

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DOS MOSTOS DO RIO GRANDE DO SUL*

I. ISOLAMENTO E TESTES MORFOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS.

Microbiologyc aspects of musts from Rio Grande do Sul

I. Isolation and morphologyc and biochemistry tests.

Carlos E. Daudt** e Marco Antônio R. Brum***

RESUMO

Vinte e quatro (24) amostras de mostos do Rio Grande do Sul fo
ram analisadas no aspecto flora predominante.

Nove (9) fermentos foram isolados e submetidos a testes bioquími
cos e exames morfológicos, comparados entre sie com o standard *Saccha
romyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus* cepa montrachet, sendo que seis
(6) fermentos selvagens isolados demonstraram similaridade com o
standard utilizado.

SUMMARY

Twenty four (24) must samples of Rio Grande do Sul were analyzed
about the flora aspect. Nine (9) yeasts were isolated morphologyc
exams and biochemystry tests were made with them, as well as compari
sons among them and the standard *Sacch. cerevisiae ellipsoideus*
strain montrachet. Six (6) yeasts showed morphologyc and biochemys
try similarity with the used standard.

INTRODUÇÃO

A designação dos fermentos, descrita na literatura, de acordo
com o seu comportamento individual, fontes e requerimentos de cres
cimento, não é cientificamente válida conforme opinião de MRAK e
PHAFF (7).

Na classificação proposta por KREGER VAN RIJ (5), agora aceita
por pesquisadores que labutam neste campo, os verdadeiros fermentos
cervejeiros (*Sacharomyces carlsbergensis*) são diferenciados das espé
cies ou variedades utilizadas no fabrico dos vinhos, pela morfologia
celular elíptica e inabilidade para fermentar melobiose, sendo de
signados frequentemente como *Sacharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*
Entretanto a forma celular elíptica não é corretamente considerada

* Trabalho financiado parcialmente pelo projeto MIC-STI-UFSM-25.04-05 que consta de várias publicações.

** Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia Alimentar, UFSM e executor do projeto.

*** Professor Assistente do Departamento de Tecnologia Alimentar - UFSM.

tão importante como alguns anos atrás.

GALZY (3) realizou uma pesquisa sobre espécies de fermentos encontrados em uvas e vinhos, que relaciona dados sobre sinônimos usados para fermentos, que por alguma razão foram significativos para uvas e vinhos.

Existem muitas variedades fisiológicas de fermentos conhecidos, onde suas características desejáveis podem ser mantidas, com o uso de culturas puras e estocagens de amostras selecionadas.

Atualmente as investigações prendem-se as condições genéticas e do meio ambiente, as quais governam as suas variações. Os efeitos das altas temperaturas na fabricação de vinhos brancos com utilização de fermentos puros e fermentos selvagens foram estudados por DAUDT et alii (1) que concluíram sobre a melhoria dos vinhos quando a temperatura (meio ambiente) é controlada. Diferentes cepas de leveduras alcoólicas de vinhos, sob condições similares, produzem variações na formação de produtos secundários, tais como ácido succínico, glicerina, alcoois superiores e ésteres, sendo que o critério usual de produção de álcool e açúcares residuais é de pouco valor na classificação destas cepas de *Sacharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* e espécies correlatas.

Além da formação de produtos secundários, a velocidade e eficiência da fermentação, floculação, agregação ou ainda requerimentos de fatores de crescimento devem ser levados em consideração.

Com relação a utilização de determinada cepa de *Sacharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, por parte da indústria, deve ser considerada obrigatória a observação da qualidade final do produto. O objetivo desta pesquisa é um primeiro passo para a classificação dos fermentos selvagens encontrados em mostos do Rio Grande do Sul e responsáveis pela fermentação dos mesmos.

A etapa inicial estará ligada ao isolamento da flora predominante dos citados fermentos, tendo como base o bioquimismo e morfologia das cepas isoladas comparado com o comportamento de variedades conhecidas.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras utilizadas no presente trabalho, foram em número de 24 (vinte e quatro), coletadas em estabelecimentos vinícolas do Estado do Rio Grande do Sul, observando-se a técnica de coleta em frascos esterilizados e conservados até a semeadura em temperaturas de mais ou menos 5º C.

A semeadura para o isolamento de espécies do gênero *Sacharomyces* foi realizada em meio de SABOURAUD (6) e CZAPK DOX (6), utilizando-se 1 ml de mosto e 15 ml dos meios preconizados pelos autores cita

dos. Conseguido o isolado foi realizado o repique para agar malte conforme GALLOWAY et alii (6).

O estudo bioquímico foi realizado em água de levedura adicionada de 2% do hidrato de carbono a ser testado, conforme recomendação de JORGENSEN (4).

A temperatura de incubação para todos os exames realizados foi de 35° C, pelo tempo de quarenta e oito horas.

O estudo morfológico das espécies isoladas foi realizado pelo método clássico de GRAM.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão relacionados os dados em percentual das incidências dos diferentes grupos de microrganismos, onde verifica-se que o grupo predominante foi o das leveduras propriamente ditos que apareceu em quantidade considerável em 87,50% das amostras, sendo que em 8,33% apresentou proliferação discreta, e em 4,16% flora reduzida.

Tabela 1. Incidência dos diferentes grupos de microrganismos.

INCIDÊNCIA	GRUPOS DE MICRORGANISMOS (%)		
	Leveduras	Fungos	Bactérias
Predominante	87,50	16,66	4,16
Discreta	8,33	62,50	33,33
Reduzida	4,16	16,66	50,00
Negativa	0	4,16	12,50

O grupo dos fungos, em 16,66% da amostragem analisada foi predominante, aparecendo em 62,50% das amostras com proliferação discreta, 16,66% com proliferação reduzida, sendo que em 4,16% a incidência foi negativa.

Com relação a presença de bactérias apenas uma amostra, 4,16% apresentou proliferação intensa ou predominante. O mesmo grupo em 33,33% mostrou proliferação discreta, 50% apresentou proliferação reduzida e 12,50% das amostras apresentou resultado negativo.

Na Tabela 2 estão expressos os resultados referentes ao comportamento dos 9 (nove) fermentos isolados e testados frente aos açúcares: arabinose, frutose, galactose, glicose, lactose, maltose, manitol, melobiose, rafinose, trealose, xilose e sacarose, comparados com a variedade *Sacharomyces Montrachet*.

A observação dos resultados obtidos na mesma tabela indica que 6 (seis) amostras, mostraram similaridade com a variedade conhecida

Tabela 2. Comportamento das amostras isoladas frente aos açúcares.

AMOSTRAS	HIDRATOS DE CARBONO TESTADOS											
	Arabinose	Frutose	Galactose	Glicose	Lactose	Maltose	Manitol	Melobiose	Rafinose	Trealose	Xilose	Sacarose
2	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
6	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
8	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
10	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
12	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
17	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
18	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
19	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
20	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Montrachet	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+

fermentando respectivamente os açúcares: frutose, glicose, maltose e sacarose. Além dos estudos bioquímicos, as amostras que fermentaram nas mesmas condições os açúcares, foram estudadas morfológica e mente através do exame microscópico onde também demonstraram sem lhança à espécie conhecida.

DISCUSSÃO

Conhecidos os resultados transcritos na Tabela 1, observou-se que 87,50% das amostras possuem flora predominante pertencente ao grupo das leveduras, indicando então, condições satisfatórias para o processamento da fermentação normal. O restante das amostras continuam um número reduzido desta flora considerada normal, dando en tão condições para a proliferação de fungos e bactérias.

Estas afirmações prendem-se ao fato de que o elevado número de leveduras fermentativas determinam, a curto prazo, a elevação do teor alcoólico, criando então, ambiente ou meio impróprio para o de desenvolvimento de outros microrganismos nefastos, pertencentes a flo ra saprófita, que por vezes causam enfermidades, como por exemplo a turbidez, que segundo PRESCOTT e DUNN (8) é a mais frequente em vi nhos brancos.

No que tange a presença de fungos, 16,66% das amostras mostra ram incidência elevada, fato este indicativo de falhas durante a obtenção da matéria prima, classificação e acondicionamento, quando o esmagamento de grãos da uva, ou mesmo de cachos, proporciona nutrientes necessários para o desenvolvimento da flora saprófita, existente na camada serosa que recobre a maioria dos frutos conforme FRAZIER (2).

A presença de bactérias, que em 4,16% das amostras mostraram contagens elevadas, demonstram também terem sido provavelmente obtidas de matéria prima de qualidade inferior.

O isolamento do gênero *Sacharomyces* sp., foi realizado a partir das placas de amostras onde ocorreram a predominância do grupo leveduras, observando-se que 6 (seis) amostras, apresentaram comportamento bioquímico semelhante à variedade conhecida pelo nome de Montrachet. Esta similaridade ocorrida entre as amostras isoladas e o fermento conhecido, vislumbra a possibilidade da utilização destas variedades como ativadores de fermentação segundo TOLEDO e TEIXEIRA (9), pois convencionalmente no Rio Grande do Sul, as indústrias elaboram seus produtos as custas da flora natural, obtendo não raras vezes, produtos de má qualidade devido ao atraso no início da fermentação e concorrência de microrganismos determinantes de enfermidades, pois as colheitas ruins no aspecto de sanidade, devido as condições climáticas, sempre acarretam problemas de contaminantes, e portanto nestes casos deveria ser usada a técnica da sementeira de fermentos selecionados na fermentação.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos testes laboratoriais possibilitam as seguintes conclusões:

1. Os mostos obtidos em cantinas localizadas no Estado do Rio Grande do Sul, apresentam razoável qualidade com relação ao aspecto microbiológico, podendo entretanto serem melhorados se as condições de obtenção da matéria prima obedecerem critérios tecnológicos adequados.

2. As variedades isoladas do gênero *Sacharomyces* sp., demonstraram em alguns casos comportamento diferente, conseguindo-se o isolamento de 6 (seis) amostras com condições de competir com variedades conhecidas.

3. A utilização ou adição de fermentos selecionados na vinificação poderá melhorar as condições de fermentação, determinando a redução do tempo na obtenção do teor alcoólico desejado, bem como melhorar os caracteres organolépticos dos vinhos Sul-riograndenses.

LITERATURA CITADA

1. DAUDT, C. E.; BRUM, M. A. e OUGH, C. S. - Controle das altas temperaturas de fermentação na fabricação de vinhos brancos. *Rev. Centro de Ciências Rurais*, 5(2):71-78, 1975.
2. FRAZIER, C. W. - *Microbiologia de los Alimentos*. 2ª ed. Zaragoza. Editorial Acribia, 1972, 512 p.
3. GALZY, P. - Nomenclature des levures du vin. *Ann. Technol. Agr.* 5:473-491, 1956.
4. JORGENSEN, A. e HANSEN, A. - *Microbiologia de las fermentaciones industriales*. Zaragoza, Editorial Acribia, 1969, 640 p.
5. KREGER, Van RIG, N. W. - *Endomycopsis vini* and *Pichia Etchellsii*, spp. *Antoine van Leeuwenhoek V.*, 30:428-432, 1964.
6. MERCK - *Manual de Microbiologia*. 2ª ed. Darmstadt, (R. de Alemania) E. Merck, 1976, 458 p.
7. MRAK, E. M. e PHAFF, H. J. - Yeasts. *Ann. Rev. Microbiol.* 2: 1-46, 1948.
8. PRESCOTT, S. C. e DUNN, C. G. - *Industrial Microbiology*. New York. Mc Graw - Hill Book, 1959, 945 p.
9. TOLEDO, O. Z. e TEIXEIRA, C. G. - O emprego de leveduras selecionadas na fermentação do vinho. *Bragantia, Bol. Tecn. do Inst. Agron. do Estado de São Paulo*, 16(18):251-260, 1957.