

Acompanhamento da população leveduriana em vinhos tropicais utilizando microscópio automático fluorescente

Willian dos Santos Triches¹, Bruna Carla Reis Diniz¹; Vanessa de Souza Oliveira¹; Adonilde Marta Martins²; Ana Julia de Brito Araújo²; Luiz Antônio Alves³; Giuliano Elias Pereira⁴

¹Bolsista CNPq, Embrapa Semi-Árido; ²Bolsista Embrapa Semi-Árido; ³Analista Embrapa Semi-Árido; ⁴Pesquisador Embrapa Uva e Vinho/Semi-Árido, BR 428, km 152, CP 23, CEP 56.300-000, Petrolina-PE. E-mail gpereira@cpatsa.embrapa.br.

Resumo

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são responsáveis pela transformação dos açúcares em álcool durante a fermentação de vinhos. A população de leveduras é importante para garantir uma fermentação rápida e completa. Por isso, este trabalho teve como objetivo acompanhar o crescimento da população leveduriana durante a fermentação alcoólica de vinhos Tempranillo e Syrah (*Vitis vinifera* L.), em região de clima semiárido tropical, no Nordeste do Brasil. Foi realizada uma verificação do procedimento de contagem leveduriana utilizando um microscópio automático fluorescente. O experimento foi realizado em condições de laboratório ($23\pm 2^\circ\text{C}$) entre 23 de junho e 3 de julho de 2009, nas instalações da Embrapa Semi-Árido, em Petrolina-PE, Brasil. O princípio do equipamento analítico utilizado (Nucleo Counter) resume-se da seguinte forma: dentro do instrumento uma fonte de luz atravessa a amostra excitando o corante, que tingem o DNA da população das células levedurianas não viáveis. Um sensor registra a imagem, que é posteriormente analisado por um software para a contagem das células. O corante utilizado é o Iodeto de Propídio (PI), geralmente empregado nas tradicionais técnicas de microscopia fluorescente. O PI tem a capacidade de vincular seletivamente o DNA das células não viáveis na amostra a ser analisada. Já as membranas ativas e viáveis são capazes de expulsar o PI de dentro da célula, assim não sendo contadas durante a análise. Por isso, para obter o contagem total de células é necessário adicionar o reagent Lysis buffer (distribuído pelo fornecedor), que quebra a membrana das células viáveis permitindo a pigmentação dos núcleos pelo PI.

O procedimento operacional segue três protocolos, o primeiro é destinado a quantificação das células indígenas totais (protocolo realizado no início do processamento); o segundo para determinação da células totais (utilizando Lysis buffer) e o terceiro para determinação das células mortas (sem a utilização do Lysis buffer). A subtração entre o protocolo dois e três resulta na população leveduriana viável. Foi verificada uma grande população nativa antes da adição de metabisulfito. Após a adição esta diminuiu drasticamente, confirmando a eficácia do SO_2 . As análises foram realizadas diariamente, duas ao dia, para acompanhamento da evolução da população. Foi constatado um alto crescimento do levedo selecionado durante os primeiros dias de fermentação, coincidindo com as aerações e remontagens, para garantir uma população eficiente até o final da fermentação. A população cai no final, o que naturalmente é observado, com a mortalidade das leveduras devido ao teor de álcool dos vinhos. O experimento demonstrou uma boa eficiência da metodologia não oficial, que deverá ser avaliada e futuramente comparada com métodos tradicionais, e que poderá ser uma alternativa mais prática e rápida que os métodos manuais.