

## UTILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO DURANTE A FERMENTAÇÃO DE MOSTOS\*

### Nitrogen Consumption During Must Fermentation

Neidy G. Garcia\*\* e Carlos E. Daudt\*\*\*

#### **RESUMO**

O conteúdo e consumo de nitrogênio total foi seguido durante a fermentação até o vinho ser engarrafado. Duas variedades de *Vitis vinifera* (Flora e Napa Gamay) foram utilizadas. Os mostos obtidos foram fermentados normalmente e analisados periodicamente em seu conteúdo de nitrogênio total. As amostras foram centrifugadas para separação das leveduras em uma velocidade de 2.000rpm durante 15 minutos e nitrogênio foi quantificado pelo método de micro-kjeldahl no líquido sobrenadante da centrifugação. Valores iniciais variaram entre 238-282mg/l de nitrogênio total. Estes valores diminuíram em aproximadamente 50% após o início da fermentação como consequência da reprodução das leveduras. No final observou-se um leve aumento em nitrogênio total no líquido sobrenadante proveniente da autólise das leveduras.

**UNITERMOS:** fermentação, mustos, nitrogênio.

#### **SUMMARY**

Total nitrogen was followed during fermentation until the wine was bottled. Two varieties of *Vitis vinifera* (Flora and Napa Gamay) were used. Periodically samples were taken from the musts, centrifuged to separate yeasts at 2,000rpm and 15 minutes. The liquid from centrifugation was analyzed for N by the micro-kjeldahl method slightly modified. Initial values for Flora and Napa Gamay were 238 and 282mg/l respectively. During early stages of fermentation yeasts used around 50% of this N. At the end of fermentation some of this N went back to the wine as a result of yeast autolysis.

**KEY WORDS:** fermentation, musts, nitrogen.

\* Parte do trabalho realizado para a Dissertação de Mestrado, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos - Centro de Ciências Rurais - Universidade Federal de Santa Maria, RS.

\*\* Aluna do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos - Centro de Ciências Rurais - Universidade Federal de Santa Maria.

\*\*\* Professor do Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos - CCR - UFSM. Pesquisador do CNPq.-97.119-Santa Maria-RS.

## INTRODUÇÃO

Os compostos nitrogenados presentes em mostos e vinhos são de extrema importância devido seu relevante papel na nutrição das leveduras (11), na clarificação, no desenvolvimento bacteriano (1) e no conteúdo de muitos compostos que aparecem no vinho, tais como ácidos orgânicos, álcoois superiores e ésteres (3, 5, 10).

Existem no vinho diferentes tipos de compostos nitrogenados: proteínas, peptonas, polipeptídeos, amidas, aminas, aminoácidos, amônia, etc.

A quantidade de nitrogênio total presente em mostos é muito variável. Esta quantidade depende da variedade da uva, da região, das condições climáticas, do solo, etc. DAUDT et alii (6) analisaram dez variedades de uvas cultivadas no Município de Bento Gonçalves (RS), obtendo como média das determinações um valor de 379,12mg/l de nitrogênio total.

No vinho, as quantidades de nitrogênio total são menores em relação ao mosto de origem. Esta diminuição, muito significante no primeiro estágio da fermentação, ocorre devido a utilização do nitrogênio pelas leveduras, que o utilizam para sua multiplicação e posterior fermentação. GORINSTEIN et alii (9) observaram estas alterações durante e após a fermentação em vinhos de Israel. Observaram um leve aumento no conteúdo de nitrogênio total no final da fermentação, provavelmente devido a autólise de leveduras, seguido de uma nova diminuição após a fermentação ter finalizado. Este último decréscimo é devido a deposição de muitas substâncias nitrogenadas.

O presente trabalho tem por objetivo quantificar o nitrogênio total presente em mostos e vinhos de duas variedades viníferas, bem como acompanhar a evolução e consumo deste nitrogênio durante diferentes etapas de fermentação.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras contaram de duas variedades de *Vitis vinifera* Flora (variedade branca) e Napa Gamay (variedade tinta), provenientes da National Distillers do Brasil S.A., Palomas, Santana do Livramento, RS.

Por ocasião do esmagamento apresentaram a seguinte constituição:

Variedade	$^{\circ}$ Brix	Acidez total *g H <sub>2</sub> Ta/100 ml	pH
Flora	18,50	0,50	3,40
Napa Gamay	17,90	6,64	3,25

\* H<sub>2</sub>Ta = Ácido tartárico.

As uvas foram esmagadas e desengaçadas na própria cantina e posteriormente trazidas para o Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria, onde receberam tratamento idêntico ao já citado anteriormente por DAUDT & GARCIA (7, 8).

As amostras foram coletadas antes e depois da inoculação da cultura pura, periodicamente a cada 3°Brix consumido aproximadamente durante a fermentação, no final da fermentação, antes da primeira e segunda trasfega e dois meses após a segunda trasfega. Cada variedade de uva teve nove amostras coletadas e cada amostra teve três repetições.

Nitrogênio total foi analisado pelo método de micro - kjeldahl de acordo com BREMER (4) adaptado por TEDESCO (12) com algumas modificações realizadas pelos autores. Na amostra - 2ml de mosto ou 5ml de vinho - colocado em tubos de ensaio, foi adicionado água oxigenada (30 volumes), ácido sulfúrico concentrado e mistura de digestão (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O). Em seguida a digestão foi realizada em bloco digestor na capela e a amostra foi destilada em destilador de arraste de vapores semi-micro kjeldahl.

A amostra (10ml) foi centrifugada, numa centrifuga marca Excelsa 4 Fanen Ltda., a 2.000rpm por 15 minutos para separação das leveduras. A determinação foi realizada no sobrenadante proveniente da centrifugação. Para comparação, em algumas amostras foram realizadas análises no sobrenadante, no depósito da centrifugação e na amostra total.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A evolução do conteúdo de nitrogênio total durante e após a fermentação nas duas variedades de *Vitis vinifera* - Flora (variedade branca) e Napa Gamay (variedade tinta) - está representada na Figura 1 e Tabela 1.

Por esta Figura com o início da fermentação o conteúdo de nitrogênio total no meio líquido decresceu gradativamente, seguido de um leve

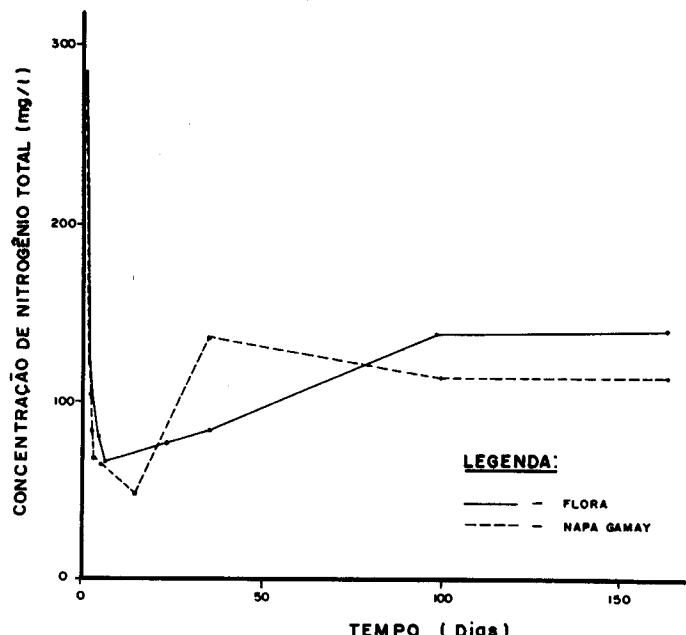


FIGURA 1. Evolução do conteúdo de nitrogênio total durante e após a fermentação nas variedades de *Vitis vinifera* Flora e Napa Gamay.

TABELA 1. Evolução do conteúdo de Nitrogênio total (mg/l) durante e após a fermentação de *Vitis vinifera* variedade Flora e Napa Gamay.

Flora			Napa Gamay		
°Brix	Tempo (dias)	N <sup>XX</sup>	°Brix	Tempo (dias)	N <sup>XX</sup>
18,5	0	282,5	17,9	0	238,8
16,9	1	129,4	17,9	1	139,2
11,6	2	105,7	11,9	2	87,2
5,5	4	80,6	7,3	3	69,2
0,9	6	66,4	3,6	4	67,3
-1,9	24	78,3	-1,3	15	49,1
*1)	36	85,7	*1)	35	139,8
*2)	99	141,4	*2)	99	116,2
*3)	164	142,9	*3)	164	116,1

\* Vinho no final da fermentação, antes da 1ª e 2ª trasfega e 2 meses após a mesma, respectivamente

xx Nitrogênio total analisado na amostra sobrenadante por centrifugação.

aumento no final da mesma. Estas alterações nas quantidades de nitrogênio total também foram observadas por GORINSTEIN et alii (9). O decréscimo de nitrogênio no início da fermentação ocorreu devido a utilização do mesmo como nutriente para reprodução das leveduras. Tarantola apud AMERINE & JOSLYN (2) demonstrou que os fermentos usuais dos vinhos assimilaram de 45,7 a 48,5% de nitrogênio total durante a fermentação alcoólica.

O aumento da quantidade de nitrogênio total (pequeno) observado no final da fermentação, deve-se à autólise das leveduras ou talvez a substâncias que estavam complexadas durante a fermentação. Segundo AMERINE & JOSLYN (2), a quantidade de substâncias nitrogenadas liberadas após o término da fermentação, depende da cepa de levedura, da composição do mosto ou vinho e particularmente da temperatura. Quanto maior a temperatura, mais intensa é a liberação das substâncias nitrogenadas para o meio.

Na variedade de uva tinta (Napa Gamay), a diminuição de nitrogênio durante a fermentação foi mais acentuada e o aumento após a fermentação foi menor (Figura 1 e Tabela 1) devido provavelmente a presença de taninos (maior em tintos), os quais se combinam com as proteínas, precipitando-as. Este fato comprova o importante papel do nitrogênio na classificação dos vinhos. Resultados semelhantes foram obtidos por GORINSTEIN et alii (9).

Para a determinação do nitrogênio total foram utilizadas amostras de mosto e vinho centrifugados a 2.000rpm por 15 minutos. Nesta velocidade de centrifugação, a maior parte das leveduras presentes no meio foram depositadas (Tabela 2) não sendo quantificadas juntamente com o nitrogênio presente no meio líquido.

TABELA 2. Teor de Nitrogênio total (mg/l) em uma amostra de mosto em função da velocidade de centrifugação (rpm) num período de 15 minutos.

Velocidade de centrifugação	Nitrogênio total no sobrenadante
1.000	156,6
2.000	128,1
3.000	125,5
4.000	125,7

Observando a Tabela 3 os resultados demonstraram que o nitrogênio presente na amostra total é igual a soma do nitrogênio do sobrenadante e do depósito da centrifugação; portanto o uso do sobrenadante como método adotado isenta o conteúdo de nitrogênio contido nas leveduras e melhor aproxima o consumo pelas mesmas.

TABELA 3. Teor de Nitrogênio total (mg/l) no sobrenadante, no depósito da centrifugação e na amostra total nas variedades Flora e Napa Gamay.

	Teor de Nitrogênio Total		
	Sobrenadante	Depósito da Centrifugação	Amostra Total
Flora	101,1	100,6	299,9
Napa Gamay	89,1	174,6	273,5

## CONCLUSÃO

- 1) Os mostos analisados apresentaram quantidades suficientes de nitrogênio total para garantir a fermentação até o final.
- 2) As leveduras ao se reproduzirem consomem grande quantidade de nitrogênio diminuindo substancialmente seu teor no meio líquido na fase inicial da fermentação.
- 3) O teor de nitrogênio total líquido, que diminuiu durante a fermentação, aumenta novamente no final do processo fermentativo, como consequência da autólise das leveduras.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o CNPq pelo parcial financiamento deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERINE, M.A.; BERG, H.W. & CRUESS, W.V. *The Technology of Wine Making*. 3 rd edition, Westport, Conn. Avi Publishing Co., 1972. 802p.
2. AMERINE, M.A. & JOSLYN, M.A. *Table Wines: the technology of their production*. Berkeley and Los Angeles, University of California Press, 1970. 997p.

3. BELL, A.A.; OUGH, C.S. & KLEWER, W.M. Effects on must and wine composition, rates of fermentation, and wine, quality of nitrogen fertilization of *Vitis vinifera* var. Thompson seedless grapevines. *Am.J.Enol.Vitic.*, California, 30(2):124-9, 1979.
4. BREMMER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy. 1965. v.2, Cap. 83, p.1149-76.
5. CATALINA, L.; SARMIENTO, R.; ROMERO, R.; VALPUESTA, V. & MAZUELOS, C. Estudio de la fertilización diferenciada en la vid. I - Evolución del nitrógeno total, nitrógeno proteico, aminoácidos libres y prolina. *An.Edafol.Agrobiol.*, Cuarto, 40(3-4):667-75, 1981.
6. DAUDT, C.E.; CONTE, A. & MENEGUZZO, J. Teor de nitrógenio total e fósforo em algumas variedades de uva. *Rev. do Centro de Ciências Rurais*, Santa Maria, 5(4):317-22, 1975.
7. DAUDT, C.E. & GARCIA, N.G. Minerais em videiras, mostos e vinhos brasileiros. I - Minerais em vinhos. *Rev.Soc.Bras.Ciê.Tecnol. Alim. (S.B.C.T.A.)*, 7(1):72-81, 1987.
8. DAUDT, C.E. & GARCIA, N.G. Minerais em videiras, mostos e vinhos brasileiros. II - Minerais em mostos e sua evolução durante a fermentação. *Rev. S.B.C.T.A.*, no prelo.
9. GORINSTEIN, S.; GOLDBLUM, A.; KITOV, S. & DEUTSCH, J. Fermentation and post-fermentation changes in Israel wines. *J.Food Sci.*, Chicago, 49(1):251-6, 1984.
10. OUGH, C.S. & LEE, T.H. Effect of vineyard nitrogen fertilization level on the formation of some fermentation esters. *Am.J.Enol. Vitic.*, California, 32(2):125-7, 1981.
11. PRESCOTT, S.C. & DUNN, C.G. *Las Leveduras. Microbiología industrial*. Madrid, Aguilar, 1962. Cap. 2, p.13-65.
12. TEDESCO, M.J. Extração simultânea de nitrógenio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio em tecido de plantas por digestão por  $H_2O_2-H_2SO_4$ . Porto Alegre, Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS, 23p. 1982 (Informativo interno, 1-82).