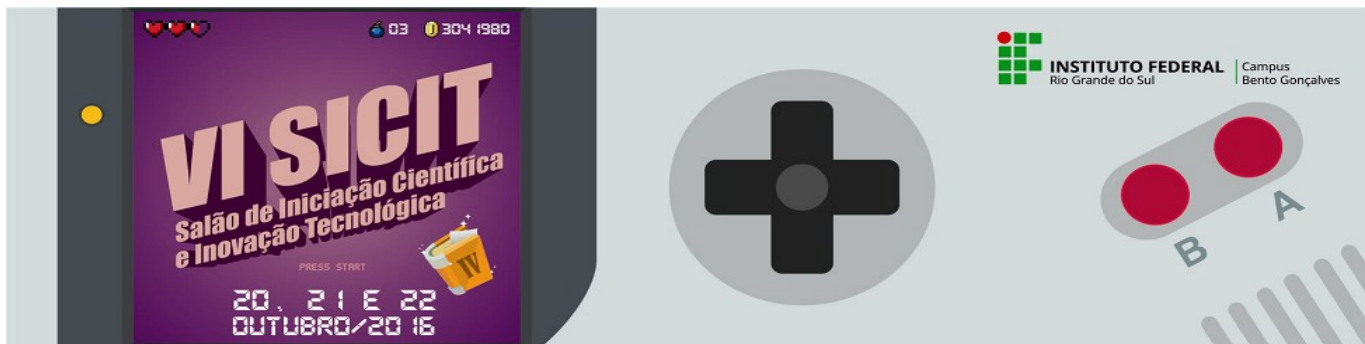




SELEÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS AUTÓCTONES DE VINHOS DA SERRA GAÚCHA

FENSTERSEIFER, L.C.¹; MIOTTO, S.P.S.²; ROSSATO, S.B.³; VALDUGA, E.⁴; CANSIAN, R.L.⁵; FICAGNA, E.⁶.

RESUMO – Para a produção de vinhos tintos, além da fermentação alcoólica também é realizada a fermentação malolática, uma descarboxilação que permite reduzir a acidez e elevar a qualidade sensorial. No Brasil, as vinícolas de grande porte realizam a mesma com o uso de bactérias selecionadas, isoladas principalmente na Itália e França. Diante disto, decidiu-se investigar quais bactérias autóctones do Brasil participam deste processo e quais delas possam estar melhor adaptadas a ele. Foi realizado o isolamento das mesmas a partir de vinhos tintos e após isto testou-se seu potencial fermentativo. Dos 13 isolados obtidos de 6 amostras de vinhos, 11 apresentaram características de potencial enológico. Os métodos aplicados neste estudo permitiram isolar e testar o potencial fermentativo de bactérias ácido lácticas autóctones.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentação malolática, adaptação ecológica, bactérias lácticas, vinhos tintos.

1 INTRODUÇÃO

A produção de uvas no Brasil encontra-se principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste (PROTAS et al., 2002). O RS é responsável por uma produção de 791.845 toneladas, correspondente a 57% da produção nacional (IBGE, 2011). Apesar desse grande

¹Estudante, Curso Tecnologia em Viticultura e Enologia, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS, leticia.fens@gmail.com

²Bióloga, Mestre, Técnica Laboratório, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS. Fone (54) 3455-3200, paula.miotto@bento.ifrs.edu.br

³Farmacêutica, Profª Doutora, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS. Fone (54) 3455-3200, simone.rossato@bento.ifrs.edu.br

⁴Eng. Química, Profª Doutora, URI campus Erechim, Av. 7 de setembro, 1621, CEP 99709-710, Erechim, RS. Fone (54) 3520-9000, veunice@uricer.edu.br

⁵Eng.º Agrônomo, Prof. Doutor, URI campus Erechim, Av. 7 de setembro, 1621, CEP 99709-710, Erechim, RS. Fone (54) 3520-9000, cansian@uricer.edu.br

⁶Orientador, Eng.º Agrônomo, Prof. Doutor, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS. Fone (54) 3455-3200, evandro.ficagna@bento.ifrs.edu.br

volume de uvas, a produção de vinhos finos é relativamente recente no Brasil, entretanto, o interesse por essa atividade tem se intensificado nos últimos anos (BINATI, 2015). Dentro deste contexto, a região que mais se destaca no país é a Serra Gaúcha, pois apresenta sazonalidade adequada para a produção de uvas viníferas.

Após a obtenção do mosto, são adicionadas leveduras comerciais dando início a fermentação alcoólica (FA). Ao final desta, geralmente os vinhos tintos são conduzidos a Fermentação Malolática (FML) realizada por bactérias ácido lácticas (BAL), principalmente dos gêneros *Oenococcus* e *Lactobacillus*, que atuam na descarboxilação do ácido málico em ácido láctico, culminando na redução na acidez total do vinho, aumento do pH, estabilização microbiológica e produção de compostos relacionados ao aroma e sabor do produto final (BINATI, 2015). As pequenas vinícolas da região costumam deixar que o processo de FML inicie espontaneamente após a FA, o que não permite que haja controle do processo. As bactérias utilizadas nas grandes vinícolas são importadas da Itália e da França, possuindo custo elevado. Assim, o objetivo deste trabalho foi isolar BAL de amostras de vinhos e estudar seu potencial para utilização como culturas iniciadoras a fim de promover a fermentação malolática em vinhos finos tintos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas amostras de vinhos tintos após FA de vinícolas da região da Serra Gaúcha das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon, safra 2015, e Pinot Noir, safra 2016. Os volumes (500 mL). Após, as amostras foram levadas ao Laboratório de Microbiologia do IFRS para realização dos ensaios. Foram realizadas as análises físico-químicas de acordo com protocolo da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV, 2016) pH, grau alcoólico, acidez total e acidez volátil.

Procedeu-se o isolamento transferindo-se 100 mL das amostras para *erlenmeyers* estéreis, que foram incubados a 18°C durante 48 horas para adensar a microbiota existente. Na sequência, foi realizada semeadura em superfície em ágar *Man Rogosa Sharpe* (MRS), com o auxílio de Alça de *Drigalski*, para crescimento e seleção das colônias típicas de BAL. As colônias com características desejáveis foram repicadas com alça de platina para ágar MRS e, após crescimento, uma alçada foi cultivada em tubos contendo 10 mL de Vinho Sintético (VS) (4g L⁻¹ extrato levedura; 2g L⁻¹ glicerol; 6g L⁻¹ D-L ácido málico; 10% etanol absoluto

v/v) com pH inicial de 3,5 conforme Solieri et al. (2009). A análise foi feita em triplicata. As amostras foram acondicionadas em agitador orbital com 20 rpm e temperatura de 18°C durante 48 horas, quando verificou-se a turvação do meio. O crescimento de biomassa foi avaliado com leitura em espectrofotômetro UV-VIS a 660 nm após sete dias da incubação.

Para confirmação do isolamento das BAL, as seguintes características foram analisadas: tamanho, cor, forma, bordas, elevação, superfície, consistência, transparência e brilho. Normalmente espera-se que, sob as mesmas condições de temperatura, pH e composição do meio de cultivo, as bactérias formem colônias de aspecto constante e que possam fornecer informações adicionais para sua identificação (BINATI, 2015). Além disso, os isolados foram submetidos à coloração diferencial de Gram, utilizando-se para isso culturas novas crescidas em placas com meio MRS. O protocolo para a coloração foi seguido de acordo com o descrito por Solieri et al. (2009).

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) ao nível de 1% de probabilidade seguida de teste de Tukey ($p < 0,05$) por meio do software Assistat (SILVA, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das seis amostras iniciais dos vinhos, foi possível o isolamento de 13 colônias puras, sendo que 11 delas apresentaram características morfológicas compatíveis com as esperadas para BAL: cor branca, forma circular puntiforme, bordas e superfícies lisas, consistência cremosa e aparência brilhante, resultados similares aos encontrados por Binati (2015) e Solieri et al. (2009).

Entretanto, a amostra de C. sauvignon proveniente do distrito de Tuiuty apresentou também um grupo de leveduras. Isto pode ser explicado pelo fato de que a amostra foi coletada em final de FA, ou seja, existe a possibilidade de que algumas leveduras remanescentes ainda estivessem vivas. Já na amostra de Pinot noir (Vale dos Vinhedos), foi possível identificar dois grupos de colônia com cores distintas, sendo um de cor branca e outro de cor levemente amarelada. Quando realizada a microscopia óptica e o teste para coloração de Gram, todos os isolados se comportaram como bactérias Gram positivas, apresentando formato de pequenos cocos arranjados em cadeia, o que, segundo Binati (2015), é esperado para BAL do gênero *Oenococcus*.

Os isolados selecionados tiveram seu desempenho avaliado em meio líquido (VS). Na Figura 2, onde são apresentados os resultados referentes ao crescimento, é possível perceber

que todos os isolados conseguiram desenvolver a biomassa, sendo que os que apresentaram os menores desempenhos foram CSTuiuty3-15 (levedura) e PNvale1-16 (colônia amarela), e o melhor desempenho foi observado no MEtuity2-15. Os demais isolados comportaram-se de maneira similar.

4 CONCLUSÕES

As técnicas empregadas permitiram o crescimento e isolamento de BAL de vinhos da serra gaúcha na FML espontânea em vinho sintético, podendo inferir-se que as mesmas possuem potencial para aplicação enológica.

6 REFERÊNCIAS

- BINATI, R.L. **Avaliação da fermentação maloláctica em vinhos de altitude com bactérias ácido-lácticas autóctones selecionadas**. 2015, 111 p. Dissertação – UFSC, Florianópolis.
- IBGE, 2011. Sistema de recuperação automática. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp>. Acesso: 5 mai. 2016.
- INTERNARIONAL ORGANIZATION OF VINE AND WINE, 2016. **Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts**. Edition 2016. Disponível em: <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-analysis/compendium-international-methods-analysis-wines-and-musts-2-vol>. Acesso em 20 de agosto de 2016.
- PAN, C.S.; LEE, T. H.; FLEET, G. H. **A comparison of five media for the isolation of lactic acid bacteria from wines**. Australian Grapegrower and Winemaker, 1982, v. 220.
- PROTAS, J.F., CAMARGO, U.A., MELLO, L.M.R., 2002. **A Vitivinicultura Brasileira: Realidade E Perspectivas**. Em: Simpósio Mineiro de Viticultura E Enologia, Andradas.
- SILVA, F.A.S. **ASSISTAT: Versão 7.7 beta**. DEAG-CTRN-UFGG. Disponível em <http://www.assistat.com/>. Acessado em: 15 de agosto de 2016.
- SOLIERI, L., GENOVA, F., DE PAOLA, M., GIUDUCI, P., 2009. **Characterization and technological properties of *Oenococcus oeni* strains from wine spontaneous malolactic fermentations: a framework for selection of new starter cultures**. *Journal of applied microbiology*, v. 108, p. 285–298.

WIBOWO, D.; ESCHENBRUNCH, R.; DAVIS, C.; FLEET, G., LEE, T. **Occurrence and growth of lactic acid bacteria in wine:** Review. American Journal of Enology and Viticulture, v. 36, 1985.