

Wine Bacteria ⁰ under investigation

Nº4

FERRAMENTAS DE BIOCONTROLO PARA BRETTANOMYCES

1. BRETTANOMYCES : UM FORTE AGENTE DE CONTAMINAÇÃO

As leveduras de contaminação *Brettanomyces spp* são um problema, especialmente para os vinhos tintos. Estas leveduras são muito oportunistas e podem sobreviver e multiplicar-se em condições difíceis ao longo da vida do vinho. Boas condições de higienização e de controlo microbiológico podem inibir o seu crescimento, mas não as eliminam. O objetivo é limitar o seu desenvolvimento que limitará posteriormente a produção de fenóis voláteis. A utilização de SO₂ é o método preferencial para controlar o seu desenvolvimento, contudo, a recente tendência para reduzir a utilização de SO₂ no vinho, assim como, o aumento generalizado do pH do vinho reduz a sua eficácia. Além disto, existe uma grande variação na resistência ao SO₂ entre as diferentes leveduras *Brettanomyces spp*. A inoculação com as nossas bactérias selecionadas é uma boa opção para proteger o vinho durante o processo de fermentação, e novos estudos também mostram o seu potencial para proteger o vinho durante as etapas de envelhecimento contra a recontaminação com *Brettanomyces spp*.

2. A CO-INOCULAÇÃO COMO FERRAMENTA PREVENTIVA

Estudos prévios evidenciaram o claro impacto da inoculação precoce de bactérias selecionadas na redução dos níveis finais de fenóis voláteis. Em 2014, o OIV reconheceu que a co-inoculação de bactérias lácticas selecionadas poderia ajudar a diminuir a fase entre a fermentação alcoólica (FA) e a fermentação malolática (FML) e, consequentemente, limitar o desenvolvimento de *Brettanomyces spp*. Estudos recentes em colaboração com o IFV (França) mostram que algumas bactérias selecionadas podem ter um efeito de inibição direta no crescimento das *Brettanomyces spp*.

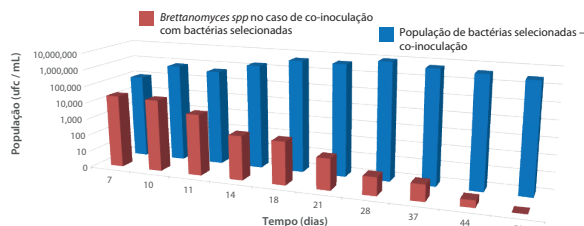


Figura 1. Crescimento das *Brettanomyces spp* durante a co-inoculação com bactérias em Pinot Noir (Borgonha, França)

As populações de leveduras e bactérias foram monitorizadas num vinho contaminado com *Brettanomyces spp*, inoculado com uma bactéria selecionada para FML (Figura 1) ou em FML espontânea (bactérias indígenas) (Figura 2) de forma a mostrar como as bactérias lácticas podem afetar o crescimento das *Brettanomyces spp*. Quando inoculado com bactérias enológicas, não há crescimento de *Brettanomyces* (mesmo com contaminação elevada), além disto, os níveis de Brett diminuem quando a população das bactérias selecionadas aumenta. Contrariamente, quando ocorre a FML espontânea, a população de *Brettanomyces* mantém um nível elevado até ao 11º dia (data de trasfega) verificando-se um novo crescimento devido ao lento desenvolvimento da população de bactérias espontâneas. Os níveis finais de Brett são significativamente diferentes entre os vinhos com co-inoculação e o controlo: 10 vezes mais *Brettanomyces spp* no controlo do que nos vinhos co-inoculados. Estes resultados confirmam a grande competição entre as bactérias selecionadas e as *Brettanomyces spp*, devido à dominância precoce e a uma excelente capacidade de sobrevivência destas bactérias.

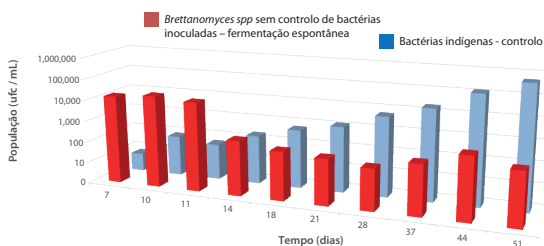


Figura 2. Crescimento de *Brettanomyces spp* durante a FML espontânea em Pinot Noir (Borgonha, França)

3. BIOCONTROLO APÓS A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Por diversas razões, pode não ser possível a co-inoculação nos vinhos, no entanto a inoculação sequencial, no final da FA, também pode ajudar a diminuir o risco de desenvolvimento de *Brettanomyces spp*. Um estudo realizado (sem adição de SO₂ no final da FML) com o IFV (França) demonstrou que após FA mesmo em vinhos com um elevado nível de contaminação por *Brettanomyces spp* (100 ufc/mL), o crescimento das nossas bactérias selecionadas após FA limita significativamente o desenvolvimento das *Brettanomyces*. Os níveis finais de *Brettanomyces spp* na presença de bactérias selecionadas foram equivalentes aos níveis iniciais (entre 100 a 1000 ufc/mL), enquanto no controlo na modalidade de FML espontânea, os níveis finais de *Brettanomyces spp* foram muito superiores (100 000 ufc/mL) com um pico a 1 000 000 ufc/mL, com notáveis aromas a Brett. O nível de contaminação do controlo foi seguido por um período de pelo menos 2 meses após o fim da FML.

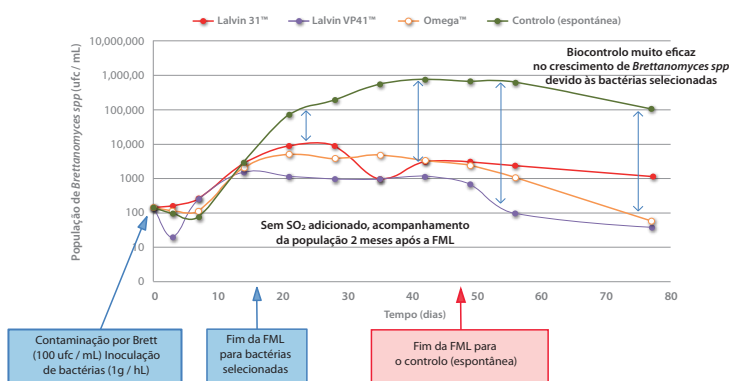


Figura 3. Biocontrolo da população de *Brettanomyces spp* com diversas bactérias enológicas selecionadas.

4. PROTEÇÃO DE VINHOS SEM AÇÚCARES RESIDUAIS APÓS A FML

Descobertas recentes do IFV (França) mostraram que a manutenção de uma população viva de bactérias enológicas selecionadas, após a FML, pode prevenir uma nova contaminação do vinho por *Brettanomyces spp* em determinadas condições. Um estudo realizado em 2017 com um vinho Pinot Noir (pH 3,5, 18°C) inoculado com bactérias enológicas após a FA, demonstrou que o vinho estava mais protegido contra a recontaminação por *Brettanomyces spp* comparativamente com vinhos não inoculados. Se o nível de contaminação for baixo (50 ufc/mL), as bactérias enológicas irão diminuir a população de *Brettanomyces spp* a níveis insignificantes (figura 4). Mais de um mês após o final da FML, os fenóis voláteis foram indetectáveis, enquanto o vinho não inoculado apresentou fenóis voláteis acima do limiar de deteção. Sem estabilização, a AV permanece baixa, a 0,4 g/L. Conclusão, as nossas bactérias selecionadas permanecem viáveis após o fim da FML tendo uma ação protetora contra a recontaminação por Brett durante o envelhecimento dos vinhos sem açúcares residuais. Esta é uma boa estratégia para diminuir a utilização de SO₂ durante a produção de vinho, em função do vinho (sem açúcares residuais, pH <3,7), e com uma monitorização da acidez volátil.

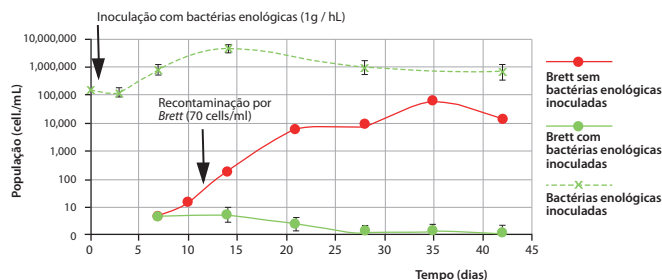


Figura 4. Evolução de *Brettanomyces spp* a baixos níveis de contaminação com ou sem a inoculação de bactérias enológicas selecionadas, sem adição de SO₂, no final da FML

O BIOCONTROLO É OTIMIZADO COM AS NOSSAS BACTÉRIAS ENOLÓGICAS DE ELEVADA QUALIDADE