenças significativamente maiores na FML espontânea. Os vinhos de controlo levaram 7 dias para iniciar a FML, enquanto a TdP levou 4 dias e a TdV apenas 3 dias. No que diz respeito à duração total da FML, a TdP e a TdV foram igualmente mais curtas: a TdP durou 15 dias e a TdV 16 dias, o que é notavelmente inferior ao Controlo, que necessitou de 20 dias (Figura 4). O efeito de *T. delbrueckii* na FML está associado a vários fatores que contribuem para melhorar a eficiência de *O. oeni*[1]. No presente estudo, apesar de não terem sido encontradas diferenças nos níveis de etanol ou pH, o melhor desempenho da FML pode ser atribuído a uma redução dos AGCM (ácidos gordos de cadeia média), conhecidos por serem tóxicos para a *O. oeni*[5], ou a um aumento do amónio e das manoproteínas. Para além dos aspetos nutricionais, o aumento das manoproteínas pode estar relacionado com a redução dos AGCM, uma vez que podem absorver estes lípidos, desintoxicando o ambiente[6].

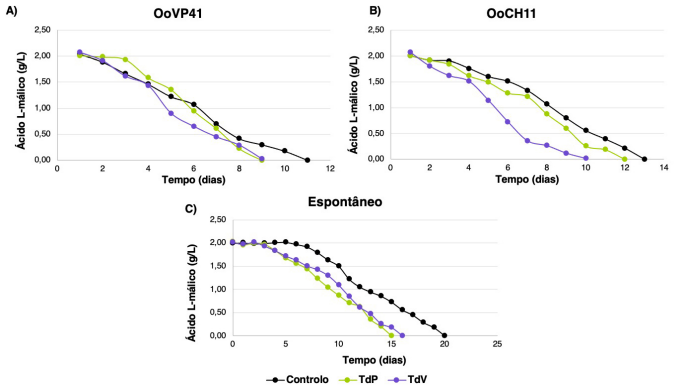


FIGURA 4. Consumo de ácido L-málico pelas estirpes de *Oenococcus oeni* durante a fermentação malolática: (A) corresponde à FML OoVP41, (B) corresponde à FML OoCH11 e (C) corresponde à FML espontânea. Controlo corresponde as condições de controlo fermentada sapenas com Sc; TdP e TdV correspondem a fermentações com *T. delbrueckii* Prelude e Viniferm, respetivamente. Todos os dados são expressos como a média aritmética de três réplicas biológicas ± desvio padrão (n = 3).

Conclusões

Embora no presente estudo os parâmetros físico-químicos gerais se tenham mantido constantes, a presença de *T. delbrueckii* influenciou significativamente os parâmetros de cor e aroma, aumentando o teor de antocianinas e os teores de acetato de isoamilo, especialmente na estirpe TdP. Além disso, a *T. delbrueckii* aumentou significativamente outros compostos associados aos aromas florais e frutados.

O exame organolético revelou uma tendência para o aumento dos aromas a frutos vermelhos, banana e erva fresca nos vinhos TdV, e uma melhor perceção do aroma a banana e dos atributos organoléticos globais nos vinhos TdP. Destes descritores, o aroma a banana foi o único que apresentou uma diferença estatisticamente significativa na análise sensorial.

Relativamente à FML, a T. delbrueckii melhorou o desempenho, especialmente na FML espontânea, começando mais cedo e exigindo menos tempo. A inoculação com OoVP41 levou a uma redução significativa de dois dias na duração da FML. Estes resultados evidenciam as vantagens potenciais da utilização de estirpes de *T. delbrueckii* para melhorar a eficácia da FML e os atributos sensoriais dos vinhos de maceração carbónica.

A abordagem utilizada aqui poderia ser especialmente útil nas regiões vinícolas de latitude norte, que se caracterizam por climas mais frios e níveis de acidez mais elevados. A FML pode tornar-se necessária nestas regiões para alcançar as caraterísticas desejadas dos seus vinhos. Para além disso, a inoculação com *T. delbrueckii* ajudaria a enriquecer o perfil sensorial destes vinhos, garantindo uma elevada qualidade e caraterísticas distintivas. ■

Financiamento: *Este trabalho foi apoiado pela subvenção PGC2018-503 101852-B-I00 concedida pela Agência Espanhola de Investigação. CRV agradece a bolsa de pré-doutoramento do Governo da Catalunha (2020FI).*

Extraído do artigo de investigação "Torulaspora delbrueckii Improves Organoleptic Properties and Promotes Malolactic Fermentation in Carbonic Maceration Wines" (Fermentation, 2023).

1 Balmaseda, A., Rozès, N., Bordons, A., & Reguant, C (2023). The Use of *Torulaspora delbrueckii* to Improve Malolactic Fermentation. *Microb Biotechnol*, https://doi.org/10.1111/1751-7915.14302

2 Tesniere, C.; Flanzy, & C. Carbonic (2011). Maceration Wines: Characteristics and Winemaking Process. In *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press Inc., Vol. 63, pp. 1–15.

3 Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, R., & Moljtounet, M. A (1997). New Class of Wine Pigments Generated by Reaction between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401–1407.

4 Ruiz-de-Villa, C., Poblet, M., Bordons, A., Reguant, C., & Rozès. N. (2023). Comparative Study of Inoculation Strategies of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on the Performance of Alcoholic and Malolactic Fermentations. in an Optimized Synthetic Grape Must. *Int J Food Microbiol*, 404, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110367

5 Capucho, I. and San Romão, M.V (1994). Effect of Ethanol and Fatty Acids on Malolactic Activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 42, 391–395.

6 Lafon-Lafourcade, S., Geneix, C., & Ribéreau-Gayon, P. (1984). *Inhibition of Alcoholic Fermentation of Grape Must by Fatty Acids Produced by Yeasts and Their Elimination by Yeast Ghosts*, Vol. 47.

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