

Produtos derivados de Leveduras Convencionais VS. X-PRO®

A opção natural para melhorar e proteger a identidade do Vinho

Autores:

Gianmaria Zanella - Director do Departamento de Investigação e Desenvolvimento do

VASONGROUP

Fabrizio Minute - Chefe de Investigação e Desenvolvimento da GiottoConsulting

Enrico D'Andrea - Gestor de Comunicação Técnica do **VASONGROUP**

Artigo original traduzido de "L'Enologo 1/2 Fev. 2020, pág. 91,96"

Novos produtos derivados de levedura: capacidades de estabilização e preocupações

A capacidade antioxidante das leveduras inativadas e derivados da levedura (DL) é a última entre as muitas propriedades que foram atribuídas a este tipo de produtos.

No início dos anos 2000, foi constatado que alguns destes produtos, naturalmente ricos em glutatião (GSH), tinham a capacidade de reduzir a perda de compostos aromáticos do vinho durante o tempo de armazenamento e estagio (*Andújar-Ortiz et al., 2010*). Na sequência destes resultados, o GSH foi inicialmente assumido como o principal responsável pelas propriedades antioxidantes dos DL.

Outros estudos provaram que, juntamente com o glutatião tripeptídeo, algumas outras moléculas podem contribuir para tal resultado, e em particular aquelas que contêm metionina, triptofano e tirosina (*Rodríguez-Bencomo et al., 2014*).

Tal como no caso das borras, os componentes tiólicos desempenham um papel fundamental quando se trata das propriedades antioxidantes da levedura inativa.

Segundo *Gallardo-Chacón et al. (2010)*, os grupos tiólicos encontrados na parede celular da levedura representam um dos constituintes antioxidantes mais ativos das borras frescas; e os mesmos componentes fazem parte dos DL.

Entre os produtos disponíveis no mercado, o conteúdo desses compostos tiólicos pode variar consistentemente: a fração solúvel (como o GSH) vai de 0 a 15 mg/g, enquanto que a fração ligada às paredes celulares vai de 0 a 3 mg/g (*Molteni, 2018*).

Apesar da concentração aparentemente baixa destes compostos, a presença destas moléculas torna os DL eficazes para a proteção contra a oxidação dos fenóis. Os produtos que contêm uma notável porção tiólica funcionam um pouco como sulfitos, atuando como necrófagos de quinona (*Molaro, 2017; Comuzzo e Toniolo, 2018*), protegendo assim o vinho do "escurecimento" durante o armazenamento ou estagio (*Comuzzo et al., 2015a; Rosso, 2017*).

A tecnologia de produção tem uma grande influência sobre a concentração de moléculas tiólicas em DL.

As técnicas tradicionais para obter a lise da célula que se baseiam-se na utilização do calor (ou seja, termólise) reduzem drasticamente o conteúdo em GSH e outras moléculas tiólicas nos DL (*Ferretti, 2014*), diminuindo assim a capacidade do produto de reduzir as quinonas e a capacidade de combater a oxidação.

Recentemente, as novas tecnologias baseadas não no calor, mas em ecografias (ECO), campos elétricos pulsados (CEP) e pressões elevadas (PE) estão a tornar-se interessantes para o sector vinícola e, apesar de não serem permitidas nas adegas devido a alguma restrição legislativa, têm sido sujeitas a muitos ensaios em laboratório ou à escala piloto para demonstrar a sua eficácia como uma alternativa aos tratamentos térmicos tradicionais.

Algumas destas tecnologias provaram ser responsáveis pela indução da lise da levedura (*Cacciola et al, 2013; Comuzzo et al., 2015, 2017*); por conseguinte, podem ser muito interessantes para a produção de produtos derivados da levedura não induzidos pelo calor para uso enológico.

Experiências recentes mostraram que algumas destas tecnologias são potencialmente capazes de fornecer produtos DL com baixa vitalidade celular residual (segundo a prescrição da OIV), uma proporção de polissacáridos solúveis comparável à presente nos produtos obtidos por processamento térmico, e uma proporção mais elevada de compostos tiólicos se comparada com os métodos tradicionais (*Ferretti, 2014*). Isto poderia causar uma maior capacidade antioxidante do novo tipo de DL. Além disso, a redução das temperaturas do processo parece ter um impacto potencialmente favorável na taxa final de aminoácidos e na redução dos cheiros que provém dos próprios DL (*Voce, 2014*).

Esta preocupação com os cheiros que podem vir dos DL foi apontada por vários autores e pode ser atribuída à deterioração da estrutura molecular ligada à "*reação de Maillard*" - mas não só - (*Tirelli et al., 2009*), pode ter sido causada pelo processamento térmico tradicional dos DL.

Um novo método explorado para a produção de derivados de levedura de elevada qualidade

Em resposta às indicações provenientes dos últimos estudos, o departamento de I&D do VASONGROUP tem desenvolvido pesquisas sobre este tema há mais de cinco anos, juntamente com as principais Universidades e com a GiottoConsulting - que é uma empresa de consultoria interdisciplinar sobre o cultivo da vinha e a vinificação.

O trabalho começou com a escolha da levedura que poderia dar a maior estabilidade aos vinhos, através de extensos testes de envelhecimento, até que as estirpes certas fossem selecionadas. Depois o trabalho centrou-se no estudo das variáveis que participam na produção da levedura, dando prioridade aos processos de lise mais adequados para manter a estrutura original dos componentes da levedura fresca. Destes ensaios destaca-se a excelência do processo "X-PRO®" que trabalha a lise com um método físico que funciona a baixa temperatura e na ausência de oxigénio.

Este processo patenteado oferece uma grande vantagem aos investigadores, uma vez que todos os parâmetros de extração podem ser definidos e variados para ajustar as propriedades do produto final sem alterar as características do núcleo.

Como já foi mencionado, a escolha da estirpe de levedura oferece a oportunidade de ajustar os resultados de acordo com o efeito desejado no vinho ou mosto. Esta tem sido a forma de obter alguma ação específica para cada tipo de produto, embora todos eles partilhem a capacidade de gerir o equilíbrio entre o *redox* dos vinhos e melhorar a estabilidade tartárica e proteica; em particular "*Identity Red*" aposta na estabilidade da cor do vinho, "*Identity White*" aposta na estabilidade proteica, e "*Finesse*" aposta no perlage dos vinhos espumantes.

Grandes resultados logo desde os primeiros ensaios científicos.

O resultado mais notável é a forma como os produtos da gama X-PRO® interagem com o potencial reductor do vinho. O objetivo da investigação foi o de alargar o efeito protetor e estabilizador das borras naturais que permanecem após a fermentação alcoólica.

Além disso, os resultados das primeiras experiências com mostos e vinhos surpreenderam: com os produtos X-PRO® não só é possível atingir o objetivo esperado, como também é possível remediar e reavivar o aroma e a cor de um vinho que está a envelhecer. Uma maneira fácil de verificar este efeito refrescante é adicionar algum produto a uma garrafa de vinho que tenha sido desarrolhada alguns dias antes; nota-se a rapidez com que o vinho que estava a decair regressa ao seu aroma original agradável.

Infelizmente, não é fácil explicar como é possível obter esses resultados impressionantes no vinho a partir de leveduras específicas inativadas (LEI), uma vez que o mecanismo exato da ação da levedura na prevenção dos processos oxidantes ainda não foi totalmente esclarecido.

Alguns autores propõem que o efeito da levedura inativa ocorra através da adsorção de flavanóis, como catequinas e epicatequinas (*Razmkhab et al., 2002*), mas não é esse o caso dos produtos X-PRO® onde o efeito parece ser mais forte; talvez as funções tiólicas "GSH" das cisteínas reduzidas (FTCR) da levedura inativa possam ser o centro nucleofílico para as quinonas; este parece ser o mecanismo de ação mais provável, devido à alta reatividade do FTCTR contra o efeito que as quinonas têm nos polifenóis, aminoácidos, tióis voláteis, e nos vários antioxidantes como SO₂, GSH e ácido ascórbico (*Nikolantonaky et al., 2012*). Contrariamente às expectativas, muitas leveduras inativas têm um nível muito baixo de FTCTR devido a danos térmicos durante o processamento de produção industrial, contrariamente a o que acontece com os produtos da gama X-PRO®.

Os produtos tradicionais podem ligar as moléculas tiólicas que se encontram no vinho, alterando negativamente o perfil aromático (como já foi descrito), e não protegem contra a oxidação (*Tirelli et al., 2010*).

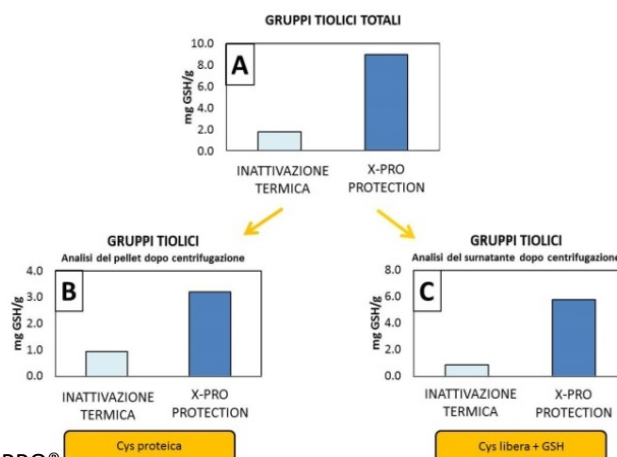
Como se pode ver na **fig. 1**, X-PRO® Protection tem um conteúdo muito mais elevado de FTCTR em comparação com a levedura inativa que foi submetida a um processamento térmico, como prova da importância do controlo da temperatura para manter as propriedades antioxidantes da levedura.

É perceptível a forma como o processo de produção da gama X-PRO®, uma vez que é feito em condições anaeróbicas e a baixa temperatura, pode preservar os grupos tiólicos em comparação com a forma tradicional de processamento (A); e isto é real tanto para os tióis não solúveis (supostamente proteínas contendo cisteína, dentro das paredes celulares) (B), como para os tióis solúveis no sobrenadante (*i.e. cisteína e glutathione*) (C).

Estas observações sugerem que com as (LEI), é possível superar a visão geral sobre os tempos de contacto quanto mais longos (*Del Barrio-Galan et al., 2018*). A levedura precisa de ter efeito no vinho, e obter bons resultados mesmo com uma dosagem baixa, sem alterar o carácter natural do vinho.

Todas estas moléculas, juntamente com as outras que já foram discutidas - como peptídeos que contêm metionina, triptofano e tirosina - poderiam estar envolvidas no poder antioxidante da levedura inativa (*Bencomo et al., 2014*).

Seguindo esta lógica poderia ser possível elucidar a razão pela qual alguns vinhos são capazes de manter o perfil aromático durante anos, enquanto outros sofrem uma rápida deterioração após a mais pequena exposição ao oxigénio.



A utilização de leveduras específicas inativas (LEI) em vez dos antioxidantes químicos tradicionais poderia ser considerada um fator-chave na gestão natural do equilíbrio *redox* do vinho; e entre esses produtos da gama X-PRO® parece ser a solução mais eficaz, precisamente devido à forte presença de moléculas naturais reduzidas.

Na Indústria muitos produtos estão disponíveis, no entanto, a maioria é ineficiente para o controlo de *redox*, uma vez que carecem das estruturas moleculares que podem ser ativas contra a oxidação. Entre os produtos disponíveis, apenas dois deles mostraram de alguma forma uma capacidade semelhante, pelo que as seguintes comparações considerarão apenas os produtos Vs. X-PRO®. A investigação prosseguiu rapidamente com o exame de parâmetros como polifenóis, *redox*, cor (CIE L*a*b*), e as variáveis relacionadas com o envelhecimento das borras (principalmente proteínas, tartárico e cor).

X-PRO® - A TECNOLOGIA

O processo inovador de inativação de leveduras denominado XPRO é produzido em condições anaeróbias, a baixa temperatura e sem o uso de enzimas. A matéria-prima preciosa é, por conseguinte, protegida de possíveis alterações. Depois de ajustar os parâmetros do processo, pode ser diversificado de acordo com as características necessárias para melhorar. Sem adição de químicos, apenas o forte empenho da Enologica Vason em fornecer as propriedades nativas e bem conhecidas das substâncias naturais contidas na célula de levedura.

Aplicação da proteção X-PRO® em mostos brancos

O primeiro teste com o objetivo de controlar o *redox* dos mostos frescos foi realizado durante a vindima de 2016. Esta prática deverá resultar numa redução dramática dos antioxidantes químicos tradicionais (SO₂, ácido ascórbico...), dando uma contribuição importante quando se lida com procedimentos de "baixo SO₂" ou "sem sulfitos".

X-PRO® Grapes quando adicionado ao mosto pode proporcionar um elevado grau de proteção contra o processo oxidativo; este resultado emerge claramente da mudança nas coordenadas de cor CIE L*a*b*, após uma adição de 10 g/hl ao mosto. (Fig. 2).

Estes parâmetros foram medidos 2 horas após a adição de X-PRO® Grapes e podem ser utilizados como marcadores para acompanhar rápida e facilmente o progresso da reação durante o teste (ou seja, o efeito das quininas que se originaram da oxidação fenólica).

Estas primeiras observações foram realizadas com mosto da casta *Glera* e *Garganega*: é notável a rápida melhoria das características cromáticas, nomeadamente uma cor "mais jovem" (diminuindo a* e b*, aumento de L*), em comparação com o controlo e com as que foram tratadas com levedura inativa "convencional".

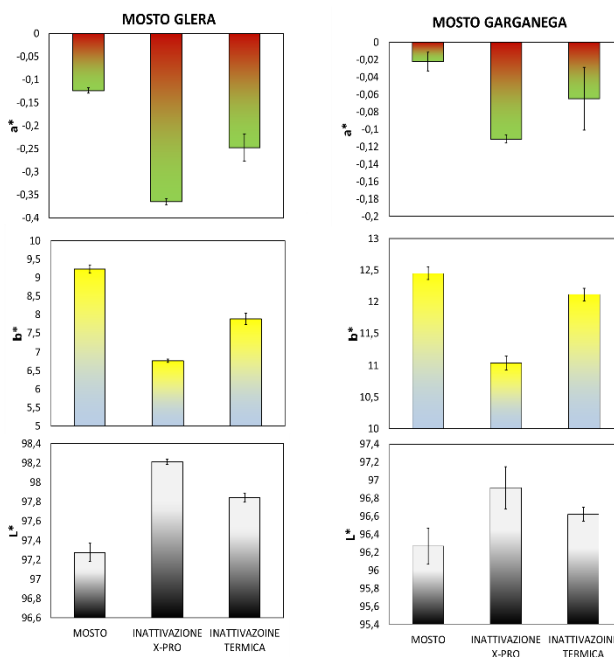


Fig. 2 – Melhorias no sistema *redox* em *Glera* e *Garganega* musts após a adição de X-PRO® Grapes, em comparação com a levedura "tradicional".

Na Fig. 3 é visualmente perceptível o efeito antioxidante e de proteção: na casta *Glera* a cor deve ter mudado para o verde, enquanto na *Garganega* os tons de oxidação acastanhados reduziram claramente.

As qualidades organolépticas, não relatadas nos gráficos, melhoraram proporcionalmente com a melhoria da cor.

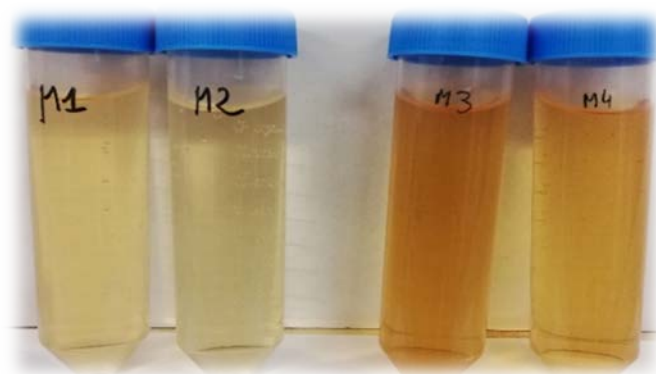


Fig. 3 – A mudança de cor alcançada em *Glera* deve (M1 e M2), e *Garganega* deve (M3 e M4) após o tratamento com X-PRO® Grapes

Utilização de X-PRO® Protection em vinhos envelhecidos

A aplicação mais clássica dos produtos X-PRO® é naturalmente apoiar as técnicas comuns de envelhecimento em borras, para vinhos brancos, rosés, e tintos.

O efeito protetor das borras é conhecido há muito tempo e desempenha um papel importante no prolongamento da vida do vinho.

		L*	a*	b*
M1	A TEST	99,69	-0,01	1,03
M2	A + 10g/hL X-PRO GRAPES	99,82	-0,03	0,66
M3	B TEST	99,34	0,09	1,75
M4	B + 10g/hL X-PRO GRAPES	99,42	0,06	1,56

Tab. 1 – Melhoria das coordenadas cromáticas CIE L*a*b* em resposta a uma adição de 10 g /hl de proteção X-PRO®.

A utilização de X-PRO® Protection visa apoiar e alargar o efeito anti envelhecimento natural das borras através da neutralização das reações oxidativas.

Passados 30 e 60 dias da adição, o vinho branco tratado com X-PRO® Protection mantém melhores características de cor, como nos vinhos mais jovens; os tons são mais esverdeados e mais brilhantes em comparação tanto com o controlo, como com o vinho que foi tratado com algum tipo convencional de levedura inativa. (Fig. 4).

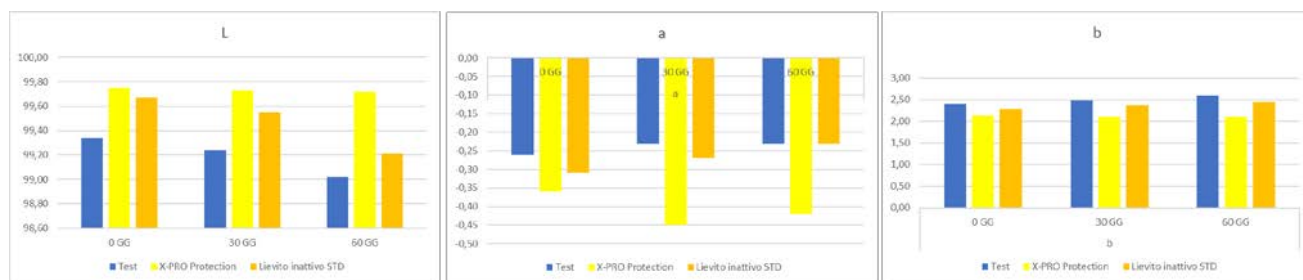


Fig. 4 – Efeito protetor da adição de 10 g/hl de X-PRO® Proteção no ponto 0, após 30 dias e após 60 dias, em comparação com a adição da mesma quantidade de levedura convencional, avaliada por meio das coordenadas CIE L*a*b*.

O efeito protetor sobre a cor que foi salientado, pode ser experimentado também nas características olfativas, uma vez que é possível sentir a redução das notas oxidativas e a melhoria das nuances frescas, florais e frutadas, que não estão presentes no vinho não tratado. A utilização de produtos da gama X-PRO® não leva de modo algum a comparação de aromas indesejáveis de levedura inativa ou derivados de levedura.

Deve considerar-se que nos depósitos "reais" é possível manter o nível certo de SO₂ com algumas adições limitadas do produto, o que é um sinal claro de reequilíbrio (Fig. 5)

Seria muito interessante ir mais longe com a investigação a fim de proporcionar uma explicação científica do mecanismo envolvido nestas propriedades; entretanto, é altamente gratificante apreciar os efeitos sobre a conservabilidade e sobre o aroma dos vinhos.

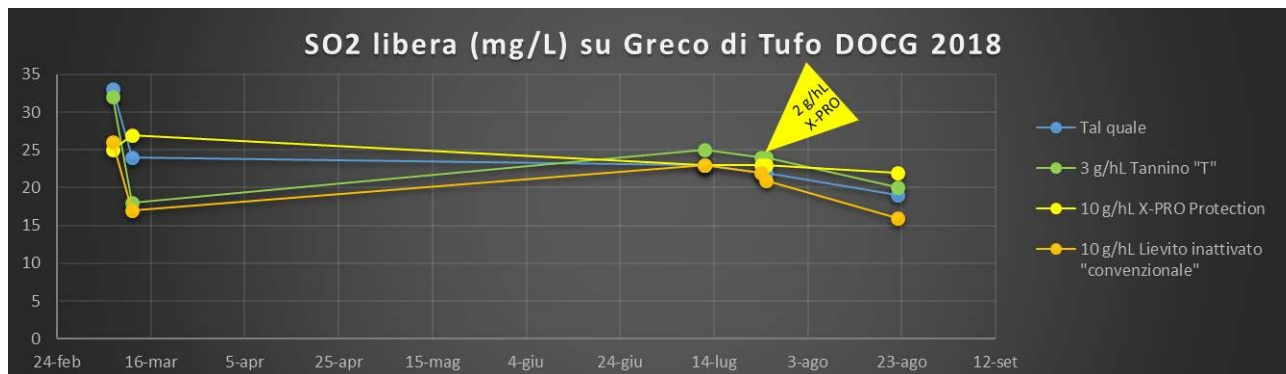


Fig. 5a – O efeito da X-PRO® Protection em manter um nível mais elevado de SO₂ ao longo do tempo, em comparação com um tanino e com um tipo "convencional" de levedura inativa. Mais 2 g/hl de produto foram adicionados no dia 24 de julho. Isto manteve o nível de SO₂ (analísado pelo método OIV)

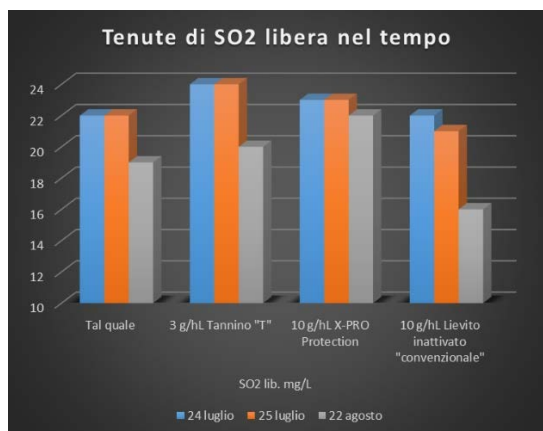


Fig. 5b – Mais sobre os dados anteriormente examinados.

Utilização de X-PRO® Finesse em vinhos carbonatados e espumantes.

Na produção de vinhos espumantes há muita levedura que darão a sua contribuição tanto para a estabilidade do vinho como para persistência da espuma. A utilização do X-PRO® tem sido repetidamente testada, não só para prolongar a vida útil, mas também para melhorar as propriedades da bolha, dando volume superior, persistência mais longa e maior fineza.

De modo a obter uma melhor comparabilidade entre os testes, os efeitos do tratamento foram medidos pelo sistema "Mosalux", que avalia objetivamente a capacidade do vinho para produzir uma espuma espessa e de longa duração.

X-PRO® - GAMA DE PRODUTOS

Os produtos obtidos pelo processo único "X-PRO®" dão uma sensação de equilíbrio aromático e preservam a frescura e a cor, respeitando ao mesmo tempo a identidade original do vinho.

X-PRO GRAPES tem muito mais capacidade de proteção comparado com os convencionais utilizados em uvas e mostos.

X-PRO® PROTECTION tem a capacidade de manter um ótimo equilíbrio redox e corrigir a oxidação do vinho.

X-PRO® IDENTITY WHITE e X-PRO® IDENTITY RED criam um ambiente equilibrado e estável durante o envelhecimento e, além disso, demonstram efeitos secundários estabilizadores interessantes.

O X-PRO® FINESSE é ideal para refinar a elegância dos vinhos espumantes que se reflete numa maior fineza e num perlage duradouro.

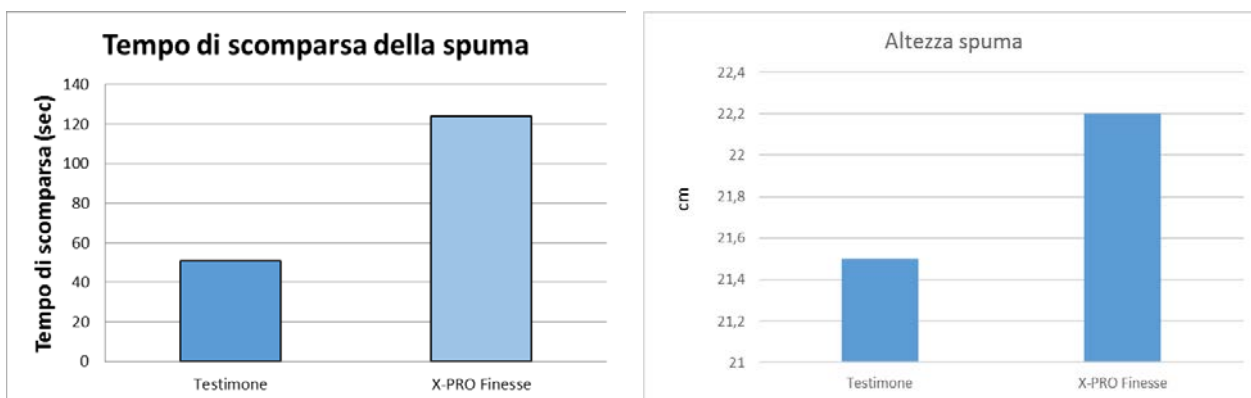


Fig. 6 – Espuma (espessura e duração) obtida pela adição de 10 g/hl X-PRO® Fineza na tiragem, a um vinho processado pelo método Martinotti.

Os parâmetros que foram medidos melhoram claramente após o tratamento, e além disso a utilização do X-PRO® Finesse em vinhos premium dá-lhes elegância e requinte. As macromoléculas que X-PRO® libertada no interior do vinho são capazes de compensar a secura e as sensações ácidas mais duras, dando a sua contribuição para a harmonia e mais longo na boca.

Conclusões

Num futuro próximo existe uma boa probabilidade de ser necessário indicar a origem de todos os ingredientes utilizados no vinho: a este respeito, a procura da indústria vitivinícola é evitar produtos químicos na vinificação; é isto que impulsiona a investigação sobre a prossecução do caminho dos tratamentos físicos e biotecnológicos.

Do mesmo modo, este é o caminho que o projeto de investigação X-PRO® seguiu, produzindo uma grande quantidade de provas científicas e dados óbvios que tornam claro que estamos perante uma verdadeira inovação tecnológica.

Os produtos X-PRO® demonstram ser os maiores interessados em manter a identidade, a fragrância e a elegância dos vinhos ao longo do tempo, graças à sua capacidade única de gerir o sistema *redox* - que não é alcançável com produtos "convencionais". É a opção mais natural de proporcionar um processo de vinificação que permita a redução ou eliminação dos sulfitos.

X-PRO® inovação no processamento de lise de levedura: sem químicos, mas com a forte vontade da Enologica Vason de beneficiar da capacidade inata e bem conhecida de estabilização pertencente às substâncias contidas nos microrganismos do vinho.

Agradecimentos:

Obrigado s ao Dr. *Piorgio Comuzzo* da Universidade de Udine, pela preciosa ajuda na parte introdutória deste trabalho.

Obrigado a Federico Giotto, fundador da *GiottoConsulting*, pela contribuição e o desenvolvimento deste projeto.

Bibliografia:

- Andujar-Ortiz, I., et al. (2010). Role of glutathione enriched inactive yeast preparations on the aroma of wines. In: 33rd World Congress of Vine and Wine - 8th General Assembly of the OIV. June, 20-25 2010, Tbilisi, Georgia, pp 154-161.
- Cacciola, V. et al. (2013). Study of the ultrasound effects on yeast lees lysis in winemaking. *Eur. Food. Res. Technol.* 236, 311-317.
- Comuzzo, P. et al. (2007). Derivati di lievito: caratteristiche compositive e aspetti pratici legati all'impiego enologico. Poster a Enoforum, 13-15 marzo.
- Comuzzo P. et al. (2011). Interactions between yeast autolysates and volatile compounds in wine and in model solution. *Food Chem.* 121, 473-480.
- Comuzzo, P. et al. (2015a). Antioxidant properties of different products and additives in white wine. *Food Chem.* 168:107-114.
- Comuzzo, P. et al. (2015b). Potential of high pressure homogenization to induce autolysis of wine yeasts. *Food Chem.* 185: 340-348.
- Comuzzo, P. (2017). Application of multi-pass high pressure homogenization under variable temperature regimes to induce autolysis of wine yeasts. *Food Chem.* 224:105-113.
- Comuzzo, P., Toniolo, R. (2018). Approccio elettroanalitico per lo studio di antiossidanti ad uso enologico. *L'Enologo* 5:93-97.
- Ferretti, D. (2014). Studio della capacità antiossidante di autolisati di lievito prodotti con tecniche diverse. Elaborato per il Conseguimento della Laurea Magistrale, Università di Udine.
- Gallardo-Chacón, et al. (2010). Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie aging. *Int. J. Food Microbiol.* 143:48-53.
- Molaro, M. (2017). Derivati di lievito ad uso enologico: aspetti compositivi e attività antiossidante. Tesi di Laurea, Università di Udine.
- Molteni, B. (2018). Caratterizzazione compositiva di derivati di lievito commerciali. Elaborato per il Conseguimento della Laurea Magistrale, Università di Udine.
- Nikolantonaki, M., Waterhouse, A. (2012). A method to quantify quinone reaction rates with wine relevant nucleophiles: a key to the understanding of oxidative loss of varietal thiols. *J. Agric. Food Chem.* 60, 8484-8491.
- Razmkhab, S. et al. (2002). Adsorption of phenolic compounds and browning products in white wines by yeasts and their cell walls. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7432-7437
- Rodríguez-Bencomo, J.J. et al. (2014). Impact of glutathione-enriched inactive dry yeast preparations on the stability of terpenes during model wine aging. *J. Agric. Food Chem.* 62:1373-1383.
- Rosso, A. (2017). Potenziale antiossidante di derivati di lievito commerciali: impiego su vini bianchi. Elaborato per il conseguimento della Laurea, Università di Udine.
- Tirelli, A. et al. (2009). Caratterizzazione di frazioni parietali di lievito in base alle forme cisteiniche ridotte. Poster a Enoforum, 21-23 aprile.
- Tirelli, A. et al. (2010). Determination of reduced cysteine in oenological cell wall fractions of *Saccharmyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.* 58, 4565-4570.
- Del Barrio-Galan, R. et al. (2018). Different application dosages of a specific inactivated dry yeast (SIDY): effects on the polysaccharides, phenolic and volatile contents and color of Sauvignon blanc wines. *OENO One* 25, 4, 333-346.
- Voce, S. (2014). Potenzialità di impiego dell'omogeneizzazione ad alta pressione per la produzione di autolisati di lievito ad uso enologico. Tesi di Laurea, Università di Udine.