

Bitterness Reduction in Soybean Meal Hydrolysate Using Activated Charcoal Redução do Amargor do Hidrolisado de Farelo de Soja Utilizando Carvão Ativado

Raquel Stroher¹, André Álvares Monge Neto², Nehemias Curvelo Pereira³, Gisella Maria Zanin⁴

ABSTRACT

The release of hydrophobic groups during the enzymatic catalysis is related to the bitterness produced in the hydrolysate protein source. The activated charcoal, by its adsorption capacity, can be effective in removing the compounds responsible for this undesirable taste. Thus, the present study aimed to reduce the bitterness of the hydrolysate, as well as evaluating sensory formulations produced from this material. The hydrolysate of soybean meal was produced using the Alcalase[®] 2.4L and it was submitted to the adsorption process with activated charcoal. It was subsequently used in the preparation of formulations for evaluating the acceptability of the product. The results obtained in the sensory tests indicate that the treatment of the hydrolysate with activated charcoal modifies the sensory characteristics of the formulation, allowing the use of this hydrolysate in the formulation of food for human consumption.

Keywords: protein, hydrolysis, taste.

RESUMO

A liberação de grupamentos hidrofóbicos no decorrer da catálise enzimática está relacionada ao amargor produzido nos hidrolisados de fonte proteicas. O carvão ativado, por sua capacidade de adsorção, pode ser eficiente na remoção de compostos responsáveis por esse gosto indesejado. Diante disso, o presente trabalho teve como principal objetivo reduzir o amargor do hidrolisado, bem como avaliar sensorialmente formulações produzidas a partir deste material. O hidrolisado de farelo de soja foi produzido empregando-se a Alcalase[®] 2.4L e submetido ao processo de adsorção com carvão ativado. Posteriormente, foi utilizado na preparação de formulações para avaliar a aceitabilidade do produto. Os resultados obtidos nos testes sensoriais indicaram que o tratamento do hidrolisado com carvão ativado modifica as características sensoriais da formulação, possibilitando a utilização deste hidrolisado na formulação de alimentos destinados ao consumo humano.

Palavras-chave: proteína, hidrólise, gosto.

¹ raquel_stroher@hotmail.com autor para correspondencia - Universidade Estadual de Maringá (UEM)

² and.alvares@hotmail.com

³ nehemias@deq.uem.br

⁴ gisella@deq.uem.br

INTRODUÇÃO

A soja e seus derivados constituem um dos produtos agrícolas mais comercializados no mundo, devido às suas várias formas de consumo, que se estendem desde alimentação humana e animal, até a indústria farmacêutica e siderúrgica (MARGARIDO et al., 2001).

Ao comparar sua composição química com a de outros alimentos, fica claro sua superioridade, em relação a outros vegetais, e sua equivalência em relação aos produtos animais (STROHER, 2010). Entretanto, mesmo tendo excelentes qualidades nutricionais e funcionais além de alta produtividade, a soja é um alimento que pouco integra a dieta dos brasileiros. Isto se deve, essencialmente, ao sabor e odor desagradável proveniente de compostos orgânicos nas sementes (SILVA et al., 2006).

A hidrólise enzimática de proteínas produz oligopeptídeos, principalmente di-tripeptídeos, que são mais rapidamente absorvidos pelo organismo em relação às proteínas intactas ou aminoácidos livres (ARAÚJO, 2009). No entanto, há uma desvantagem na utilização desses hidrolisados enzimáticos, pois durante a catálise, há liberação de grupamentos hidrofóbicos, encontrados no interior das moléculas proteicas, e que ocasionam em um sabor amargo, o qual representa um dos principais obstáculos na aplicação generalizada dos hidrolisados (BARBOSA et al., 2002).

Vários métodos têm sido propostos para mascarar esse sabor indesejável proveniente da hidrólise enzimática, entre eles a aplicação da cromatografia de interação hidrofóbica; o tratamento com carvão ativado; a hidrólise com exopeptidases; a formação de plasteína e a extração com solventes orgânicos. No entanto, evidencia-se alguns inconvenientes, tais como a adsorção de aminoácidos hidrofóbicos, por exemplo, fenilalanina e triptofano (aminoácidos essenciais); a produção excessiva de aminoácidos livres, elevando a osmolaridade do produto; a reversibilidade da reação e o baixo rendimento juntamente com o problema da toxicidade (ARAÚJO, 2009; BARBOSA et al., 2002).

Os carvões ativados têm se mostrado altamente eficientes na remoção de compostos que transmitem cor e odor, e na remoção de metais e compostos orgânicos de baixa massa molar. Assim sendo, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar sensorialmente formulações utilizando o hidrolisado

enzimático de farelo de soja submetido ao processo de adsorção com carvão ativado para a redução do amargor resultante da reação.

MATERIAL

1. Farelo de Soja

Cedido pela indústria de extração de óleos da Cocamar, situada em Maringá, PR, o farelo de soja desengordurado tostado utilizado nos experimentos possui um teor de 49% de proteína. Coletado após a etapa de dessolventização a vapor, o farelo foi submetido ao processo de secagem a uma temperatura de 60 °C por 24 horas.

2. Enzima

A enzima utilizada na reação foi a Alcalase® 2.4L, fabricada pela Novozymes Latin America Ltda, é uma protease bacteriana altamente eficiente desenvolvida para a hidrólise de todos os tipos de proteínas.

3. Carvão Ativado

O material adsorvente utilizado era não-tratado e estava sob a forma granular. Para sua utilização nos ensaios, o material foi previamente lavado com água deionizada e, posteriormente, foi seco em estufa.

METODOLOGIA

1. Hidrólise Enzimática do Farelo de Soja

As dispersões foram preparadas utilizando-se 10 g de farelo de soja em 100 mL de água destilada. A enzima Alcalase® 2.4L foi acrescentada à dispersão na concentração de 1% proteína da enzima/proteína do farelo, sem prévio ajuste do pH. Os *erlenmeyers* foram levados a uma incubadora/*shaker* previamente ajustada a 60 °C e 100 rpm de agitação por um período de 3 horas. Ao final da reação, os recipientes foram levados a banho a 90 °C por 15 minutos, para a inativação da enzima. Filtrou-se o material e o hidrolisado foi armazenado a 4 °C até o momento do preparo das formulações (STENZEL, 2007; STROHER, 2010).

2. Tratamento do Hidrolisado com Carvão Ativado

A metodologia utilizada para remover o sabor amargo foi o procedimento de passagem por coluna contendo carvão ativado descrito por Soares et al.

(2004). A coluna de adsorção continha em torno de 5 g de carvão ativado e, filtro de nylon e algodão como suportes. O sistema da coluna (algodão e carvão) era trocado a cada 200 mL de hidrolisado que percolava pela coluna.

3. Análises Físico-Químicas: A caracterização físico-química do hidrolisado enzimático e do hidrolisado tratado com carvão foram realizadas com as metodologias descritas nas bibliografias do Instituto Adolfo Lutz (2008) e de Cecchi, (2003). Foram realizadas as seguintes análises: umidade, cinzas, proteína, lipídios e fibra bruta.

4. Formulação da Bebida à Base de Soja

Foram preparadas duas formulações diferentes: a formulação A produzida com hidrolisado enzimático de farelo de soja, polpa de morango, açúcar, ácido ascórbico, ácido cítrico e aroma mascarante de soja. A formulação B continha o mesmo percentual de cada um dos ingredientes, no entanto, foi preparado com o hidrolisado submetido ao processo de adsorção com carvão ativado.

Dessa forma, ao elaborar a bebida, optou-se pelo uso de ingredientes de forma a se assemelhar à formulação das bebidas disponíveis comercialmente.

5. Análise Sensorial

A avaliação contou com 50 provadores não treinados e foi conduzida em cabines individualizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá. A análise foi realizada com amostras balanceadas de forma a minimizar erros decorrentes da interferência de uma amostra sobre a outra. Cada provador recebia simultaneamente três amostras codificadas com números aleatórios.

As amostras foram avaliadas sensorialmente de duas maneiras: aplicou-se o teste triangular seguido do teste de escala hedônica.

O teste triangular foi aplicado para identificar se havia diferença perceptível entre as amostras, nesse caso, se o tratamento com carvão ativado modificava o sabor da formulação. Após receber as três amostras codificadas aleatoriamente, era solicitado ao provador que identificasse a amostra que diferia das demais, assinalando-a com um "X". Para avaliar os dados obtidos, relacionou-se o número total de testes realizados com o número de acertos (ABNT, 1994).

O teste de escala hedônica foi aplicado para identificar a aceitabilidade do produto. Foi solicitado ao provador que atribuísse uma nota para cada amostra de acordo com a escala hedônica estruturada de 9 pontos, em que 9 representava "gostei muitíssimo" e 1 "desgostei muitíssimo". As notas obtidas

na avaliação foram submetidas à ANOVA para análise de variância dos dados ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas do hidrolisado enzimático de farelo de soja e do hidrolisado tratado com carvão ativado são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados das análises físico-químicas do hidrolisado e do hidrolisado tratado com carvão ativado.

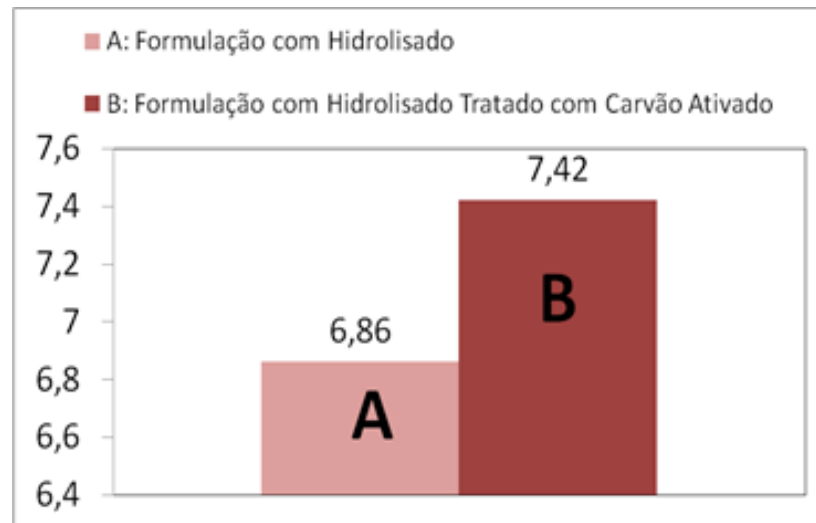
Análises	Hidrolisado	Hidrolisado Tratado
Umidade (%)	93,0011 ± 0,0233	93,2783 ± 0,0070
Cinzas (%)	0,4097 ± 0,0038	0,4012 ± 0,0740
Fibras (%)	0,0597 ± 0,0245	0,0574 ± 0,0119
Lipídios (%)	0,0392 ± 0,0246	0,0399 ± 0,0108
Proteínas (%)	3,0161 ± 0,1542	2,7478 ± 0,1643
Carboidratos* (%)	3,4741	3,4752

*Calculado por diferença (Carboidratos = 100 – umidade – cinzas – fibras – lipídios – proteínas).

O teor de proteínas determinado para o hidrolisado enzimático de farelo de soja foi 3,02%, e após o tratamento com carvão ativado o teor determinado foi 2,75%. Tal fato pode ser relacionado à capacidade do carvão em adsorver compostos hidrofóbicos, que é o caso de alguns aminoácidos. Os demais constituintes analisados não sofreram alterações significantes, o que permite considerá-lo um possível ingrediente para alimentos à base de soja. A utilização deste hidrolisado em bebidas à base de soja pode propiciar um produto de teor proteico mais elevado e, conseqüentemente, maior apelo nutricional.

A avaliação do teste triangular é feita apenas com base no número total de testes realizados e no número de acertos (ABNT, 1994). De um total de 50 provadores, 24 identificaram corretamente a amostra diferente. Pode-se afirmar que há diferença significativa entre as amostras ao nível de significância de 5%, ou seja, é perceptível ao paladar do consumidor o tratamento do hidrolisado com carvão ativado.

As notas obtidas no teste de escala hedônica passaram por uma análise de variância a partir da qual foram obtidas as médias das notas das duas formulações preparadas, apresentadas na Figura 1.

Figura 1. Médias das notas obtidas no teste de escala hedônica.

A formulação A, produzida com hidrolisado enzimático de farelo de soja, apresentou uma nota média 6,86. Já a formulação B, preparada com o hidrolisado submetido ao processo de adsorção com carvão ativado, obteve nota média 7,42. Observando as notas médias diante da escala hedônica utilizada, foi possível verificar uma boa aceitação de ambas as amostras pelos provadores. A análise de variância desse teste permitiu afirmar que, existe diferença significativa entre a aceitação das amostras ao nível de significância de 5%, sendo que a formulação contendo hidrolisado enzimático tratado com carvão ativado obteve maior aceitação do que a amostra que não recebeu esse tratamento.

Diante dos resultados é possível afirmar que o tratamento do hidrolisado com carvão ativado modificou as características sensoriais da formulação da bebida à base de soja resultando em um produto com sabor mais agradável ao paladar do consumidor.

A eficácia do carvão ativado também foi verificada na remoção de fenilalanina (Phe) no tratamento de hidrolisados enzimáticos de fubá de milho, com o intuito de ser utilizado em dietas alimentares de fenilcetonúricos. Tal estudo obteve hidrolisados com teores finais de Phe que variaram de 18,80 a 240,75 mg Phe/100 g de hidrolisado (CAPOBIANGO, 2006). Esse resultado pode ser associado à capacidade do carvão em adsorver os compostos hidrofóbicos, que é o caso da fenilalanina (SALADO, 1997).

CONCLUSÕES

O processo de adsorção com carvão ativado ao qual o hidrolisado foi submetido diminuiu o teor de proteína do material analisado, devido à capacidade do carvão em adsorver compostos hidrofóbicos, que é o caso de alguns aminoácidos. Os teores de umidade, cinzas, fibras, lipídios e carboidratos não sofreram alterações significantes após o tratamento com carvão.

Pelos dados obtidos na análise sensorial, pode-se afirmar que existe diferença significativa entre a formulação com hidrolisado e a formulação em que o hidrolisado foi tratado com carvão ativado, ao nível de significância de 5%. Pelas notas atribuídas no teste de escala hedônica, observou-se uma boa aceitabilidade de ambas as formulações entre os julgadores, sendo que a formulação contendo apenas o hidrolisado tratado com carvão ativado obteve uma melhor aceitação.

Os resultados dos testes sensoriais e das análises físico-químicas confirmam a potencialidade do carvão ativado em remover o amargor residual decorrente da reação de hidrólise enzimática do farelo de soja. Esse tratamento aumenta o potencial de utilização do hidrolisado produzido na formulação de alimentos destinados ao consumo humano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a COCAMAR pelo fornecimento do material e a CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Teste Triangular em Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas** - NBR 12995. ABNT, São Paulo, 1994.
- ARAÚJO, R. L. B. **Obtenção de Extrato Enzimático da Casca de Abacaxi e sua Utilização no Preparo de Hidrolisados Protéicos de Farinha de Trigo com Teor Reduzido de Fenilalanina**. Belo Horizonte, 2009, 238p. Tese (Doutor em Ciências de Alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).
- BARBOSA, C. M. S.; MORAIS, H. A.; LOPES, D. C. F.; MANSUR, H. S.; OLIVEIRA, M. C.; SILVESTRE, M. P. C. Microencapsulação de Hidrolisados de Caseína em Lipoesferas para Mascaram o Sabor Amargo: Avaliação Físico-Química e Sensorial Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 3, p. 113-119, jul./set. 2002.

CAPOBIANGO, M. **Extração das Proteínas do Fubá de Milho e Obtenção de Hidrolisados Protéicos com Baixo Teor de Fenilalanina**. Belo Horizonte, 2006, 79p. Dissertação (Mestre em Ciências de Alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. 2ª. ed., Campinas: Ed. Unicamp, 2003. 207 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4ª. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

MARGARIDO, M. A.; TUROLLA, F. A.; FERNANDES, J. M. Análise da Elasticidade de Transmissão de Preços no Mercado Internacional de Soja. **Pesquisa & Debate**, SP, v. 12, n. 2, p. 5-40, 2001.

SALADO, G. A. **Resposta Nutricional e Pacientes Hospitalizados Tratados com Dieta Formulada de Hidrolisado Protéico de Soja**. Campinas, 1997, 181p. Tese (Doutor em Ciência da Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, R. B.; LEITE, O. S. M. Composição Química e Valor Protéico do Resíduo de Soja em Relação ao Grão de Soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, jul./set. 2006.

SOARES, R. D. L.; DELVIVO, F. M.; DE-MARCO, L. M.; AGUIAR, J. B. M.; JUNQUEIRA, R. G.; FIGUEIREDO, A. F. S.; SILVESTRE, M. P. C. Emprego do Carvão Ativado Para a Remoção de Fenilalanina de Leite em Pó. **Boletim do Centro Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 65-84, 2004.

STENZEL, M. **Solubilização Enzimática de Proteína do Farelo de Soja e Caracterização Funcional dos Hidrolisados Formados**. Maringá, 2007, 136p. Tese (Doutor em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá (UEM).

STRÖHER, R. **Hidrólise Enzimática da Proteína do Farelo de Soja**. Maringá, 2010, 74p. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Received 24 October 2012

Accepted 07 March 2013

Evaluation of Isolated Yeasts from Grapes of Pinto Bandeira Region, Bento Gonçalves (RS) in relation to Production of H₂S and Fermentation Rate

Avaliação de Leveduras Isoladas na Região de Pinto Bandeira, Bento Gonçalves (RS) com relação à Produção de H₂S e Velocidade de Fermentação

Títulos abreviados:

Wine yeast Characterization

Caracterização de Leveduras Vínicas

Samarina Rodrigues Włodarczyk¹, Roberta Cristina de Souza², Tania M.B. Bonfim³,
Débora Brand⁴, Gildo Almeida da Silva⁵

ABSTRACT

The H₂S production by yeasts is a frequent problem during the winemaking process. Hydrogen sulfide is a gas that produces the characteristic smell of rotten eggs. Therefore, it is important to select *Saccharomyces cerevisiae* strains that do not liberate H₂S during wine fermentation resulting in off-flavor in wine. The goal of this work was to evaluate the yeasts isolated from the cultivars Cabernet Franc, Tannat and Ancellotta from the Pinto Bandeira Region, Bento Gonçalves (RS) in relation to the evolution of H₂S and their fermentation skill. Lead (II) acetate paper was used to *detect the production of hydrogen sulfide* by 120 yeast strains. The fermentation ability of these strains was measured by gravimetry. All yeast strains with strong *fermentation capacity* did not produce H₂S, representing 13.3%. Only one of these strains produced H₂S in relatively *small quantities* in two of the three test tubes. High H₂S formation was found in 35.8% of strains. These strains were also characterized by low fermentation capacity. Only 16 strains have showed potential to elaborate wines without off-flavour provoked by H₂S.

Keywords: Yeast Selection; H₂S; fermentation.

RESUMO

A produção de sulfeto de hidrogênio por leveduras é um problema frequente durante a elaboração de vinhos. O sulfeto de hidrogênio é um gás que produz o odor característico de ovos podres. Portanto, é importante selecionar linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* que não liberem sulfeto de hidrogênio durante a fermentação, e assim não formar aromas indesejáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar as leveduras isoladas das cultivares Cabernet Franc, Tannat e Ancellotta da região de Pinto Bandeira, Bento Gonçalves (RS) em relação à formação de sulfeto de hidrogênio e capacidade de fermentação. Papel embebido em acetato de chumbo foi utilizado para detectar a produção de sulfeto de hidrogênio em 120 linhagens. A capacidade fermentativa foi medida por gravimetria. Todas as linhagens com alta taxa de fermentação não produziram sulfeto de hidrogênio, representando 13,3%. Apenas uma destas formou sulfeto de hidrogênio em pequena quantidade em dois dos três tubos. Alta produção de sulfeto de hidrogênio foi encontrada em 35,8% das linhagens isoladas. Estas também foram caracterizadas por baixa capacidade fermentativa. Somente 16 linhagens mostraram potencial para elaborar vinhos sem aromas desagradáveis provocados pelo H₂S.

Palavras-chave: Seleção de leveduras; H₂S; fermentação.

Universidade Federal do Paraná (UFPR)

¹ samawlod@gmail.com

² robertacristina89@hotmail.com

³ tbordinbonfim@gmail.com

⁴ dbrand@ufpr.br

⁵ gildo@cnpuv.embrapa.br - Embrapa

INTRODUÇÃO

O sulfeto de hidrogênio (H_2S) é um composto indesejável no vinho por estar relacionado com a formação de odores desagradáveis. A produção deste gás ocorre por via enzimática e está relacionada com redução de sulfato exógeno (UGLIANO; KOLOUCHOVA; HENSCHKE, 2009). A remoção do H_2S do vinho é complexa e problemática, por isso, é fundamental que, na elaboração de vinho sejam empregadas linhagens com capacidade de efetuar uma rápida combinação do H_2S formado com precursores nitrogenados ou com deficiência na atividade da sulfito redutase. O uso de tais leveduras, apresentando elevada capacidade fermentativa, tem se mostrado uma solução eficaz (SILVA; SILVA, 1987). A preferência por linhagens autóctones é outro ponto a ser considerado, visto que além de estarem mais adaptadas ao substrato e ao ambiente de vinificação, garantem a manutenção das características típicas dos vinhos de uma determinada região (LOPES et al., 2007; CALLEJON et al., 2010). Portanto, o presente trabalho teve por objetivo determinar o potencial das leveduras autóctones da região de Pinto Bandeira, Bento Gonçalves (RS) com relação à elaboração de vinhos, ressaltando a deficiência em formar H_2S e uma expressiva velocidade de fermentação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram isoladas 120 leveduras das cultivares de uva Cabernet Franc, Ancellotta e Tannat de vinhedos da região de Pinto Bandeira, Bento Gonçalves (RS) na safra de 2012. As amostras foram submetidas à diluição em série, seguida de plaqueamento em mosto ágar sem azul de metileno. O isolamento foi efetuado no mesmo meio entre 24 e 48 horas após o plaqueamento e crescimento a 24°C por 24 horas (SILVA; SILVA, 1987; SILVA, 1996).

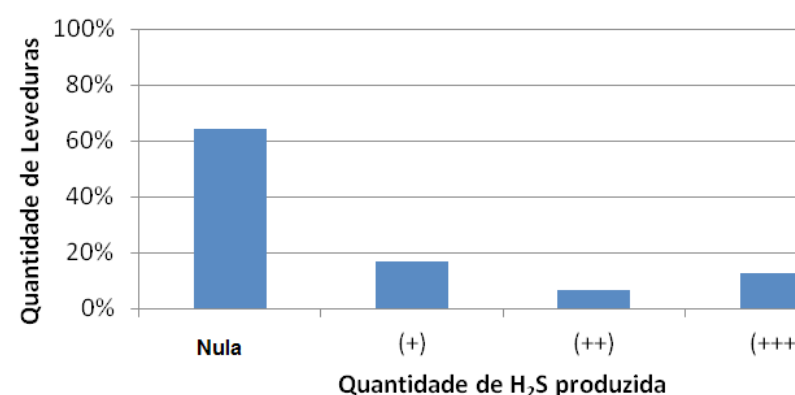
A produção de H_2S foi acompanhada usando papel de filtro impregnado com solução de acetato de chumbo 3,0% (SILVA; SILVA, 1984). Foram utilizadas duas linhagens testemunhas, Embrapa 1vvt/97 como controle negativo, e a comercial K1 (Lallemand) como controle positivo. Os tubos foram mantidos em estufa na temperatura de 24°C e a avaliação da evolução de H_2S foi monitorada por 96 horas com intervalo de 6 e 18 horas. A capacidade fermentativa foi monitorada pelo método gravimétrico (GIUDICI; ZAMBONELLI, 1992; LONGO et al, 1992;

SILVA et al., 2011). A avaliação foi efetuada durante 96 horas com intervalo de 6 e 18 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 120 microrganismos isolados 35,8% apresentaram desprendimento de H_2S , sendo considerados positivos para os testes os que formaram o gás em pelo menos 2 dos 3 tubos testados. Como demonstrado na Figura 1, a maioria das linhagens isoladas não produziram H_2S (64,2%). Das linhagens produtoras de H_2S , as que foram baixas, médias e altas concentrações representam, respectivamente, 16,7%, 6,7% e 12,5%. É conhecido que as linhagens produtoras do H_2S necessitam da presença das enzimas da via de redução do sulfato, e a repressão ou expressão destas enzimas está relacionada com a quantidade de H_2S formado (BUTZK; PARK, 2011). Além disso, a composição do mosto pode influenciar a produção de H_2S pela presença de nitrogênio assimilável. O metabolismo de aminoácidos que contém enxofre, como a metionina e a cisteína, pode resultar em produção acentuada de sulfeto de hidrogênio se não houver presentes no meio precursores nitrogenados destes aminoácidos prontos para reagir enzimaticamente com o H_2S formado pela levedura (CORDENTE et al., 2009).

Figura 1- Produção de H_2S por linhagens isoladas



A frequência de linhagens produtoras de H_2S pareceu variar de acordo com a origem das leveduras com relação ao cultivar. Cabernet Franc, Ancellotta e Tannat apresentaram produção de, respectivamente, 65,0%, 32,5% e 10,0%.

Estudos realizados com a cultivar Cabernet Franc mostraram um percentual mais elevado (79,2%) (SILVA, 1999). Da mesma forma, uma pesquisa com o cultivar Cabernet Sauvignon, coletada na mesma região, mostrou que em 70,0% das linhagens isoladas produziram H₂S (SILVA; DALARMI, 2003). Linhagens isoladas de cultivares da região demarcada do Douro em Portugal, mostraram valores ainda mais elevados para leveduras fortes produtoras de H₂S (90,3%). Apenas 25 das 259 mostraram baixa atividade da sulfito redutase (NETO, MENDES-FERREIRA, 2005). A variação encontrada na frequência pode ser explicada pela composição química dos diferentes cultivares, a qual privilegiou determinados tipos de microrganismos. Pode ainda ser justificada pelo tipo de tratamento fitossanitário recebido por cada cultivar, o que também explicaria a variação nas frequências encontradas em outras regiões.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que 64,0% das linhagens isoladas apresentaram atividade extremamente baixa da enzima sulfito redutase ou promovem a rápida combinação do H₂S formado com precursores nitrogenados.

A boa capacidade fermentativa, indispensável para elaboração de vinho, foi observada apenas em linhagens isoladas a partir da cultivar Ancellotta. Destas, 40,0% apresentaram velocidade de fermentação similar a dos padrões da *Saccharomyces cerevisiae* Embrapa 1vvvt/97 e K1 (Lallemand) e apenas uma produziu, embora em pequenas quantidades, H₂S, não apresentando risco à qualidade do vinho elaborado. Portanto, 13,3% das linhagens isoladas unem os atributos de alta velocidade de fermentação, representada pelas Figuras 2 e 3, e baixa atividade da sulfito redutase. As demais, incluindo as produtoras de H₂S, apresentaram baixa atividade fermentativa.

Figura 2- Velocidade de fermentação de linhagens mais promissoras isoladas a partir da cultivar Ancellotta representando as linhagens de A1 a A18. As linhagens 1vvvt/97 e K1, indicadas pelas setas, foram utilizadas como padrões.

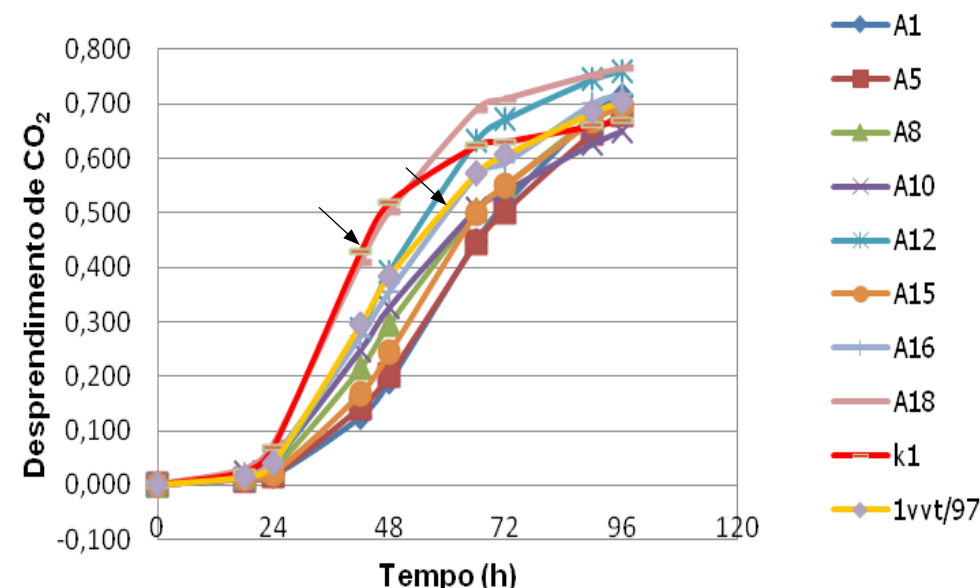
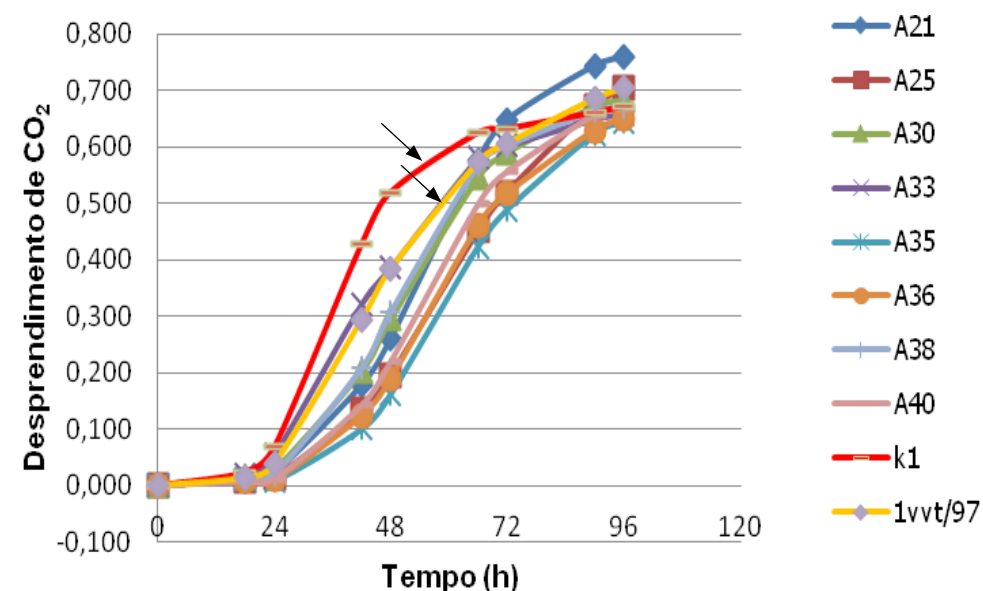


Figura 3- Velocidade de fermentação de linhagens mais promissoras isoladas a partir da cultivar Ancellotta representando as linhagens de A21 a A40. As linhagens 1vvvt/97 e K1, indicadas pelas setas, foram utilizadas como padrões.



CONCLUSÕES

Embora as linhagens que formam H₂S possuam atividade fermentativa baixa, estas têm o potencial de comprometer a qualidade do vinho. Considerando a nula ou baixa produção de H₂S e a alta velocidade de fermentação, 16 linhagens, isoladas apenas da cultivar Ancellotta, possuem potencial para a elaboração de vinhos. Nem sempre as leveduras presentes nas bagas das uvas apresentam aptidão para a elaboração de vinhos.

REFERÊNCIAS

- BUTZKE, C.; PARK, S.K. Impact of fermentation rate changes on potential hydrogen sulfide concentrations in wine. **J. Microbil. Biotechnology**, v.21, p.519-524, 2011.
- CALLEJON, R.M.; CLAVIJO, A.; ORTIGUEIRA, P.; TRANCOSO, A.M.; PANEQUE, P.; MORALES, M.L. Volatile and sensory profile of organic red wines produced by different selected autochthonous and commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains, **Analytica Chimica Acta**, v.660, p. 68-75, 2010.
- CORDENTE, A.G.; HEINRICH, A.; PRETORIUS, I.S.; SWIEGERS, J. Isolation of sulfide reductase variants of a commercial wine yeast with significantly reduced hydrogen sulfide production. **FEMS Yeast Research**, v. 9, p.446-459, 2009.
- GIUDICI, P.; ZAMBONELLI, C. Biometric and genetic study on acetic acid production for breeding of wine yeast. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.43, n.4, p.370-374, 1992.
- LONGO, E.; CANSADO, J.; SIEIRO, C.; CALO, P.; VELÁZQUEZ, J.B.; VILLA, T.G. Influence of the curing killer phenotype in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains on the fermentative behaviour. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.8, n.2, p. 147-150, 1992.
- LOPES, C.A.; RODRÍGUEZ, M.E.; SANGORRÍN, M.; QUEROL, A.; CABALLERO, A.C. Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.34, p. 539-546, 2007.
- NETO, L.; MENDES-FERREIRA, A.A. Pesquisa de atividade sulfito redutase em leveduras de origem enológica. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.25, n.2, p.275-278, 2005.
- SILVA, G.A.; DALARMI, L. Comportamento das leveduras isoladas de uvas Cabernet sauvignon do Vale dos Vinhedos na safra 2003. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2003, Bento Gonçalves. **Anais**. Bento Gonçalves: Embrapa, 2003. p.214.
- SILVA, G.A. da; POLETTO, C.M.; POLI, J.S.; VALENTE, P. Influence of *Brettanomyces custersianus* upon the activity of *Saccharomyces cerevisiae* strains during the tumultuous phase of vinification. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v.54, n.2, p.347-356, 2011.
- SILVA, G.A. da; SILVA, M.A.A. da. Determinação Qualitativa da produção de sulfeto de hidrogênio. **Tecnologias geradas pelo sistema Embrapa**, Bento Gonçalves: UEPAE de Bento Gonçalves, 1984.
- SILVA, M.A.A. da; SILVA, G. A.da; Leveduras nacionais selecionadas para a elaboração de vinho. **Circular Técnica- Embrapa Uva e Vinho**, n.14, 1987.
- SILVA, G.A. da. The occurrence of killer, sensitive, and neutral yeasts in Brazilian Riesling Italic grape must and the effect of neutral strains on killing behaviour. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.46, p.112-121, 1996.
- SILVA, G.A. da. Comportamento de leveduras isoladas no vale dos vinhedos em Bento Gonçalves, RS, com relação à atividade killer. In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 1999, Bento Gonçalves. **Anais**. Bento Gonçalves: Embrapa, 1999. p. 170.
- UGLIANO, M.; KOLOUCHOVA, R.; HENSCHKE, P.A. Occurrence of hydrogen sulfide in wine and in fermentation: influence of yeast strain and supplementation of yeast available nitrogen. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.38, p. 423-429, 2009.

Received 25 October 2012

Accepted 07 March 2013