

Influência da Linhagem de Levedura sobre a Cor de Vinhos Tintos Cabernet Sauvignon

Gildo Almeida da Silva¹, Liliane Muratore²

¹Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves - RS. E-mail: gildo@cnpuv.embrapa.br

² Estagiária da Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves - RS. Aluna do Curso de Engenharia de Alimentos – Unisinus - E-mail: lilitore@aol.com

RESUMO

A cor dos vinhos tintos se deve à extração de pigmentos antociânicos, presentes na casca das uvas tintas, durante a fermentação. Vinhos tintos jovens possuem teores mais elevados de antocianinas e os envelhecidos uma maior quantidade de pigmentos polimerizados por condensação. Pouco tem sido atribuído à Saccharomyces cerevisiae a participação na formação dos compostos relacionados com a cor e sua estabilidade. O trabalho verificou a influência da linhagem de levedura sobre a cor do vinho tinto. Foi efetuada microvinificação com uvas Cabernet Sauvignon, utilizando S. cerevisiae Embrapa 20B/84 e S. cerevisiae 1VVT/97. Os vinhos foram analisados, com relação aos atributos de cor, seguindo um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97 foram os que apresentaram os menores teores de pigmentos na forma incolor. Entre outras diferenças observadas, a concentração de pigmentos poliméricos (PPC) foi significativamente mais elevada nos vinhos elaborados com esta linhagem.

INTRODUÇÃO

As antocianinas estão entre os mais importantes constituintes secundários de plantas presentes em vinhos tintos uma vez que são responsáveis pela cor que lhes conferem. A cor é um dos atributos do vinho tinto que, segundo Jackson et al. (1978), além de fácil determinação, está associada com a qualidade do vinho. No pH do vinho, as antocianinas se encontram em equilíbrio entre a forma colorida e a pseudobase incolor (Niketic-Aliksic e Hrazdina, 1972). Das formas coloridas fazem parte o cátion flavílio, a base quinoidal e os pigmentos polimerizados por condensação. Estes últimos são muito menos afetados pela ação do SO₂ e pelo pH (Somers e Evans, 1978). As formas incolores são formadas pela base carbinol e por pigmentos polimerizados por condensação incolores. Diversos são os fatores que influenciam a cor dos vinhos. Entre os fatores estão a cultivar, o processo de vinificação, o pH, o potencial de redox, o SO₂, o O₂ e os aldeídos. O efeito do pH sobre a cor dos vinhos depende do valor pK do glicosídeo. O pK da antocianina 3,5–diglicosídeo, predominante na cultivar Noble, por exemplo, é menor (2,0) que o pK da antocianina–monoglicosídeo (2,8), predominante na cultivar Cabernet Sauvignon. Por esse motivo, a cultivar Noble sofre maior redução na coloração que a cultivar Cabernet quando o pH do meio se eleva (Sims e Morris, 1984).

As antocianinas são extraídas da casca da uva durante a maceração, passando diretamente para o mosto, conferindo-lhe a coloração vermelha. Vinhos jovens possuem quantidades mais

elevadas de antocianinas. Os vinhos envelhecidos apresentam concentrações mais altas de pigmentos polimerizados por condensação formados durante a fermentação e o envelhecimento. Fatores que estimulam esta reação, sem provocar precipitação, podem ser considerados agentes promotores da estabilização da cor. Os taninos formam complexos com as antocianinas, aumentando, dependendo do tanino envolvido, a estabilidade do vinho e reduzindo a formação de pigmentos marrons. Estes pigmentos marrons são formados por ação de polifenoloxidase sobre compostos fenólicos e podem se tornar marrons por polimerização não-enzimática (Sims et al., 1990)

As leveduras podem contribuir para a estabilidade da cor de vinhos tintos por produzir polissacarídeos que formam complexo com as antocianinas. No vinho, há polissacarídeos provenientes da própria uva e os do metabolismo da levedura. Cada tipo de polissacarídeo possui uma reatividade distinta com os taninos do vinho. Os de leveduras reagem particularmente com os polifenóis do vinho, reduzindo a adstringência, aumentando a concentração do denominado “bom tanino” e evitando a precipitação do complexo de tanino com proteínas. Os pigmentos formados devido ao envolvimento dos metabólitos de levedura com as antocianinas são estáveis e insensíveis às variações de pH e ao SO₂ (Ribéreau-Gayon et al., 2000a).

Sendo as leveduras a segunda maior fonte de polissacarídeos presentes no vinho e sabendo-se que a quantidade formada depende da linhagem de levedura empregada (Ribéreau-Gayon et al., 2000b), investigou-se, no presente trabalho, a influência de duas linhagens de levedura sobre a cor de vinhos tintos elaborados com a cultivar Cabernet Sauvignon.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinificação e Microrganismos- Foi utilizada a uva Cabernet Sauvignon da safra 2002. Após o esmagamento, adicionou-se ao mosto SO₂ de modo a fornecer uma concentração de 30 mg/L. Foram utilizadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* Embrapa 20B/84 e 1VVT/97. As duas linhagens de levedura foram produzidas em 35 L de meio G7 e em fermentador Biolafitte™ (França). O equipamento foi operado a 25 °C, com 2 vvm de ar e a 300 rpm. Depois de oito horas de crescimento em condições aeróbicas, as leveduras permaneceram no fermentador sem agitação e sem aeração por 16 horas. Foram centrifugadas em centrífuga contínua (CEPA-New Brunswick™ (USA) a 36.566 x g. Aproximadamente, 280g de células (peso úmido) foram obtidas e transferidas para mosto de uva Cabernet Sauvignon para adaptação durante 24 horas. Este foi o período de tempo suficiente para apresentar fermentação ativa. Alíquota de 1000 mL de leveduras em plena atividade fermentativa serviram para inocular os tanques de fermentação com 280 L de mosto. A vinificação em tinto seguiu os procedimentos tradicionais, ou seja, adição de SO₂, inoculação das linhagens de levedura, remontagens durante a fase tumultuosa de fermentação, maceração a 22-24 °C por 4 dias, descuba, trasfegas, estabilização e engarrafamento.

Processos analíticos - As análises referentes à cor dos vinhos foram efetuadas segundo Iland et al. (2000). A cor dos vinhos (WC), a densidade de cor (CD), a tonalidade (hue), os pigmentos na forma incolor (IP), os pigmentos poliméricos (PPC), a cor do vinho em ácido (WCA), as antocianinas (AC), as antocianinas em ácido (ACA), as antocianinas incolores (NA), o percentual de antocianinas coloridas (“a”), a idade química no pH do vinho (CAW) e a idade química em ácido (CAA) foram avaliadas segundo definições estabelecidas por Somers e Evans (1977), Jackson et al. (1978). Os vinhos foram analisados no momento do engarrafamento (t₀) e 6 meses

após o engarrafamento (t_1). O vinho foi analisado em espectrofotômetro Lambda Bio-Perkin Elmer™ (USA), utilizando cubetas com passo, dependendo do caso, de 1 cm ou de 0,1 cm. Em todos os casos, os dados de absorvância foram corrigidos para o passo de 1 cm.

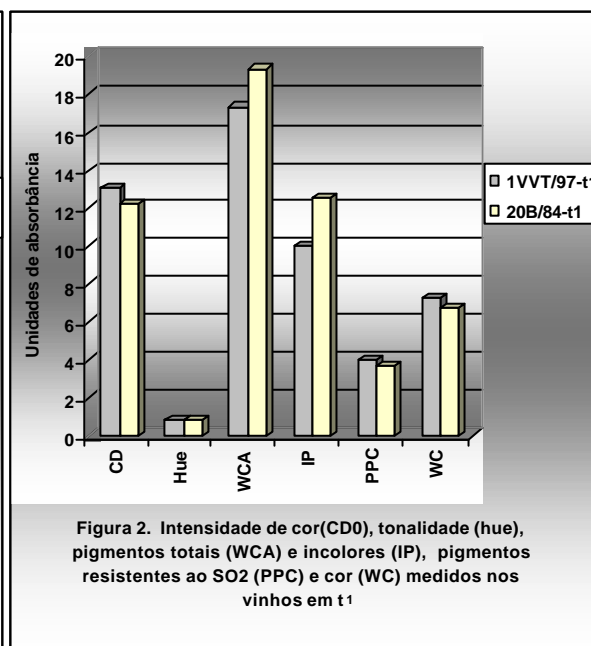
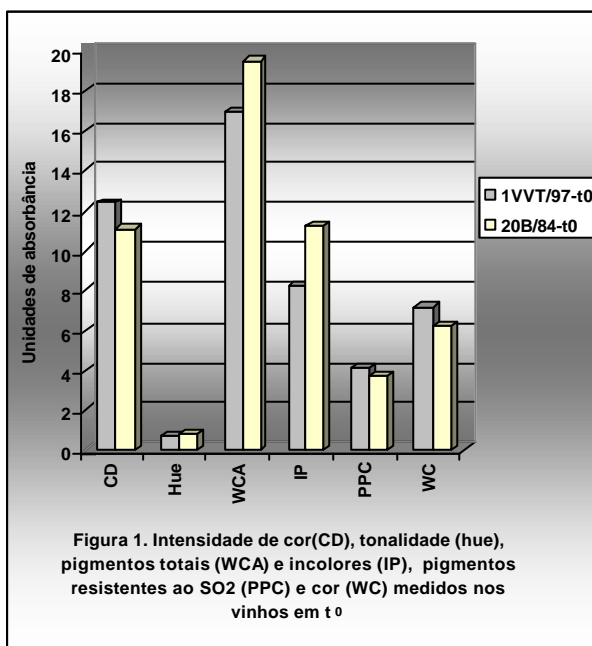
$WC=A_{520}$; $CD=A_{520}+A_{420}$; $Hue=A_{420}/A_{520}$; $PPC=A_{520}(SO_2)$; $WCA=A_{520}(HCl)$; $IP=WCA-WC$; $AC=WC-PPC$; $ACA=WCA-(5PPC/3)$; $NA=ACA-AC$; $“a”=(AC/ACA)*100$; $CAW=PPC/WC$; $CAA=5/3(PPC/WCA)$.

As análises de acetaldeído (etanal) e de metanol foram efetuadas por cromatografia gasosa segundo o procedimento descrito por Silva (2000). Os compostos fenólicos foram determinados pelo método descrito por Iland et al. (2000).

Análise estatística- Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P=0,05$ e $P=0,01$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises efetuadas em t_0 mostraram que os vinhos apresentaram diferenças altamente significativas ($P<0,01$) com relação à intensidade de cor, tonalidade de cor, pigmentos vermelhos totais e aos pigmentos incolores (Figura 1). A Figura 2 mostra as mesmas análises dos vinhos em t_1 .



Em t_0 , os vinhos com maior intensidade de cor (CD) foram os elaborados com a linhagem 1VVT/97. Uma vez que há uma nítida proporcionalidade entre a intensidade de cor e o teor de taninos, embora o mesmo não se possa dizer das antocianinas (Ribéreau-Gayon et al., 1982), os resultados sugerem uma maior presença de taninos nos vinhos elaborados com esta linhagem. A concentração de compostos fenólicos nos dois vinhos não foram significativamente diferentes

($P > 0,05$). A tonalidade da cor (420nm/520nm), significativamente mais baixa no vinho elaborado com a linhagem 1VVT/97 ($P < 0,01$), indica uma tendência de cor mais escura, puxando para a cor violeta. A absorvância a 620 nm foi significativamente mais alta ($P < 0,01$) nos vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97. O vinho com maior tonalidade, como o elaborado com a linhagem 20B/84, tende para o amarelo. Esta diferença na tonalidade da cor entre os dois vinhos pode significar alteração na molécula pigmentar. A mudança pode levar a cor para o tom violeta ou para o laranja-amarelado (Ribéreau-Gayon et al., 2000a). O fato de os pigmentos vermelhos totais (WCA) terem sido significativamente mais elevados nos vinhos elaborados com a linhagem 20B/84 indica ter havido maior extração destes pigmentos, embora os pigmentos incolores (IP) representem 57% do total. Nos vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97, apenas 48% destes pigmentos se encontravam na forma de pseudobase AOH (incolor).

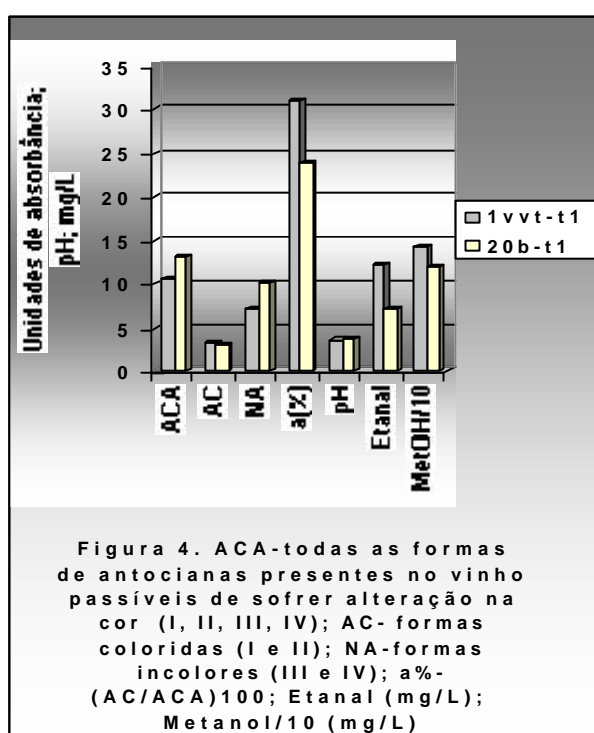
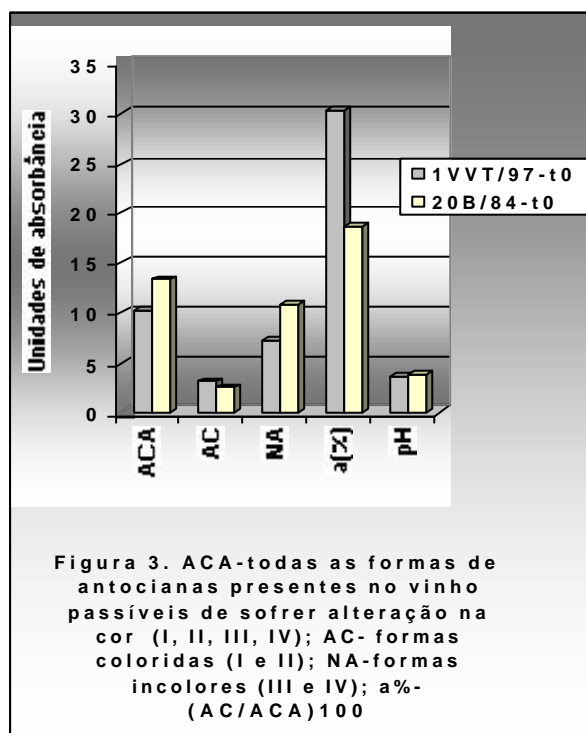
O mosto passou pelo mesmo tempo de maceração e foi fermentado na mesma temperatura. O pH dos vinhos elaborados com da linhagem 20B/84 foi mais elevado e os teores de acetaldeído destes vinhos foram significativamente muito mais baixos ($P < 0,01$) (Figura 4) do que os elaborados com a linhagem 1VVT/97. Convém salientar que a análise estatística não revelou correlação significativa ($P > 0,05$) entre os teores de etanal e WCA dos vinhos elaborados em t_1 . Em decorrência do exposto, o maior valor de WCA observado no vinho elaborado com a linhagem 20B/84 poderia estar relacionado com uma atividade pectinolítica mais efetiva desta linhagem. Uma vez que existe correlação positiva significativa entre a formação de metanol e a atividade de pectinolítica (Silva (2000), a presença de metanol significativamente mais elevada ($P < 0,01$) nos vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97 (Figura 4) não apoia a hipótese de maior atividade pectolítica da linhagem 20B/84. A concentração deste álcool em vinhos varia entre 0 e 635 mg/L (Amerine e Joslyn, 1970). Atividade pectolítica em levedura é bem documentada. Wimborne e Rickard (1978) mostraram que 33% das leveduras isoladas de uva apresentavam atividade pectinolítica. McKay (1990) detectou atividade da enzima poligalacturonase em 27% das linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* testadas e que as linhagens necessitavam de glicose para exercer esta função.

Em t_1 , a concentração de pigmentos resistentes ao SO_2 (PPC) foi significativamente mais elevada ($P < 0,05$) nos vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97 (Figura 1), sugerindo haver um teor mais alto das formas polimerizadas, uma vez que estas formas são menos afetadas pela acidificação e pela ação do SO_2 que as não polimerizadas. Ribéreau-Gayon et al. (2000) afirmam que os taninos são capazes de formar combinações estáveis com proteínas e polissacarídeos. É possível que a maior concentração de pigmentos resistentes ao SO_2 esteja relacionada com a capacidade, por parte da levedura, em sintetizar polissacarídeos e proteínas específicas, com uma relação entre a concentração de antocianinas e a de tanino ou pela maior formação de acetaldeído, promovendo a ligação entre o tanino e a antocianina. Como anteriormente mencionado, o vinho elaborado com a linhagem 1VVT/97 apresentou concentração de acetaldeído significativamente mais elevada. A inclusão de antocianina no polímero de tanino (Singleton e Trousdale, 1992) parece depender do acetaldeído (Thorngate e Singleton, 1994). Guerra (1997) verificou que a reação da malvidina-3-glicosídeo e a procianidina se dá de forma rápida na presença de acetaldeído. A relação entre as concentrações de taninos e as antocianinas é um importante fator de estabilidade da cor ao longo do tempo (Ribéreau-Gayon et al., 2000c; Cheynier, 2003).

Em t_1 (Figura 2), embora o comportamento gráfico seja semelhante ao t_0 (Figura 1), não houve diferença significativa entre os vinhos ($P > 0,05$), com relação aos atributos explicitados nas referidas figuras. A concentração dos pigmentos na forma incolor (IP) aumentou nos dois vinhos em t_1 , com aumento significativo apenas para o vinho elaborado com a linhagem 1VVT/97. Os

pigmentos polimerizados coloridos (V e VII), segundo Jackson et al. (1978), podem reversivelmente se alterar entre estas formas coloridas e a forma não colorida (VI).

Em t_0 , a concentração das formas livres coloridas (íon flavílio-I e base quinoidal-II), das frações incolores (base carbinol-III) e dos pigmentos poliméricos incolores (IV), estes dois últimos passíveis de se transformarem em formas coloridas, representada pela sigla ACA, foi significativamente mais elevada ($P<0,01$) nos vinhos elaborados com a linhagem 20B/84 (Figura 3). As formas coloridas presentes no vinho (íon flavílio (I) e base quinoidal (II)), representadas por AC, foram mais abundantes ($P<0,01$) no vinho elaborado com a linhagem 1VVT/97. Os vinhos elaborados com a linhagem 20B/84 apresentaram maiores concentrações ($P<0,01$) das formas não coloridas, representadas por NA (III e IV). O percentual de antocianas coloridas (“a”) em relação ao total de antocianas presentes no vinho, também conhecido como grau de ionização das antocianas, foi significativamente mais elevado nos vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97 ($P<0,01$). Portanto, no pH do vinho, houve maior participação relativa das formas coloridas nestes vinhos que naqueles elaborados com a linhagem 20B/84. Esta diferença, embora menor, foi também observada nos vinhos analisados em t_1 ($P<0,05$) (Figura 4). Os demais atributos avaliados não apresentaram diferenças significativas entre os vinhos em t_1 .

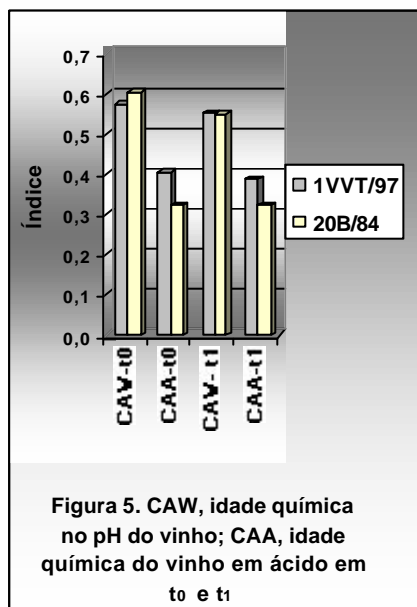


Como mencionado anteriormente, a cor dos pigmentos poliméricos do vinho (PPC) foi expressivamente mais elevada naqueles vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97. O mesmo aconteceu com a cor destes vinhos (WC). A relação entre estes dois valores de cor, denominada idade química no pH do vinho (Jackson, et al., 1978) ou índice I (Somers e Evans, 1977) e aqui representada por CAW (Figura 5), é mais elevada naqueles vinhos elaborados com a linhagem

20B/84 ($P < 0,01$), apenas em t_0 . Este comportamento pode ser explicado pelo pH do vinho que foi mais baixo naqueles vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97. Neste caso, uma parte mais significativa das formas incolores III e IV estariam na forma colorida, contribuindo para a elevação da cor do vinho. É interessante observar que a idade química dos vinhos elaborados com as diferentes linhagens, seis meses após o engarrafamento (t_1), não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) (Figura 5). Considerando-se as idades químicas dos mesmos vinhos em diferentes épocas, foram observadas diferenças altamente significativas entre t_0 e t_1 apenas para aqueles elaborados com a linhagem 20B/84 ($P < 0,01$) (Figura 5).

A idade química do vinho em ácido, definida como a proporção do total de cor dos pigmentos devido aos pigmentos poliméricos (Jackson, et al., 1978) ou índice II (Somers e Evans, 1977) e representada por CAA (Figura 5), foi significativamente ($P < 0,01$) mais elevada nos vinhos elaborados com a linhagem 1VVT/97 em t_0 . Após seis meses de engarrafamento, a diferença diminuiu, mas continuou significativa ($P < 0,05$) entre os dois vinhos. Este resultado indica haver maior participação de pigmentos na forma incolor na cor do vinho elaborado com a linhagem 20B/84 quando este é acidificado. As idades químicas dos mesmos vinhos em diferentes épocas não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) (Figura 5).

De todos os itens relacionados com a cor dos vinhos abordados, apenas “a” e CAA mostraram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os vinhos elaborados com a duas linhagens, em t_1 . Estes



resultados sugerem ser de extrema importância as técnicas enológicas relacionadas ao processo de envelhecimento do vinho como o uso de barricas, teor de SO_2 e aeração. Dependendo das condições nas quais o vinho tinto é envelhecido, o potencial da linhagem de levedura no que se refere ao atributo cor pode ser anulado.

CONCLUSÕES

As leveduras influenciam a cor dos vinhos tintos. A estabilidade destes efeitos depende, no entanto, de boas práticas enológicas subsequentes à fermentação. No processo de seleção de leveduras para a elaboração de vinhos tintos, a influência da linhagem sobre a cor dos vinhos tintos, entre outros atributos, deve ser avaliada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amerine, M.A. e Joslyn, M.A. (1970), Fermentation, composition, and finishing.: Composition of table wines. In: Amerine, M.A. e Joslyn, M.A. (Eds.) *Table Wines. The Technology of Their Production*. University of California Press, Berkeley.
- Cheynier, V. (2003), Tannins in Grape and Grape Products Disponível em <<http://www.aciar.gov.au/publications/proceedings/92/TAN18ACH.PDF>>. Acesso em: 03 abril 2003.
- Guerra, C. C.(1997), Recherches sur les interactions anthocyanes -flavanols: Application a l'interpretation chimique de la couleur des vins rouges. *These pour le Doctorat de L'Université de Bordeaux 2*, France.
- Iland, P.; Ewart, A.; Sitters, J.; Markides, A. e Bruer, N. (2002), Chemical analysis: Red wine colour and phenolic measures. In: Iland, P.; Ewart, A.; Sitters, J.; Markides, A. e Bruer, N. *Techniques for chemical analysis and quality monitoring during winemaking*. Patrick Iland Wine Promotions. Adelaide
- Jackson, M. G.; Timberlake, C. F.; Bridle, P. e Vallis, L. (1978), Red wine quality: Correlations between colour, aroma and flavour and pigment and other parameters of young beaujolais. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 29, p. 715-727.
- Mckay, A.M. (1990), Degradation of polygalaturonic acid by *Saccharomyces cerevisiae*. *Letters in Applied Microbiology*, v.11, p.41-44, 1990.
- Niketic-Aleksic, G. K. e Hrazdina, G. (1972), Quantitative analysis of the anthocyanin content in grape juice and wines. *Lebensmittel-wissenschaft und Technologie*, v. 5, n.5, p. 163-165.
- Ribereau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Sudraud, P. e Ribereau-Gayon, P. (1982), Introduction. In: Ribereau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Sudraud, P. e Ribereau-Gayon, P. (Eds.), Tome 1 - *Trait d'oenologie. Sciences et Techniques du Vin. Analyse et controle des vins*. v.1, Editora Dunod. Paris.
- Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. e Dubordier, D. (2002a), Phenolic compound. In: Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. e Dubordier, D. *Handbook of Enology*, v. 2. *The chemistry of the wine stabilization and treatments*. John Wiley & Sons, Ltd. New York.
- Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. e Dubordier, D. (2002b), Carbohydrates. In: Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. e Dubordier, D. *Handbook of Enology. The chemistry of the wine stabilization and treatments*. John Wiley & Sons, Ltd. New York.
- Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. e Dubordier, D. (2002c), Aging: Red wine in vat and barrel: Phenomena occurring during aging. In: Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. e Dubordier, D. *Handbook of Enology. The chemistry of the wine stabilization and treatments*. John Wiley & Sons, Ltd. New York.
- Silva, G.A. da (2000), Produção de metabólitos no armazenamento de uvas Isabel (*Vitis labrusca* L.) e sua relação com temperatura e vácuo. *Ciência Rural*, v.30, n.4, p.705 –711.
- Sims, C. A. e Morris, J. R. (1984), Color and color stability of red wine from Noble (*Vitis rotundifolia* Michx.) and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) at various pH. *ARstHortSoc*, v. 105, p. 90 –96.
- Sims, C.A.; Bates, R. P. e Johnson, R. P. (1990), Comparison of pre- and post-fermentation ultrafiltration on the characteristics of sulfited and non-sulfited white wines. *American Journal of Enology and Viti culture*, v.41, n.2, p.182-185.
- Singleton, V. L. e Trousdale, E. K. (1992), Anthocyanin-tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.43, p. 63-70.
- Somers, T. C. e Evans, M. E. (1977), Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, "chemical age". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 28, p. 279-287.
- Thorngate, J. H. III e Singleton, V. L. (1994), Reactions of monomeric and polymeric flavan-3-ols with monomeric pigment in model wine solutions. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 45, p. 349-352.
- Wimborne, M. P. e Rickard, P. A. D. (1978), Pectinolytic activity of *Saccharomyces fragilis* cultured in controlled environments. *Biotechnology and Bioengineering*, v.20, p.231-242.