

## EFEITO DA FERMENTAÇÃO MALOLÁCTICA NA COMPOSIÇÃO DO VINHO TINTO

### EFFECT OF MALOLACTIC FERMENTATION ON THE COMPOSITION OF RED WINE

Luiz Antenor Rizzon<sup>1</sup> Mauro Celso Zanuz<sup>2</sup> Alberto Miele<sup>3</sup>

#### RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da fermentação maloláctica (FML) na composição dos vinhos Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon e Isabel, elaborados em pequena escala na safra de 1995. Dezoito variáveis foram avaliadas antes e após a FML. Os resultados mostraram que houve degradação do ácido málico; diminuição da acidez total, do extrato seco, do extrato seco reduzido e da intensidade de cor; e aumento do pH, da acidez volátil, da relação álcool em peso/extrato seco reduzido e da relação I420/I520. Entre os compostos voláteis, verificou-se a formação de lactato de etila e da acetoina.

**Palavras-chave:** ácido láctico, ácido málico, lactato de etila, acetoina.

#### SUMMARY

The objective of the work was to evaluate the effect of malolactic fermentation (MLF) on the composition of Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon and Isabella wines, elaborated on a small scale during the 1995 vintage. Eighteen variables were evaluated before and after MLF. The results showed that MLF degraded the malic acid, decreased the total acidity, the dry extract, the reduced dry extract and color intensity and increased the pH, the volatile acidity, the alcohol in weight/reduced dry extract ratio and the A420/A520 ratio. Among the volatile compounds it was observed the formation of ethyl lactate and acetoin.

**Key words:** malic acid, lactic acid, ethyl lactate, acetoin.

#### INTRODUÇÃO

A fermentação maloláctica (FML) é responsável pela transformação do ácido málico em ácido láctico e dióxido de carbono, através da ação das bactérias lácticas. Conforme as condições do meio e da linhagem de bactéria láctica presente - homoláctica ou heteroláctica -, outros substratos, como os açúcares residuais, o glicerol e os ácidos tartárico e cítrico, podem ser transformados, liberando compostos secundários (KUNKEE, 1974; ZMIROU-BONNAMOURE, 1984; BARRE, 1988; RADLER, 1988; AVILA, 1995).

A FML é sempre necessária nos vinhos tintos, pois proporciona estabilidade biológica, diminui a acidez e confere maciez e equilíbrio, além de contribuir para a complexidade aromática dos mesmos (RANKINE, 1972; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976). A FML serve, também, para regular a qualidade das safras vitícolas, uma vez que diminui o excesso de acidez presente nos vinhos de safras de má qualidade.

Do volume total de vinho produzido no Brasil, o tinto representa aproximadamente 60%. Entre esses vinhos, se destacam os comuns, elaborados com uvas do grupo das americanas, especialmente a Isabel.

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Dr., EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho (CNPUV), Caixa Postal 130, 95700-000 Bento Gonçalves, RS. Autor para correspondência. E-mail: rizzon@cnpuv.embrapa.br.

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, MSc., EMBRAPA-CNPUV.

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Dr., EMBRAPA-CNPUV.

Esses vinhos apresentam, geralmente, baixos teores de ácido málico e dióxido de enxofre, e a FML ocorre espontaneamente logo após a fermentação alcoólica. Já nos vinhos tintos finos, elaborados com as cvs. Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon, por possuírem concentração mais elevada de ácido málico, a FML é uma etapa determinante da qualidade, requerendo, por isso, intervenção do enólogo para que seja realizada logo após a fermentação alcoólica. Nos vinhos brancos finos, por outro lado, a FML geralmente não é desejada, pois diminui seu caráter varietal e sua acidez, que é muito importante para este tipo de vinho. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da FML na composição dos vinhos Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon e Isabel.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido na safra de 1995 na EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho, localizado em Bento Gonçalves, RS. Na elaboração dos vinhos foram empregadas as cvs. Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon e Isabel. As uvas foram colhidas no ponto de maturação comercial para aquele ano, com 17,2°Brix, 20,0°Brix e 16,6°Brix, respectivamente.

Os vinhos foram elaborados em pequena escala, sendo realizadas duas microvinificações de 18kg (unidade experimental) para cada variedade. Inicialmente, a uva foi separada da ráquis e esmagada. A seguir, o mosto foi colocado em recipiente de 20l, adaptado com válvula de Müller, ao qual foi adicionado dióxido de enxofre, na quantidade de 40mg/l, e leveduras secas ativas (*Saccharomyces cerevisiae*) na proporção de 0,15g/l de mosto. O tempo de maceração foi de quatro dias, com uma remontagem diária. A fermentação alcoólica ocorreu em uma sala com temperatura entre 23°C a 25°C. Concluída a fermentação alcoólica, foi feita a separação das borras e retirada uma amostra do vinho antes da FML. O restante do vinho, relativo ao tratamento após a FML, a qual ocorreu espontaneamente e foi acompanhada através da evolução do ácido málico pela cromatografia de papel (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976).

Concluída a FML, os vinhos foram engarrafados e colocados nas mesmas condições daqueles que não sofreram a FML, até o momento da análise, que ocorreu em junho de 1995.

As determinações analíticas do álcool, acidez total, acidez volátil, pH, açúcares redutores e extratos secos foram efetuadas conforme metodologia descrita por AMERINE & OUGH (1976). O ácido tartárico e o ácido málico foram determinados por

cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), utilizando detector colorimétrico (AUGUSTE, 1979). Os índices de cor I420 e I520 foram feitos através de um espectrofotômetro UV/VIS, com cubetas de 1mm de percurso óptico (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976).

O lactato de etila, a acetoina (acetil metil carbinol) e o butanodiol-2,3 (2,3-butileno glicol) foram determinados por cromatografia gasosa. Utilizou-se um aparelho equipado com detector de ionização de chama e coluna de aço inoxidável de 6m de comprimento e 1/8" de diâmetro interno, com 10% de Carbowax 1540 como fase estacionária (SUZUTA, 1976). A amostra de vinho (3µl) foi injetada diretamente no aparelho, após ter recebido 10% do volume de uma solução de octanol-2 (400mg/l) como padrão interno. As temperaturas do vaporizador, do forno e do detector foram de 195°C, 102°C e 204°C, respectivamente (BERTRAND, 1975). Foi utilizado o nitrogênio como gás de arraste, na vazão de 30ml/min. A prolina foi determinada através de método colorimétrico com a ninidrina (AMERINE & OUGH, 1976). Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey para comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química do vinho tinto elaborado com uvas Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon e Isabel antes e após a FML são apresentados na Tabela 1. Os resultados mostram que a FML causou uma diminuição significativa da acidez total nos vinhos das três cultivares e um aumento do valor do pH nos vinhos Cabernet Sauvignon. Os vinhos Isabel apresentaram a menor variação da acidez total e do pH, enquanto que os vinhos Cabernet Sauvignon, em função principalmente do maior teor inicial de ácido málico, sofreram as maiores variações. Constatou-se, em todos os vinhos, degradação completa do ácido málico; os vinhos Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon apresentaram uma precipitação parcial do ácido tartárico, em decorrência da variação do pH.

A FML provocou um aumento significativo da acidez volátil nos vinhos Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon. Estas diferenças podem estar associadas às concentrações de ácido cítrico, que pode ser degradado pelas bactérias lácticas no decorrer da FML (RANKINE *et al.*, 1970; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976; ZMIROU-BONNAMOUR, 1984).

Com relação às substâncias associadas às características de estrutura dos vinhos, observa-se que a FML reduziu os teores de extrato seco reduzido e aumentou o valor da relação álcool em peso/extrato

Tabela 1. Quantidades (média de duas repetições) de diferentes substâncias encontradas na composição química de vinhos tintos de três cultivares, antes e após a fermentação maloláctica. Safra 1995.

SUBSTÂNCIAS	Cabernet Franc		Cabernet Sauvignon		Isabel	
	Antes da FML	Após a FML	Antes da FML	Após a FML	Antes da FML	Após a FML
Álcool (%v/v)	9,81a	9,87a	11,18a	11,30a	9,58a	9,51a
Acidez total (meq/l)	88,00a	67,00 b	105,00a	76,00 b	103,00a	91,00 b
Acidez volátil (meq/l)	2,30 b	6,30a	3,50 b	7,50a	4,50a	6,50a
pH	3,37a	3,48a	3,28 b	3,46a	2,98a	3,01a
Ácido tartárico(g/l)	3,10a	2,50 b	3,60a	2,70 b	5,60a	5,50a
Ácido málico(g/l)	3,70a	0,10 b	4,60a	0,10 b	2,00a	0,10 b
Açúcares redutores(g/l)	2,43a	2,41a	1,97a	1,83a	2,16a	2,36a
Extrato seco (g/l)	23,20a	20,60a	26,00a	23,60a	22,40a	21,40a
Extrato seco reduzido(g/l)	21,80a	19,20 b	25,00a	22,80 b	21,30a	20,10a
Relação álcool em peso/ extrato seco reduzido	3,61 b	4,12a	3,58 b	3,97a	3,61a	3,80a
1420(nm)	0,169a	0,114 b	0,386a	0,269 b	0,150a	0,128a
1520(nm)	0,386a	0,165 b	0,995a	0,544 b	0,348a	0,282a
Intensidade de cor (1420nm+1520nm)	0,560a	0,279 b	1,381a	0,813 b	0,498a	0,410a
Relação 1420nm/1520nm	0,437 b	0,710a	0,388a	0,495a	0,432a	0,453a
Lactato de etila (mg/l)	6,30 b	67,30a	8,00 b	69,40a	4,90 b	27,80a
Acetoína (mg/l)	6,80a	8,70a	7,10a	16,80a	6,50 b	35,00a
Butanodiol-2,3 (mg/l)	286,00a	277,00a	407,00a	396,00a	388,00a	265,00b
Prolina (mg/l)	1059,00a	1045,00a	1482,00a	1516,00a	28,00a	31,00a

<sup>1</sup> Médias seguidas por letra distinta na linha, para cada cultivar, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

seco reduzido nos vinhos das cvs. Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon. Nesses mesmos vinhos a FML causou uma diminuição acentuada nas cores amarela e vermelha, avaliadas a 420nm e 520nm, respectivamente. No entanto, como proporcionalmente houve maior decréscimo da cor vermelha em relação à amarela, observou-se um aumento da relação I420nm/I520nm somente no vinho da cv. Cabernet Franc. Verificou-se, também, uma diminuição na intensidade de cor, associada ao arraste de pigmentos realizado pelas bactérias e ao aumento ocorrido no pH dos vinhos das cvs. Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon, após a FML. Não foram observadas variações significativas quanto ao teor alcoólico e de açúcares redutores dos vinhos.

Entre os compostos voláteis, verifica-se que o lactato de etila aumentou significativamente após a FML. Este fato já era esperado, uma vez que a presença desse éster é uma característica de vinhos nos quais a FML se processou. Foram encontrados teores mais elevados de lactato de etila nos vinhos de viníferas — Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon — em comparação ao vinho de Isabel. Isso pode ser explicado pelo

teor mais elevado de ácido málico presente nas uvas viníferas em relação ao encontrado na cv. Isabel.

A acetoína e o butanodiol-2,3 são dois componentes secundários da fermentação alcoólica, mas que são formados também no decorrer da fermentação maloláctica, a partir do ácido cítrico. Segundo SHINOHARA *et al.* (1979), teores de acetoína acima de 150mg/l depreciam a qualidade aromática do vinho. No caso dos vinhos avaliados, o teor de acetoína foi inferior a 40mg/l, bem abaixo do nível de percepção sensorial. A síntese desta substância durante a fermentação maloláctica está relacionada à espécie de bactéria, à concentração de ácido cítrico e ao pH do vinho. O teor mais elevado de acetoína do vinho Isabel possivelmente tenha sido decorrente do pH mais baixo desse vinho.

O butanodiol-2,3 é encontrado no vinho em teores variando de traços a 700mg/l (SUZUTA, 1976; HEROLD *et al.*, 1995). Segundo RIBÉREAU-GAYON *et al.* (1976), esta substância participa do gosto agridoce, é estável e não é degradada pelas bactérias presentes no vinho. No entanto, SUZUTA (1976) mostrou que certas bactérias podem degradar o

butanodiol-2,3. Nos vinhos tintos estudados, a FML provocou uma diminuição significativa no conteúdo desta substância apenas nos vinhos de Isabel.

A prolina é um aminoácido encontrado normalmente nos vinhos. Sua concentração é maior nos vinhos elaborados com uvas viníferas, principalmente nas cvs. Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc (OUGH, 1968; BOEIRA *et al.*, 1995). Neste trabalho, não foram detectados níveis significativos de degradação e ou síntese desta substância em função da fermentação maloláctica.

## CONCLUSÃO

A fermentação maloláctica interfere na composição química dos vinhos tintos Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon e Isabel. Nas variáveis relacionadas à acidez, observa-se degradação do ácido málico e diminuição da acidez total, nos vinhos que realizaram a fermentação maloláctica. Entre os compostos voláteis, a fermentação maloláctica aumenta o teor de lactato de etila e da acetoína em todos os vinhos; e reduz o butanodiol-2,3 nos de Isabel. Em relação à estrutura do vinho, a fermentação maloláctica reduz o teor de extrato seco reduzido e, conseqüentemente, aumenta o valor da relação álcool em peso/extrato seco reduzido nos vinhos Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon. Quanto ao aspecto visual, do vinho tinto, a fermentação maloláctica reduz as cores amarela e vermelha e a intensidade de cor dos vinhos Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon e aumenta a relação I420nm/I520nm somente nos vinhos Cabernet Sauvignon.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERINE, M.A., OUGH, C.S. *Análisis de vinos y mostos*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1976. 158 p.
- AUGUSTE, M.H. *Application de la chromatographie en phase liquide à haute pression à l'analyse des moûts et des vins*. Talence. 135 p. Tese (Doutorado em Enologia - Ampelologia) - Université de Bordeaux II, 1979.
- AVILA, L.D. de. *Indução da fermentação maloláctica em vinhos Gewürztraminer e Cabernet Sauvignon*. Santa Maria-RS. 123 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, 1995.
- BARRE, P. *Métabolisme, physiologie et classification des bactéries lactiques en oenologie*. In: Commission des Communautés Européennes. *Application à l'oenologie des progrès récents en microbiologie et en fermentation*. Paris: O.I.V., 1988. p. 15-26.
- BERTRAND, A. *Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse*. Talence. 291 p. Tese (Doutorado em Enologia) - Université de Bordeaux II, 1975.
- BOEIRA, L.S., PEREIRA, C.M., DAUDT, C.E. *Evolução do teor de arginina e de uréia na fermentação alcoólica do mosto da cv. Gewürztraminer com diferentes níveis de adubação nitrogenada*. Ciência Rural, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 295-298, 1995.
- HEROLD, B., PFEIFFER, P., RADLER, F. *Determination of the three isomers of 2,3-butanediol formed by yeasts or lactic acid bacteria during fermentation*. *American Journal of Enology and Viticulture*, Lockeford, v. 46, n. 1, p. 134-137, 1995.
- KUNKEE, R.E. *Malo-lactic fermentation and winemaking*. In: WEBB, A.D. *Chemistry of Winemaking; Advances in chemistry series*. Washington: American Chemical Society, 1974. p. 151-170.
- OUGH, C.S. *Proline content of grapes and wines*. *Vitis*, Frankfurt, v. 7, n. 3, p. 321-331, 1968.
- RADLER, F. *Aspects of the metabolism of lactic acid bacteria*. In: Commission des Communautés européennes. *Application à l'oenologie des progrès récents en microbiologie et en fermentation*. Paris: O.I.V., 1988. p. 49-57.
- RANKINE, B.C. *Influence of yeast strain and malo-lactic fermentation on composition and quality of table wines*. *American Journal of Enology and Viticulture*, Lockeford, v. 23, n. 4, p. 152-158, 1972.
- RANKINE, B.C., FORNACHON, J.C.M., BRIDSON, D.A., *et al.* *Malo-lactic fermentation in Australian dry red wines*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Essex, v. 21, p. 471-476, 1970.
- RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., RIBÉREAU-GAYON, P., *et al.* *Sciences et techniques du vin*. Paris: Dunod, 1976. v. 3, 719 p.
- SHINOHARA, T., SHIMAZU, Y., WATANABE, M. *Dosage de l'acétoïne et du lactate d'éthyle dans les vins par chromatographie en phase gazeuse, et étude de leur formation dans les vins*. *Agricultural and Biological Chemistry*, Tokyo, v. 43, n. 12, p. 2569-2577, 1979.
- SUZUTA, K. *Contribution à l'étude des produits volatils formés par les bactéries lactiques dans les moûts et les vins*. Talence. 90 p. Tese (Doutorado em Enologia) - Université de Bordeaux II, 1976.
- ZMIROU-BONNAMOUR, C. *Contribution à l'étude des produits secondaires de la fermentation malolactique des vins*. Talence. 145 p. Tese (Doutorado em Enologia - Ampelologia) - Université de Bordeaux II, 1984.