

FABRICAÇÃO DE VINHOS POR LEVEDURAS ALCOÓLICAS NATIVAS SELECIONADAS NO RIO GRANDE DO SUL E POR *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet".

Wine Making with Selected wild Yeasts from Rio Grande do Sul and with *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet".

Carlos Eugênio Daudt** e Jair de P. Almeida***

RESUMO

Os aspectos, acidez total e volátil, álcool, pH, tempo de fermentação, velocidade de sedimentação e qualidade geral dos vinhos foram estudados comparativamente entre várias leveduras alcoólicas nativas do Rio Grande do Sul e *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet". As fermentações foram feitas em escala laboratorial e o vinho produzido por "Montrachet" limpou mais depressa, teve menor acidez volátil, menor tempo de fermentação e maior rendimento alcoólico do que os outros vinhos. A qualidade dos vinhos produzidos foi baseada nos parâmetros acima e em pequena escala numa análise sensorial.

SUMMARY

A comparison among wild yeasts selected from musts of Rio Grande do Sul and *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet" was made; some aspects as total and volatile acidity, ethanol production, pH, fermentation time, time to clear the wines and general quality of wines were studied. Fermentations were made in lab scale and wine produced by "Montrachet" cleared up fast, it had less volatile acidity, fermented fast and it produced a higher ethanol yield than the other wines. General quality was based in the above parameters plus some sensory analysis.

INTRODUÇÃO

A adição de uma cepa selecionada de microorganismo puro para a fermentação de mosto é um assunto de controvérsia entre enologistas do mundo inteiro. Enquanto alguns (MESTRE & MESTRE, 8; RANKINE, 10) apontam uma série de vantagens principalmente econômicas, outros (3, 4, 7, 8) preferem a flora mista do mosto para produzir, segundo eles, um vinho de qualidade superior. No entanto, todos reconhecem que diferentes microrganismos produzem diferentes compostos em maior ou

* Trabalho financiado parcialmente pelo Projeto MIC-STI-UFSM- 25.4.05.

** Executor do Projeto e Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 97.100 - Santa Maria, RS.

*** Professor Assistente do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM e bolsista do Projeto.

menor quantidade, os quais podem alterar a composição e a qualidade dos vinhos.

Previamente, DAUDT & BRUM (6), selecionaram uma série de microorganismos alcoólicos, obtidos de mostos em fermentação na indústria vinícola sul-riograndense. Eles foram estudados morfológicamente e em suas características bioquímicas; posteriormente foram realizadas fermentações em escala laboratorial com estes microorganismos.

RANKINE (10) comparou 98 cepas de fermentos de vinhos provenientes de vários lugares da Austrália. O conteúdo final de etanol variou de 8° GL a 15° GL e a temperatura de fermentação esteve entre 15° C e 25° C. A maioria das cepas produziu mais acidez volátil a 25° C que a 15° C. A produção de glicerol variou consideravelmente, e maior quantidade foi produzida a 25° C; isto foi mais tarde confirmado por OUGH et alii (9) que confirmaram a produção de glicerol em maior quantidade nas temperaturas de fermentação mais altas. CASTOR (5) comparou os produtos de fermentação e os sabores produzidos por microorganismos responsáveis pela fermentação de mosto de uva.

TOLEDO & TEIXEIRA (14) estudando o efeito da espécie de microorganismo sobre a acidez volátil, obtiveram os melhores resultados quando o mosto foi inoculado inicialmente com *Saccharomyces rosei* e 48 a 96 horas após com *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*. Os mesmos autores (15) isolaram 25 cepas de *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*, e concluíram que estas deram resultados similares, exceto quanto à produção de acidez volátil.

SCHULLE (12) concluiu que a adição de uma cultura de *Saccharomyces rouxii* com *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*, num mosto rico em açúcar, resultou num vinho com melhor rendimento alcoólico em comparação com o vinho obtido do mesmo mosto mas fermentado somente com o último microorganismo citado. O mesmo autor (13) obteve resultados similares usando *Kloeckeraspora* com *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*.

O objetivo deste trabalho foi observar a velocidade de fermentação, a velocidade de sedimentação e limpeza, a formação de acidez volátil, o rendimento alcoólico e a qualidade geral do vinho produzido com os microorganismos nativos selecionados no Rio Grande do Sul em comparação com o vinho produzido por *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet" utilizado como padrão.

MATERIAL E MÉTODO

A uva utilizada pertence a variedade híbrida Goethe. O mosto virgem, sem película e sem sementes, foi armazenado a 0° C (zero) até fermentação; a análise de sólidos solúveis totais feita pelo mostímetro acusava 19° Brix.

Para o experimento foram utilizados sete lotes deste mosto com um litro para cada um; tratados com 100 ppm de anidrido sulfuroso. Uma hora após este tratamento, foram adicionadas as culturas puras de microorganismos nativos selecionados no Rio Grande do Sul e *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet", todos na proporção de 1% v/v. Os nativos foram chamados *Saccharomyces cerevisiae* nºs 2, 8,

10, 12, 17 e 19 respectivamente.

A fermentação foi acompanhada por duas leituras diárias do grau Brix; no final da fermentação de cada lote, foi determinada a quantidade de açúcar redutor utilizando-se para isso comprimidos de "Dextrocheck" (Ames Company). Todas as amostras, exceto aquela fermentada pelo microorganismo nº 19, apresentaram quantidades iguais ou inferiores a 0,1% de açúcar redutor, o que pode ser considerado seguro sobre o ponto de vista de refermentação.

As determinações da acidez total e volátil, álcool em volume e pH foram realizadas de acordo com AMERINE & OUGH (1). Estas determinações foram realizadas logo após o término da fermentação e daí em diante de sete em sete dias até completar um mês. A temperatura variou de 17°C a 24°C em todas as fermentações.

A presença ou não de gás sulfídrico (H_2S) foi determinada pelo uso de acetato de chumbo.

A sedimentação e limpeza dos vinhos foram observadas diariamente; a qualidade geral do mesmo baseou-se principalmente numa comparação dos parâmetros citados nos parágrafos anteriores (acidez, álcool, limpidez, sedimentos, etc.) e em pequena escala num teste degustativo comum um pouco subjetivo mas de valor comprovado (observação da cor, aparência, aroma, bouquet, acidez volátil total, corpo, adstringência, açúcar, etc.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra a duração total (em horas) da fermentação, desde o começo até o final, e a rapidez de sedimentação (em ordem decrescente). Por esta Tabela, mostos fermentados por *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet e *Saccharomyces cerevisiae* nº 12 terminaram a fermentação antes que os mostos fermentados pelas outras leveduras, um dia antes que nº 2, 8, 17; quatro dias antes que nº 10 e 5; cinco dias antes que nº 19.

TABELA 1. Duração da fermentação e rapidez da sedimentação.

Microorganismo	Duração da fermentação (horas)	Sedimentação (diferença em dias)
"Montrachet"	168	0**
nº 12	168	3
nº 2	192	4
nº 8	192	4
nº 17	192	4
nº 10	264	4
nº 19	300*	5

* Após 300 horas a fermentação parou, apesar de ter ainda 0,75% de açúcar redutor no meio (o que foi considerada inacabada).

** Montrachet serviu como padrão; a diferença em dias é com relação ao padrão.

O mosto fermentado por *S. cerevisiae* nº 19 parou de fermentar quando no meio ainda existia 0,75% de açúcar redutor, o que foi considerado como fermentação inacabada. Provavelmente esta levedura é muito sensível a quantidades maiores de etanol.

Pela Tabela 1 observa-se que *S. cerevisiae* "Montrachet" depositou-se mais rapidamente que os outros. Se ao tempo de sedimentação for adicionado o tempo de fermentação, a diferença em dias entre um e outro torna-se significativa. Com "Montrachet", por esta Tabela, o recipiente pode ser liberado mais rápido, o vinho fica limpo e isento de leveduras em pouco tempo. Além disto, permanecendo menos tempo neste processo de término de fermentação e limpeza por deposição de leveduras, o vinho torna-se menos sujeito a oxidação, com subsequente perda de aroma e bouquet, e a acetificação como será visto na Tabela 2.

"Montrachet", ao contrário das leveduras nativas selecionadas, deposita-se em forma granular. Também foi observado que "Montrachet" por ser compacto e granular, não turva o vinho com tanta facilidade como as leveduras nativas, quando da ocasião da trasfega.

Entre as leveduras nativas selecionadas por DAUDT & BRUM (6), *S. cerevisiae* nº 12 foi a que fermentou e sedimentou mais rapidamente apresentando, no entanto, a formação de gás sulfídrico (H_2S), fator este suficiente para eliminá-la de futuras fermentações. A formação de H_2S não foi por contato prolongado com as borras, mas sim inerente do próprio microorganismo. Se este fermento fosse recomendado somente na base de velocidade e comportamento durante a fermentação e velocidade de sedimentação, um erro grave seria cometido, porque H_2S , além de ser prejudicial por si só, é também precursor de etil mercaptano (C_2H_5SH), substância de pior odor que H_2S e que estraga o vinho.

S. cerevisiae "Montrachet" iniciou e terminou a fermentação mais rapidamente na mesma temperatura que todos os outros; *S. cerevisiae* nº 8 iniciou com a mesma rapidez, diminuindo o ritmo em torno de 5º Brix e terminando junto com o nº 2 e nº 17. Quanto mais rápido a fermentação iniciar, menor será a incidência de bactérias, diferentes fungos, etc.; quanto menos ela durar, proporcionalmente, em condições ótimas de temperatura de fermentação, limpeza, recipiente, etc., menores são as chances de infecções; se os microorganismos se depositarem rapidamente após terminarem suas funções desejáveis logo ao término da fermentação, possibilitando uma trasfega num menor espaço de tempo relativo, é evidente que haverá menos contaminações indesejáveis, pela simples razão que houve menos tempo para o contato entre o vinho, os produtos da autólise das leveduras, e outras substâncias que se depositam ao final. Com tudo isso e com todos os outros parâmetros iguais - variedade de uva, temperatura de fermentação, cuidados, etc. - é natural que o melhor vinho seria produzido por "Montrachet" nesta comparação. Entretanto, a cepa de levedura é só uma variável na produção de vinhos e talvez seja encontrado algum fermento nativo que tenha estas e outras qualidades melhores ainda.

Mais estudos deverão ser feitos nesta área.

TABELA 2. Acidez volátil, acidez total, etanol em volume, rendimento alcoólico e pH dos vinhos fermentados pelos diferentes microorganismos.

<i>S. cerevisiae</i>	Acidez volátil** gHAc/100 ml de vinho	Acidez total*** gH ₂ Ta/100 ml de vinho	Etanol °GL	Rendimento alcoólico	pH
"Montrachet"					
nº 2	0,006	0,525	8,4	80,8	3,20
nº 8	0,018	0,615	8,2	78,5	3,28
nº 10	0,024	0,615	8,4	79,8	3,30
nº 12	0,028	0,662	8,2	78,5	3,20
nº 17	0,018	0,570	8,4	80,6	3,32
nº 19	0,024	0,600	8,4	80,8	3,30
	0,060	0,697	7,3	70,2	3,35

* Análises realizadas 1, 7, 14, 21 e 28 dias após o término da fermentação; variação foi mínima e insignificante e por isto os valores expressam as médias destas determinações.

** HAc = ácido acético

*** H₂Ta = ácido tartárico.

Analisando a Tabela 2, *S. cerevisiae* nº 19 produziu o vinho com maior acidez volátil o que era de certa forma esperado devido ao tempo de fermentação, com maior acidez total, menor teor alcoólico e, conseqüentemente, menor rendimento alcoólico. *S. cerevisiae* "Montrachet" produziu o vinho com menor acidez total e volátil e melhor rendimento alcoólico; somente nº 12 e 17 produziram rendimento semelhante. Entretanto, apesar da boa execução da fermentação, nº 12 produziu H_2S ; a variação de acidez volátil concorda com os dados de TOLEDO & TEIXEIRA (15) que encontraram diferentes valores produzidos pelas cepas selecionadas. Como o trabalho foi executado com mosto contendo somente o açúcar natural da uva, o comportamento destes microorganismos em mostos com maior teor de açúcar e vinhos com maior teor de etanol não foi observado a exemplo de RANKINE (10).

A avaliação sensorial realizada foi muito empírica e constou de um teste degustativo comum e pessoal; entretanto, foram observados os princípios mencionados por AMERINE et alii (2) e foram levados em consideração cor, aparência, aroma, bouquet, acidez volátil, acidez total, açúcar, corpo, amargor, flavor e qualidade geral num cartão com o número máximo de pontos igualando a 20. Não foi difícil de encontrar os vinhos de mais alta qualidade geral, principalmente quando a análise sensorial foi acrescentada a soma dos outros parâmetros analisados, tais como velocidade de sedimentação, limpeza, acidez, álcool.

No final os vinhos produzidos por *S. cerevisiae* "Montrachet" e *cerevisiae* nº 17 foram considerados os melhores.

A diferença de pH não foi significativa em nenhum dos vinhos.

SCHULE (12, 13) utilizou flora mista na fermentação de mostos o que não foi tentado neste trabalho; entretanto, DAUDT & BRUM (6) com base em testes bioquímicos e morfológicos já haviam eliminados vários microorganismos anteriormente, demonstrando que muitas vezes não é conveniente a utilização de flora mista.

Os microorganismos chamados de nativos *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* encontrados naturalmente nas cascas das uvas produzem normalmente um sedimento muito fino devido a lenta deposição destas leveduras. Não formando depósito compacto, estas leveduras são facilmente misturadas com o vinho novamente, turvando-o, quando da operação de trasfega.

Geralmente quanto pior o estado sanitário das uvas, melhor é o vinho obtido através de fermentação com culturas puras comparado com a flora natural. Quando a matéria prima não é de boa qualidade, maior é a utilidade de um microorganismo que fermenta e sedimenta o mais rápido possível, sob as mesmas condições, em comparação com a flora nativa encontrada na própria casca.

CONCLUSÕES

1. Somente um microorganismo nativo *Saccharomyces cerevisiae* nº 17 produziu um vinho com rendimento alcoólico igual ao padrão; os outros apresentaram rendimento menor sendo que no nº 19 esta diferença foi significativa.

2. Todos os vinhos obtidos da flora nativa selecionada no Rio Grande do Sul apresentaram-se com maior acidez volátil que o vinho obtido da fermentação com o padrão.

3. O padrão, *Saccharomyces cerevisiae* "Montrachet" foi o primeiro a terminar a fermentação, depositando-se também com muito maior velocidade que os outros.

4. *Saccharomyces cerevisiae* nº 12 isolado de uma fermentação de uvas brancas da região de Caxias do Sul, apresentou resultados semelhantes ao padrão; no entanto, formou gás sulfídrico no vinho.

5. A qualidade geral de alguns vinhos foi boa, o que demonstra a possibilidade de utilização de alguns microorganismos existentes no Estado se forem selecionados e purificados.

BIBLIOGRAFIA

1. AMERINE, M.A. & OUGH, C.S. Methods for analysis of musts and wines. New York, John Wiley & Sons Inc., 1980, 341 p.
2. AMERINE, M.A.; ROSSLER, E.B.; FILIPELLO, F. Modern sensory methods of evaluating wine. Hilgardia, 28(18): 477-567, 1959.
3. CASTELLI, T. Yeasts of wine fermentations from various regions in Italy. Am. J. Enol. & Vit. 6:18-20, 1955.
4. CASTELLI, T. Lieviti e Fermentazioni in Enologia. Rome, Luigi Scialpi Editore, 1960. 73 p.
5. CASTOR, J.G.B. Fermentation products and flavor profiles of yeasts. Wines and vines, 35(8):29-31, 1954.
6. DAUDT, C.E. & BRUM, M.A.R. Aspectos microbiológicos de mostos do Rio Grande do Sul. I-Isolamento e testes morfológicos e bioquímicos. Rev. Centro de Ciências Rurais, 7(2):123-128, 1977.
7. FLORENZANO, G. La microflora blastomiceta dei mosti e dei vini di alcune zone della Toscana. Am. Sper. Agrar., Rome, (N.S.) 3(4):887-918, 1949.
8. MESTRE, A.C. & MESTRE, J.A. Min. Agr. Inst. Nac. Invest. Agron., Estación Vit. y Enol., Villafranca del Tago, Madrid, 1946. 28 p. (Cuaderno 68).
9. OUGH, C.S.; FONG, D.; AMERINE, M.A. Glycerol in wine: determination and some factors affecting. Am. J. Enol. & Vit., 23(1):1-5, 1972.
10. RANKINE, B.C. Quantitative difference in products of fermentation by different strains of wine yeasts. Am. J. Enol. & Vit., 6:1-10, 1955.
11. SALLER, W. Die Spontane Sprosspilz Flora Frisch Geprester Traubensaft und die Reinhefegarung. Mitt. Rebe u. Wein, Serie A, (Klosterneuburg), 7:130-138, 1957.
12. SCHULLE, H. Die Bedeutung der Apiculatus Hefen für die Gärtätigkeit der Echten Weinhefen in Zuckerreichen Mosten. Archiv. Microbiol., 18:342-348, 1953.
13. SCHULLE, H. Über das Zusammenwirken von Hefen der Gattung *Saccharomyces* und der Untergattung *Zygosaccharomyces* bei der Vergärung von Zuckerreichen Mosten. Archiv. Microbiol., 18:133-148, 1953.
14. TOLEDO, O. & TEIXEIRA, C.G. Vantaggi della Associazione di Lieviti nella Fermentazioni Vinaria: riduzione dell acidità volatile nei vini. Agricoltura Italiana, 55:155-164, 1955.
15. TOLEDO, O. & TEIXEIRA, C.G. O emprego de leveduras selecionadas na fermentação do vinho. Campinas, Inst. Agronômico, 1957, p.: 251-260 (Boletim Técnico nº 16).