

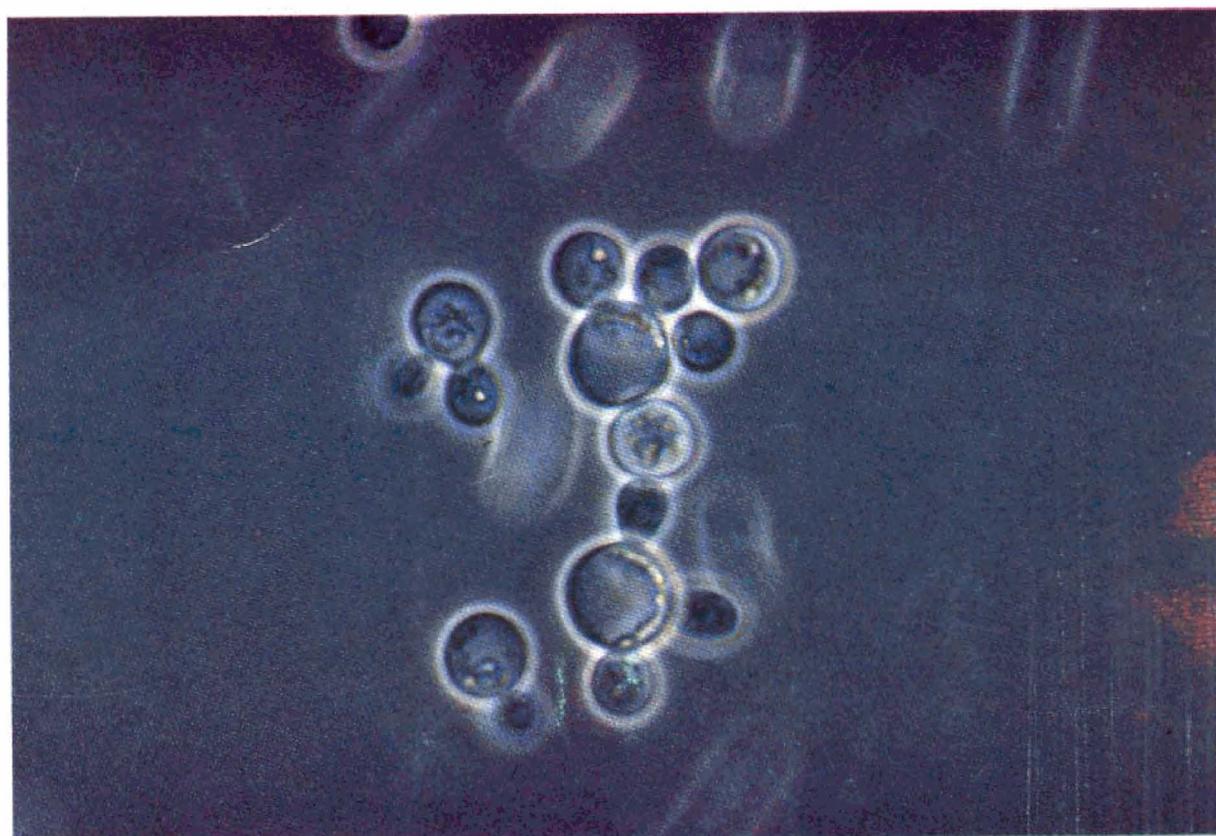
Circular Técnica

Número 14

ISSN 0100-6835

Setembro, 1987

**LEVEDURAS NACIONAIS SELECIONADAS
PARA A ELABORAÇÃO DE VINHO**



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho - CNPUV
Bento Gonçalves, RS**

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: José Sarney

Ministro da Agricultura: Iris Rezende Machado

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Presidente: Ormuz Freitas Rivaldo

Diretores: Ali Aldersi Saab
Derli Chaves Machado da Silva
Francisco Ferrer Bezerra

Chefe do CNPUV: Gilmar Barcelos Kuhn

Chefe Adjunto de Apoio: Jorge Tonietto

Chefe Adjunto Técnico: Umberto Almeida Camargo

Circular Técnica
Número 14

ISSN 0100-6835
Setembro, 1987

**LEVEDURAS NACIONAIS SELECIONADAS
PARA A ELABORAÇÃO DE VINHO**

Maria Angela Amazonas Almeida da Silva
Gildo Almeida da Silva



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho - CNPUV
Bento Gonçalves, RS

Copyright © EMBRAPA - 1987

Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao:
CNPUV

Rua Livramento, 515

Telefone: (054) 252.2144

Telex: (0543) 871

Caixa Postal 130

95700 Bento Gonçalves, RS

Comitê de Publicações: Amaury Felisberto Dal Conte
Jorge Tonietto (Presidente)
Loiva Maria de Mello Freire
Maria Regina Cunha Martins
Sadi Manfredini

Tiragem: 1.500 exemplares

Silva, Maria Angela Amazonas Almeida da.

Leveduras nacionais selecionadas para a elaboração de vinho/
Maria Angela Amazonas Almeida da Silva, Gildo Almeida da Sil-
va. — Bento Gonçalves : EMBRAPA-CNPUV, 1987.

19 p. — (EMBRAPA-CNPUV. Circular técnica ; 14)

1. Vinho. 2. Levedura. 3. Fermentação. 4. Vinho-Fabricação.
I. Silva, Guido Almeida da. II. Empresa Brasileira de Pesquisa
Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho, Ben-
to Gonçalves, RS. III. Título. IV. Série.

CDD 663.2

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. ESTRATÉGIA ADOTADA NUM PROJETO DE SELEÇÃO DE LEVEDURAS PARA A INDÚSTRIA VINÍCOLA NACIONAL	7
3. ETAPAS EXECUTADAS E RESULTADOS OBTIDOS	8
3.1. Isolamento e manutenção de leveduras	8
3.2. Teste em tubo de ensaio	8
3.3. Teste ao nível de microvinificação	9
3.4. Testes em escala industrial	12
3.4.1. Testes na Cantina Experimental da EMBRAPA/CNPUV - safras 1984 e 1985	12
3.4.2. Testes em cantinas particulares - safra 1985	15
4. CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE PESQUISA	17
5. RECOMENDAÇÕES	18
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	19

LEVEDURAS NACIONAIS SELECIONADAS PARA A ELABORAÇÃO DE VINHO

Maria Angela Amazonas Almeida da Silva
Gildo Almeida da Silva¹

1. INTRODUÇÃO

Na elaboração de vinho, a transformação do açúcar do mosto em álcool se dá graças à ação das leveduras, sendo que o rendimento e a velocidade do processo dependem, entre outros fatores, da linhagem empregada.

O papel desses microrganismos na formação do aroma foi previsto por Pasteur em 1876 e confirmado por diversos pesquisadores que o sucederam. Pode-se afirmar que diferenças entre vinhos obtidos a partir de um mesmo mosto, fermentados por distintas leveduras, em condições idênticas, devem ser atribuídas aos produtos secundários formados durante a fermentação. Entre esses produtos, os álcoois superiores e esteres desempenham um papel preponderante. As leveduras mais alcoolígenas, principalmente da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, produzem os teores mais elevados de tais produtos; porém, as concentrações relativas dos diferentes componentes são variáveis em função das linhagens que podem, assim, imprimir um caráter particular ao aroma de diferentes vinhos. As leveduras são também responsáveis pelo aparecimento de aromas desagradáveis, como o de sulfetos e mercaptanos. Variações na composição do mosto, pH, temperatura de fermentação e resíduos de defensivos são alguns dos fatores que influenciam o metabolismo do microrganismo na produção de tais compostos, sendo que a resposta a estas variações depende da linhagem utilizada. A formação de sulfeto de hidrogênio (H_2S), com conseqüente aparecimento de cheiro de ovo podre e gosto de chope, tem reflexos econômicos, pois sua eliminação demanda sempre despesas suplementares e perda da qualidade do produto. Muitos são os fatores que podem estimular a produção de H_2S pelas leveduras, mas poucos podem impedi-la. Um desses fatores, a linhagem de levedura, pode ser controlado por uma seleção adequada.

¹ Bioméd., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho (CNPUV), Caixa Postal 130, CEP 95700 Bento Gonçalves, RS.

Entre, ainda, os produtos secundários formados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica, destacam-se os polióis, principalmente o glicerol e o 2-3 butanodiol. O primeiro representa cerca de um terço do extrato seco e contribui para a maciez e o aveludado do vinho. O segundo é um componente estável do extrato seco, de sabor doce e amargo.

Isto posto, pode-se deduzir que a fermentação espontânea leva a uma grande variação na qualidade dos vinhos. Embora o anidrido sulfuroso iniba grande parte dos microrganismos prejudiciais, a microflora que permanece ativa no mosto é bastante heterogênea.

O emprego de leveduras selecionadas, com características próprias para a produção de determinado tipo de vinho, oferece uma série de vantagens, tais como: fermentação completa e regular, maior produção em álcool, produção controlada de acidez volátil, possibilidade de uma clarificação mais rápida do vinho e melhoria da sua estabilidade biológica. Nas condições de grandes cantinas modernas, o aperfeiçoamento da fermentação alcoólica é praticamente impossível sem o uso de linhagens de leveduras selecionadas, com propriedades fisiológicas, bioquímicas e enológicas conhecidas e padronizadas. Com leveduras selecionadas torna-se possível a obtenção, de ano para ano, de produtos mais uniformes, sendo as pequenas variações devidas à oscilação do mosto conforme as condições climáticas que caracterizam os diversos anos.

Atualmente, o uso de culturas puras na indústria de vinho é comum em muitas partes do mundo, tais como Austrália, Estados Unidos, Alemanha e Tcheco-Eslováquia. Numa enquete, realizada em 1974 pelo Ofício Internacional da Uva e do Vinho com o objetivo de estabelecer um catálogo das linhagens utilizadas, verificou-se que a maior parte é constituída por linhagens puras, as quais provêm de leveduras selvagens selecionadas. Quanto à forma de comercialização, elas são liberadas sob forma líquida diluída ou concentrada, em pasta, em meio geloso ou como leveduras secas ativas (Office International de la Vigne et du Vin 1975).

No Brasil, o emprego de leveduras selecionadas no processo de elaboração de vinho constitui um dos fatores de primordial importância para a sensível melhoria da qualidade do produto observada nos últimos anos. No entanto, a inexistência de leveduras nacionais selecionadas para este fim implica a necessidade de sua importação, o que nem sempre leva o produto ao padrão de qualidade esperado e dificulta

a adoção da tecnologia pelos pequenos e médios produtores. Sabe-se que leveduras selecionadas a partir da microflora do local onde vão ser usadas têm maior probabilidade de apresentar melhores resultados, por estarem adaptadas às condições climáticas e práticas culturais específicas da região. Inclusive os critérios adotados na seleção podem diferir de uma região para outra em função desses fatores. A colocação no mercado nacional de leveduras autóctones selecionadas representará uma melhoria na qualidade do vinho brasileiro, tornando a tecnologia acessível às pequenas e médias empresas e incrementando sua utilização pelas empresas de grande porte.

2. ESTRATÉGIA ADOTADA NUM PROJETO DE SELEÇÃO DE LEVEDURAS PARA A INDÚSTRIA VINÍCOLA NACIONAL

Partindo-se da hipótese de que leveduras selecionadas a partir da microflora da região brasileira onde se concentra a maior produção de vinho são passíveis de produzir uma melhoria na qualidade do vinho nacional, iniciou-se um trabalho durante a safra vinícola de 1981 com o isolamento das linhagens de leveduras que serviriam como material básico para a seleção.

Devido ao processo de elaboração de vinho branco, onde a casca da uva é separada do mosto imediatamente após a prensagem, a fermentação é grandemente retardada, ou até mesmo inibida, se não houver adição de leveduras. No caso do vinho tinto, a fermentação ocorre por conta das leveduras presentes na casca da uva, embora de uma forma irregular. Considerando estes fatos, direcionou-se a seleção de leveduras para o vinho branco.

Para acelerar o trabalho, procurou-se adotar critérios que pudessem ser avaliados simultaneamente, e para um grande número de linhagens ao mesmo tempo, o que só seria praticável num teste em tubo de ensaio. A produção de H_2S , composto indesejável no vinho por lhe conferir odores estranhos, logo se destacou como um critério de fundamental importância e mereceu a atenção dos primeiros esforços, dos quais resultou a adaptação de um método qualitativo para detectar a sua produção por leveduras vínicas. O problema foi levantado pela própria indústria vinícola, tendo havido suspeita de que leveduras importadas estavam favorecendo a produção do composto. Ao mesmo tempo, dados de velocidade de fermentação, formação de película e floculação puderam ser avaliados. Na vinificação, o mosto não é esterilizado e, portanto, quanto mais rapidamente a levedura selecionada

iniciar a fermentação maior a sua chance de superar as demais leveduras presentes no mesmo. Além disso, ela deverá também ser capaz de finalizar a fermentação, consumindo o açúcar até níveis inferiores a 3 g/l. A formação de película é uma característica das leveduras de fraca fermentação, sendo, portanto, indesejável. A rápida sedimentação após a fermentação (floculação) é importante, pois facilita a remoção da levedura após ter desempenhado sua função.

3. ETAPAS EXECUTADAS E RESULTADOS OBTIDOS

3.1. Isolamento e manutenção de leveduras

As linhagens de leveduras foram isoladas a partir de mosto de uva em início de fermentação. Coletaram-se uvas da cultivar Riesling Itália de um produtor, tendo-se efetuado a adição de anidrido sulfuroso, extração do mosto quanto ao teor de açúcar, conforme procedimento convencional; após o início da fermentação, coletou-se uma amostra para o isolamento das leveduras. As linhagens foram isoladas pela técnica da diluição em série, seguida de plaqueamento em ágar-mosto com antibiótico (25% de mosto de uva + 2% de ágar-ágar + penicilina na base de 2 ml/l de uma solução contendo 10.000 U.O.; pH 3,4). As colônias foram transferidas para tubos de ensaio, tendo sido isoladas 89 linhagens, as quais foram denominadas EMBRAPA-1B a EMBRAPA-89B. As leveduras estão sendo mantidas em ágar-mosto enriquecido com extrato de levedura (25% de mosto de uva + 2% de ágar-ágar + 1% de extrato de levedura), efetuando-se repicagens a cada seis meses.

3.2. Teste em tubo de ensaio

A avaliação enológica das 89 linhagens de leveduras isoladas de mosto de uvas brancas iniciou com um teste em tubo de ensaio, onde os parâmetros velocidade de consumo de açúcar, produção de H₂S, formação de película e floculação foram considerados simultaneamente. Para a determinação qualitativa da produção de H₂S adicionou-se triptona (1%) e sulfito de sódio (0,1%) e fixou-se na tampa do tubo uma fita de papel de filtro, previamente impregnada com solução saturada de acetato de chumbo e secada em estufa. Este método foi adaptado para leveduras vínicas a partir de um utilizado para bactérias, tendo-se mostrado de boa sensibilidade.

Verificou-se que 8 das linhagens são produtoras de H₂S (linhagens EMBRAPA-1B, EMBRAPA-2B, EMBRAPA-8B, EMBRAPA-15B,

EMBRAPA-34B, EMBRAPA-63B, EMBRAPA-64B e EMBRAPA-84B) e uma (linhagem EMBRAPA-8B), além de formar película, apresenta o caráter de floculação. Foi encontrada também uma linhagem que forma película e não produz H₂S (linhagem EMBRAPA-38B).

Os dados de consumo de açúcar não permitiram uma distinção objetiva entre a maioria das linhagens, tendo o teste de Duncan, a nível de 5% de probabilidade, agrupado um grande número de linhagens não diferentes entre si estatisticamente. Na tentativa de se obter um pequeno grupo, passível de ser testado a nível de microvinificação ainda na safra vinícola de 1984, adotou-se o seguinte critério: para cada data de fermentação, foram listadas 25 linhagens por ordem decrescente das respectivas médias de consumo de açúcar. Embora, pelo teste de Duncan a 5%, não tenha sido detectada diferença significativa entre estas linhagens, 5 delas puderam ser destacadas de acordo com seus comportamentos gerais. Duas (linhagens EMBRAPA-20B e EMBRAPA-81B) mantiveram as primeiras posições no período entre o 4° e o 18° dias; e três (linhagens EMBRAPA-82B, EMBRAPA-87B e EMBRAPA-88B) mantiveram-se na posição intermediária até o 15° dia, vindo a assumir as primeiras posições a partir do 21° dia (Fig. 1). Estas linhagens foram, então, “selecionadas” para um ensaio ao nível de microvinificação em culturas puras e mistas. É importante salientar que este critério não obedece a um procedimento estatístico e, portanto, as demais linhagens não devem ser desprezadas. Do ponto de vista prático, no entanto, pareceu ser útil.

3.3. Teste ao nível de microvinificação

Cinco linhagens de leveduras, identificadas como pertencentes à espécie *Saccharomyces cerevisiae*, selecionadas conforme descrito no item anterior, quais sejam, linhagens EMBRAPA-20B, EMBRAPA-81B, EMBRAPA-82B, EMBRAPA-87B e EMBRAPA-88B, foram comparadas com uma levedura importada (Zymasil), de uso corrente na indústria vinícola local.

A figura 2 mostra o consumo de açúcar em função do tempo. Pode-se observar que todas as linhagens autóctones iniciaram o processo de fermentação dentro de 24 horas, enquanto que a levedura importada necessitou de um período de adaptação de 72 horas e apresentou um comportamento geral inferior.

DIAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	
1	1	1	47	20	20	20	20	81	81	81	81	81	81	81	81	81	81	88	82	88	88	82	82	88	88
2	63	50	5	47	81	81	81	20	20	20	20	20	20	20	20	20	3	82	88	82	82	88	88	82	82
3	46	19	31	5	31	31	5	5	5	5	51	3	3	3	3	20	20	84	84	87	84	84	84	84	84
4	50	5	20	31	5	5	31	51	51	51	5	5	5	5	70	82	81	87	87	84	87	87	87	87	87
5	5	31	87	54	47	54	12	31	31	31	3	51	51	68	5	88	30	3	20	83	83	83	36	86	86
6	19	63	1	87	54	12	51	12	19	3	12	68	70	70	51	70	3	20	86	20	86	86	20	36	36
7	10	46	19	81	12	47	54	19	12	19	70	70	68	51	44	30	84	81	3	84	30	20	30	30	30
8	4	47	12	1	19	19	19	54	54	63	68	44	19	44	68	19	87	30	30	36	36	30	83	20	20
9	6	87	50	12	87	51	47	47	44	12	19	31	44	12	63	63	70	86	83	30	81	36	86	83	83
10	2	2	54	19	50	87	50	44	3	44	44	19	12	19	19	5	19	70	81	3	70	81	3	3	3
11	13	54	46	50	51	50	87	63	63	54	31	12	21	21	30	40	5	83	70	81	20	3	81	81	81
12	60	82	82	82	1	82	82	50	68	68	63	63	31	30	12	68	21	44	36	70	89	70	57	70	70
13	47	20	2	2	64	63	63	3	47	70	54	21	30	63	21	21	12	36	89	89	3	89	89	89	89
14	22	88	26	26	82	64	88	87	70	47	21	54	63	88	82	12	68	4	4	85	63	57	70	57	57
15	20	6	81	46	26	1	44	68	50	87	82	30	54	82	88	85	44	6	6	47	12	12	21	12	12
16	78	12	88	88	2	88	1	82	82	50	50	50	88	31	31	50	63	89	63	21	21	21	44	21	21
17	54	26	64	64	88	44	3	88	87	88	87	82	82	54	50	51	6	12	19	12	57	85	4	68	68
18	25	3	6	63	46	2	68	70	88	82	88	88	50	85	54	6	85	21	44	68	4	18	11	44	44
19	87	41	63	51	63	26	64	64	1	21	47	85	85	50	85	84	50	63	57	4	6	4	62	22	22
20	86	62	85	44	3	85	85	1	64	64	30	47	87	87	6	87	16	68	85	18	68	6	12	18	18
21	3	4	51	78	44	68	70	85	85	85	85	87	1	47	87	31	57	19	12	6	44	63	22	63	63
22	9	10	78	6	85	46	2	2	2	1	1	1	47	1	1	54	15	57	5	63	16	68	18	11	11
23	54	13	41	85	68	3	26	26	26	30	64	2	6	15	47	15	14	5	68	16	18	14	24	24	24
24	82	64	62	3	70	70	46	15	30	2	2	6	89	6	15	47	4	50	16	57	24	24	80	4	4
25	41	85	60	60	60	78	24	16	21	15	6	64	15	89	89	25	83	61	21	5	85	16	85	16	16

FIG. 1. Comportamento de 5 linhagens de leveduras da espécie *S. cerevisiae* (Embrapa-81B, Embrapa-81B, Embrapa-82B, Embrapa-87B e Embrapa-88B) em competição num grupo de 89, quando dispostas as 25 melhores, quanto ao consumo de açúcar, em cada data durante 42 dias.

Na tentativa de correlacionar os teores de álcoois superiores, acetato de etila, acetaldeído e glicerol com a qualidade dos vinhos, foram realizadas análises cromatográficas destes componentes, estando os resultados apresentados na tabela 1. Os teores de álcoois superiores e de glicerol encontrados estão de acordo com dados citados na literatura e os de acetato de etila ficaram abaixo da faixa normalmente encontrada (50 a 80 mg/l). A figura 3 ilustra cromatogramas de vinhos elaborados com as linhagens EMBRAPA-20B, EMBRAPA-81B e EMBRAPA-82B em comparação com a levedura importada.

A análise sensorial dos vinhos obtidos indicou que os elaborados com as linhagens EMBRAPA-20B, EMBRAPA-81B e EMBRAPA-82B mostraram-se de qualidade similar ao obtido com a levedura importada. Foram considerados de qualidade inferior os vinhos produzidos com as linhagens EMBRAPA-87B e EMBRAPA-88B, tendo a última conferido um forte odor de acetaldeído ao vinho.

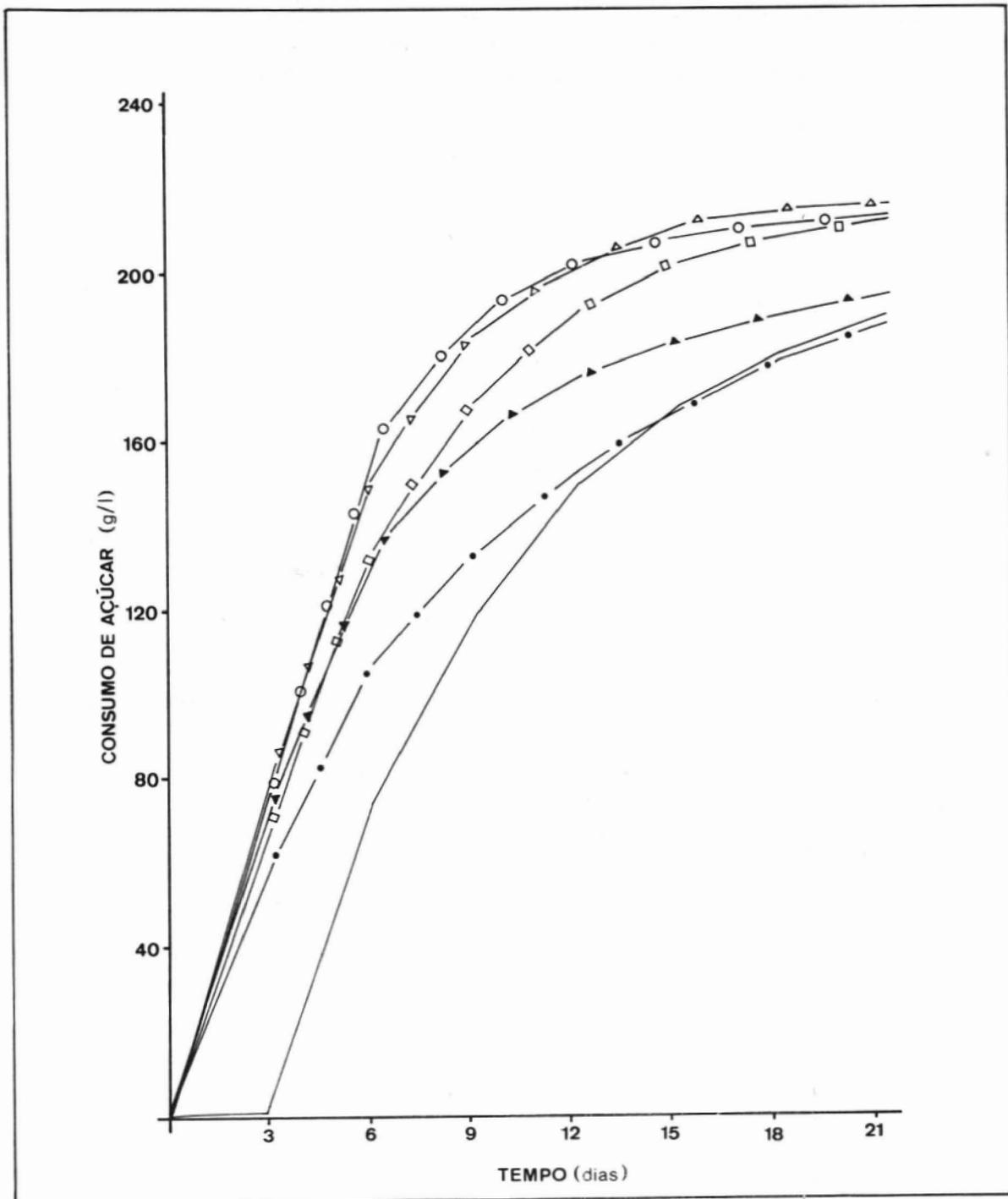


FIG. 2. Consumo de açúcar por cinco linhagens de leveduras autóctones: Embrapa-20B (—o—), Embrapa-81B (—△—), Embrapa-82B (—□—), Embrapa-87B (—●—) e Embrapa-88B (—▲—), em comparação com uma levedura importada (—), em função do tempo de fermentação.

TABELA 1. Componentes do vinho branco, determinados por cromatografia gasosa, em função de diferentes linhagens de leveduras autóctones, em comparação com uma levedura comercial importada.

Leveduras	Componentes					
	Acetaldeído (mg/l)	Acetato de etila (mg/l)	Propanol-1 (mg/l)	Metil-2 propanol-1 (mg/l)	Metil-3 butanol-1 + metil-2 butanol-1 (mg/l)	Glicerol (g/l)
EMBRAPA-20B	83,1	28,2	18,5	13,4	131,8	8,4
EMBRAPA-81B	89,4	24,0	12,0	21,4	153,1	7,1
EMBRAPA-82B	65,9	15,2	9,1	20,5	149,3	5,2
EMBRAPA-87B	75,5	20,0	13,2	28,0	160,9	-
Importada	111,6	26,6	13,6	9,9	116,6	8,3

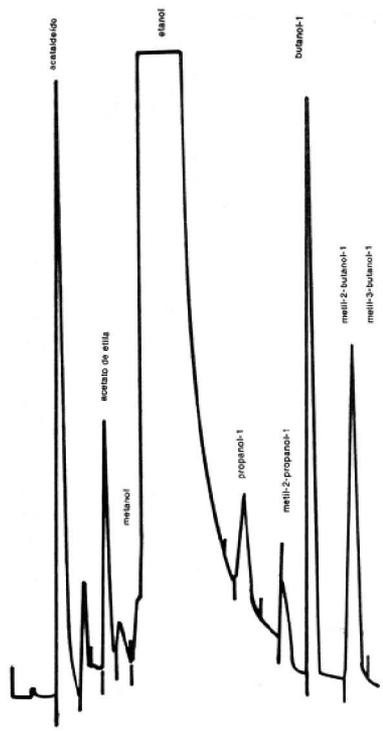
Durante a fase fermentativa das microvinificações, a linhagem EMBRAPA-20B se destacou pelo seu aroma, tendo sido escolhida para um teste na Cantina Experimental da EMBRAPA/CNPUV, aproveitando ainda a safra vinícola de 1984.

3.4. Testes em escala industrial

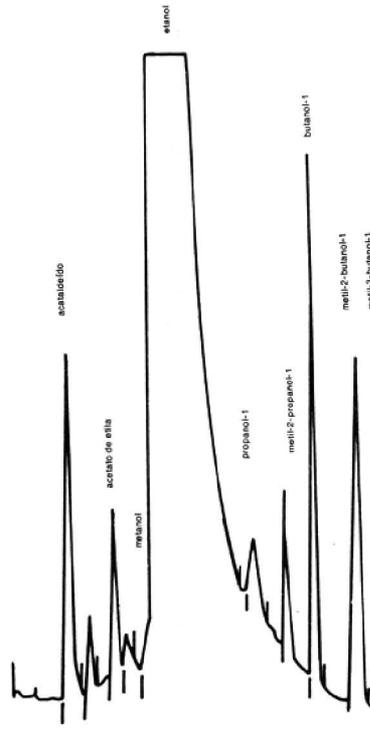
3.4.1. Testes na Cantina Experimental da EMBRAPA/CNPUV - safras 1984 e 1985

Na safra vinícola de 1984, a linhagem EMBRAPA-20B foi testada na vinificação de 20 mil litros de mosto da cultivar Malvasia de Lípari pelo processo convencional de elaboração de vinho branco. O inóculo da levedura foi preparado em escala progressiva, partindo-se de culturas em tubo de ensaio para frascos de Erlenmeyer agitados, fermentador de 50 litros e, finalmente, tanque de aço inoxidável de 20 mil litros. Os resultados foram animadores, tendo a levedura apresentado bom desempenho durante a fermentação e produzido um vinho de qualidade superior ao elaborado com a levedura importada (Zymasil).

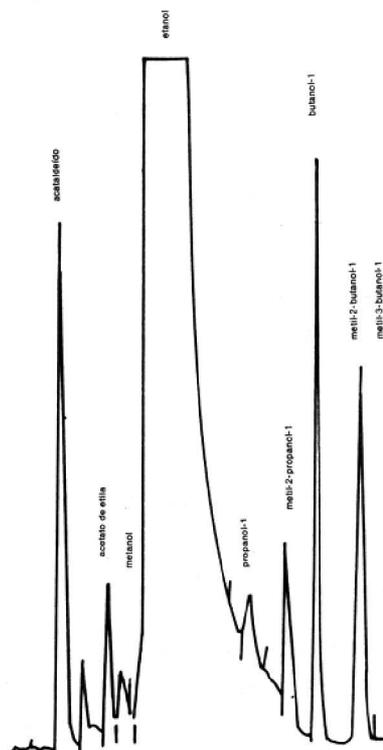
Ainda em 1984, a linhagem foi testada também para a elaboração de 4 mil litros de vinho espumante pelo processo Charmat. A elevação da pressão e o consumo de açúcar durante a fermentação estão ilustrados na figura 4. A pressão atingiu valores acima de 5 atm a partir de 21 dias e o açúcar residual no final do processo ficou abaixo de 2,5 g/l,



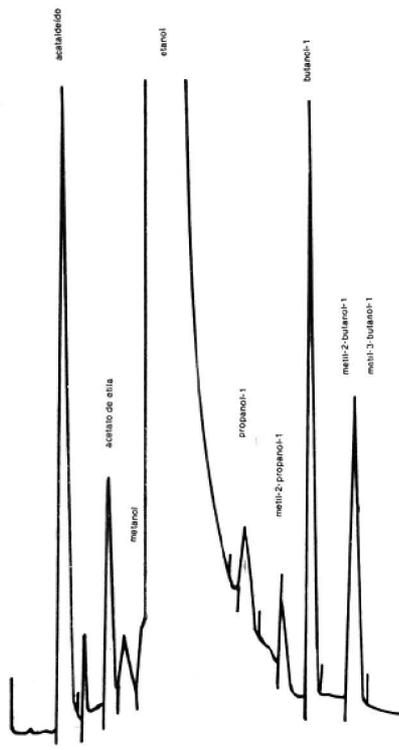
EMBRAPA-20B



EMBRAPA-81B



EMBRAPA-82B



IMPORTADA

FIG. 3. Cromatogramas de vinhos brancos elaborados com as linhagens Embrapa-20B, Embrapa-81B e Embrapa-82B em comparação com uma levedura importada.

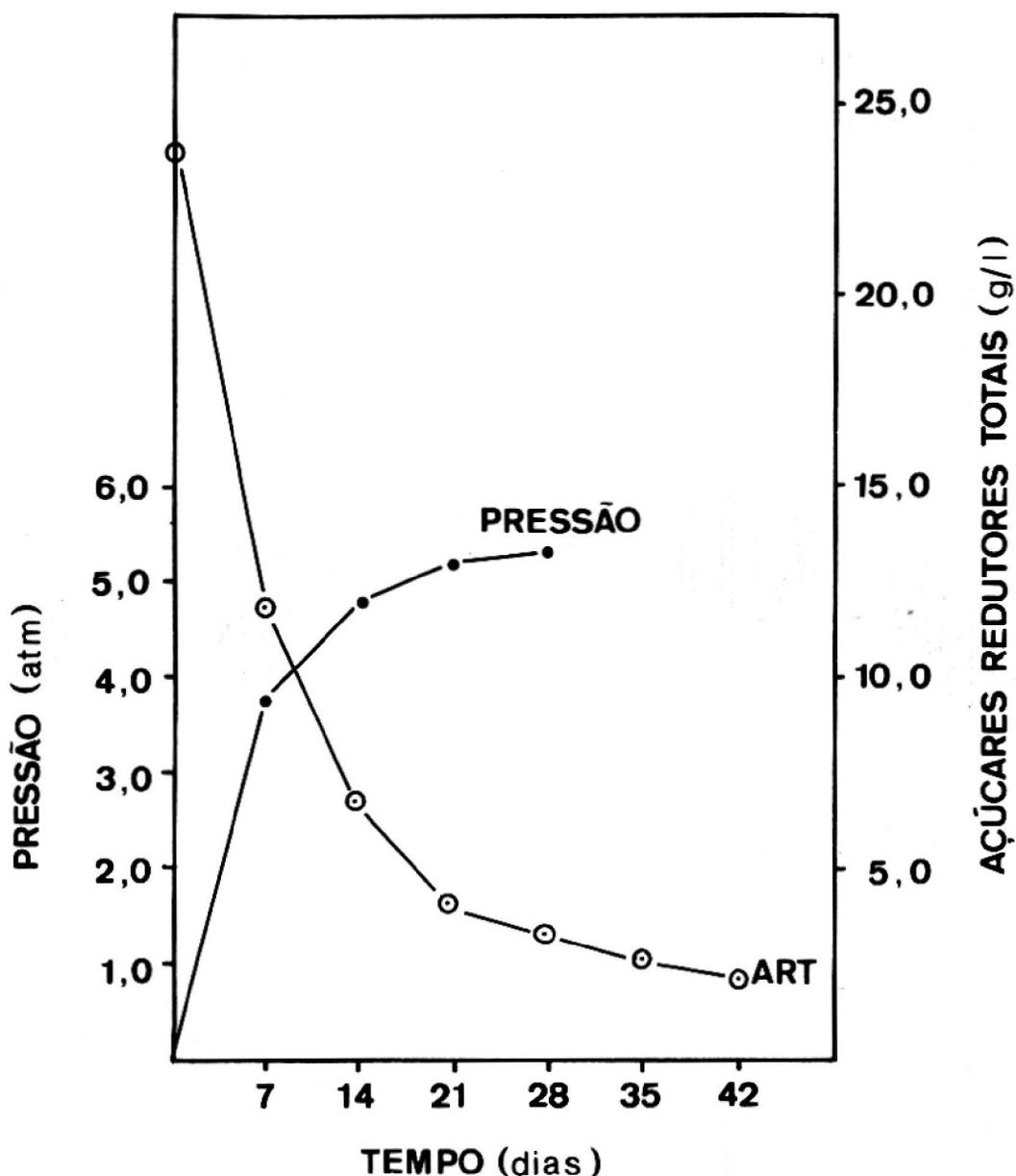


FIG. 4. Consumo de açúcar com conseqüente aumento de pressão durante o processo de elaboração de vinho espumante com a levedura *S. cerevisiae* Embrapa-20B em autoclave de 4.000 litros.

mostrando que a levedura, além de suportar elevados teores de álcool, é resistente a elevadas pressões atmosféricas, características fundamentais na elaboração de vinho espumante. A avaliação sensorial mostrou superioridade do champanha elaborado com a linhagem EMBRAPA-20B, em comparação com o obtido com uma linhagem importada de *Saccharomyces bayanus*, com aromas mais pronunciados e característicos de produtos espumantes de alta qualidade.

Em 1985, a linhagem EMBRAPA-20B substituiu totalmente a levedura importada na Cantina da EMBRAPA e foi testada por cinco cantinas particulares, com um total de 5,53 milhões de litros de vinho branco elaborado, sendo também a mesma utilizada para vinhos espumantes elaborados pelos processos Charmat e Asti. A levedura foi fornecida na forma líquida com uma concentração em torno de 2×10^8 células/ml. Na oportunidade, foram realizados testes com vistas à otimização do seu processo de multiplicação utilizando o próprio mosto de uva como meio de cultura.

Embora selecionada para vinho branco, a linhagem EMBRAPA-20B se mostrou perfeitamente útil, quando testada em microvinificação para a elaboração de vinho tinto, apresentando um alto poder fermentativo. Este fato é de fundamental importância, especialmente no caso do vinho tinto, onde a competição com as leveduras trazidas pela casca da uva é significativa, devendo a população da linhagem selecionada dominar rapidamente para assegurar a fermentação desejada. Em escala industrial, a levedura foi utilizada para vinificar 40 mil litros de mosto de uva Cabernet Franc pelo processo de maceração quente, tendo-se obtido resultados satisfatórios.

Ainda em 1985, as linhagens EMBRAPA-81B e EMBRAPA-82B foram testadas em tanques de aço inoxidável de 10 mil litros para a elaboração de vinho branco, da cultivar Malvasia de Lípari, tendo ambas as linhagens desenvolvido fermentações normais e produzido vinhos de qualidade similar ao elaborado com a levedura EMBRAPA-20B, podendo se constituírem linhagens alternativas.

3.4.2. Testes em cantinas particulares - safra 1985

Cinco cantinas particulares, compreendendo pequenos, médios e grandes produtores, testaram a levedura EMBRAPA-20B na safra vinícola de 1985 (tabela 2), cada uma das quais seguindo a sua própria metodologia de vinificação.

A Cantina A realizou um teste com a levedura, ao nível de microvinificação (2 litros), antes do início da safra, em competição com duas linhagens importadas, Zymasil e Montrachet, tendo constatado uma demora no início da fermentação pela primeira com necessidade de agitar o frasco. Pela análise sensorial dos vinhos obtidos, realizada por técnicos da própria cantina, foi escolhida a linhagem EMBRAPA-20B para ser utilizada na safra de 1985. Em escala industrial, a leve-

TABELA 2. Cantinas que testaram a levedura EMBRAPA-20B na safra de 1985 e respectivas quantidades vinificadas.

Cantina	Uva vinificada em relação ao total do RS em 1985 (%)	Vinho elaborado com a levedura EMBRAPA-20B (l)
A	12,47	5.000.000
B	2,51	50.000
C	2,05	60.000
D	0,74	50.000
E	0,05	20.000

dura comportou-se muito bem, com rápido início da fermentação; na avaliação sensorial, os vinhos apresentaram-se frescos, com delicado aroma frutado e, em alguns casos, floral. A cantina está também utilizando a levedura para elaboração de champanha.

A Cantina B relatou que o vinho da cultivar Riesling Itália obtido com a linhagem EMBRAPA-20B apresentou aroma frutado, intenso e limpo e sabor varietal, intenso, vínico, harmônico e limpo.

A Cantina C vinificou mosto de uva da cultivar Trebbiano, tendo considerado a capacidade da levedura de iniciar a fermentação e o seu poder fermentativo muito bons, com produção de vinhos excelentes apresentando uma boa intensidade de aromas.

A Cantina D relatou que, num tanque de 25 mil litros, a levedura desenvolveu uma fermentação normal e em outro de mesmo volume, ocorreu, acidentalmente, a fermentação malolática ao lado da fermentação alcoólica. Os vinhos foram comparados com um elaborado com a levedura Montrachet, tendo apresentado paladar normal e aroma satisfatório. Os testes foram realizados com uvas da cultivar Riesling Itália. A Cantina enviou amostras dos vinhos obtidos para o CNPUV as quais foram submetidas à avaliação sensorial pelo Grupo de Degustação do Centro, com os seguintes resultados: 1º lugar - vinho elaborado com a levedura EMBRAPA-20B, fermentação normal; 2º lugar - vinho elaborado com a levedura EMBRAPA-20B, fermentação malolática simultânea à fermentação alcoólica; e 3º lugar - vinho elaborado com a levedura Montrachet.

A Cantina E utilizou a levedura na fermentação de mosto das cultivares Trebbiano e Malvasia Bianca di Candia (conhecida regional-

mente como 'Malvasia Amarela'), tendo relatado uma fermentação mais rápida e uniforme e a obtenção de vinhos — 10 mil litros de cada cultivar — com aromas mais intensos e característicos. O depoimento desta Cantina é de grande importância, pois, tratando-se de um pequeno produtor que não tem acesso às modernas tecnologias de vinificação, como tanques de aço inoxidável e controle de temperatura, demonstra que a levedura EMBRAPA-20B desempenha seu papel, mesmo em condições adversas. A tecnologia, portanto, é perfeitamente passível de ser transferida também a estes produtores.

4. CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE PESQUISA

Os resultados obtidos confirmam a hipótese de que leveduras selecionadas a partir da microflora da região brasileira onde se concentra a maior produção de vinho são passíveis de produzir uma melhoria na qualidade do vinho nacional.

Entre as leveduras encontradas no mosto em fermentação espontânea, estão presentes linhagens produtoras de sulfeto de hidrogênio — com conseqüente formação de mercaptano — e de quantidades apreciáveis de acetaldeído, compostos estes que depreciam consideravelmente a qualidade do vinho.

Foi proposto um método para determinação qualitativa da produção de sulfeto de hidrogênio por leveduras vínicas de boa sensibilidade, fácil execução e baixo custo, sendo de uso vantajoso no controle da vinificação e em programas de seleção de leveduras para tal finalidade.

Embora a análise cromatográfica de álcoois superiores, esteres e polióis se constitua uma tentativa de avaliar a qualidade do vinho, a complexidade da composição do produto torna a análise sensorial imprescindível e determinante.

Para as condições da região onde o trabalho foi desenvolvido, a levedura selecionada *Saccharomyces cerevisiae* EMBRAPA-20B produz vinhos brancos de qualidade superior ao elaborado com a levedura importada "Zymasil", sendo também útil para vinhos tintos e espumantes. As linhagens da mesma espécie EMBRAPA-81B e EMBRAPA-82B igualmente produzem vinhos brancos de alta qualidade, podendo se constituírem linhagens alternativas.

A produção de leveduras nacionais possibilita aos pequenos e

médios produtores acesso à tecnologia com um significativo incremento na qualidade dos vinhos por eles elaborados e redução nos custos de produção decorrentes de problemas como parada de fermentação e produção de compostos indesejáveis. Igualmente os grandes produtores se beneficiam, pois podem obter uma melhoria na qualidade do vinho sem necessidade de importação de leveduras selecionadas.

Embora a tecnologia gerada esteja pronta para ser repassada à indústria vinícola nacional, o trabalho relatado é apenas a semente de uma longa caminhada. Para a sua continuidade, os seguintes estudos podem, de imediato, ser sugeridos:

- estudos de crescimento das linhagens selecionadas para a otimização do processo;
- testes de recuperação e secagem das leveduras ao nível piloto e industrial;
- avaliação enológica de linhagens para elaboração de vinho tinto; e
- avaliação enológica de outras linhagens para vinho branco.

5. RECOMENDAÇÕES

Recomenda-se a utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* EMBRAPA-20B na elaboração de vinhos brancos, tintos e espumantes pela indústria vitivinícola do Rio Grande do Sul.

A levedura pode ser multiplicada de acordo com o seguinte procedimento: utilizar como meio de cultura, preferencialmente, mosto de uva + 0,2 g/l de extrato de levedura ou 0,2 g/l de enovit (produto composto de : 99,1% de sulfato de amônio, 0,6% de bentonite, 0,2% de dicloridrato de tiamina e 0,1% de tartarato neutro de potássio). Para a multiplicação no período de entressafra, para elaboração de champanha, não se dispondo de mosto de uva, utilizar o seguinte meio artificial: sacarose - 24 g/l; extrato de levedura - 2 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,4 g/l e KH_2PO_4 - 5 g/l; pH 3,2. Multiplicar a levedura em escala progressiva, partindo de cultura em tubo de ensaio para frascos de Erlenmeyer de 4 litros, fermentador de 50 litros e fermentador de 3.000 litros. Para tal, repicar a levedura em meio ágar-mosto enriquecido com extrato de levedura (25% de mosto de uva + 2% de ágar-ágar + 1% de extrato de levedura). Após 24 horas, fazer suspensões da levedura com o próprio meio onde ela será multiplicada, transferindo-as para 5 frascos de Erlenmeyer de 4 litros contendo 800 ml do meio. Para cada frasco, utilizar a suspensão de células obtida com um tubo de ensaio. Colocar os frascos

numa incubadora com mecanismo de agitação e controle de temperatura, regulada para 150 rpm e 30°C, por cerca de 24 horas. Adicionar os 4 litros de cultura, assim obtidos, a 36 litros e meio, esterilizado por autoclavagem **in situ**, em fermentador de 50 litros, regulado para 300 rpm, 30°C e 60% de pressão parcial de oxigênio dissolvido, controlando a formação de espuma com 0,25 ml/l de uma solução de dimetilpolisiloxana a 7,5% (produto da Bristol, de nome comercial “luftal”). Acompanhar o crescimento da levedura em intervalos de 2 horas, através da contagem de células e consumo de açúcar. Após 8 horas, transferir a cultura para o fermentador de 3.000 litros, adicionando 360 litros de mosto e, assim, sucessivamente, sempre mantendo a proporção de 10% de inóculo (V/V).

Alternativamente, recomenda-se o emprego das linhagens EMBRAPA-81B e EMBRAPA-82B para vinhos brancos, podendo ser multiplicadas como descrito para a EMBRAPA-20B. Estas linhagens não foram testadas para vinhos tintos e espumantes, até o momento.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN. Compte rendu des travaux de la 11eme reunion du groupe de travail de microbiologie du vin. **Bull. OIV**, **48**(537):963-75, 1975.