

Escola Superior Agrária de Viseu

Microbiologia Enológica

**Curso de Especialização Tecnológica em
Viticultura e Enologia**

Doenças dos Vinhos

**António Pinto
2017/2018**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Apesar da célebre frase de L. Pasteur:** “ le vin est la plus saine et la plus hygiénique des boissons”, que em muitos aspectos ainda se mantém actual:
- **Acontece que, o vinho durante a sua preparação e conservação não está livre de acidentes microbianos que podem depreciá-lo ou mesmo em certos casos, torná-lo impróprio para consumo.**

Doenças de origem microbiana em vinhos

As doenças, defeitos ou deteriorações em vinhos podem ser causados por:

- **- Fungos (Leveduras e Bolores)**
- **- Bactérias (lácticas, acéticas e outras)**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Principais etapas ou fases de contaminação no processo de vinificação:
- - 1ª Etapa - Matéria prima: as uvas podem estar mais ou menos contaminadas por bolores, leveduras, bactérias (acéticas, lácticas e outras);
- - 2ª Etapa – Fermentação alcoólica: embora nas fermentações controladas se privilegie o desenvolvimento de leveduras *S. cerevisiae*, a verdade é que se podem desenvolver também outras espécies provenientes das próprias uvas e do ambiente das adegas (contaminação). A própria *S. cerevisiae*, pode após a fermentação contribuir para o aparecimento de defeitos nos vinhos.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- - 3ª Etapa - O Vinho: O vinho após a fermentação não é um produto estável, pelo que pode constituir um substrato, para o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (Leveduras e bactérias) causando graves alterações.
- - 4ª Etapa – Rolhas de cortiça: a contaminação das rolhas principalmente por várias espécies de bolores, podem desencadear defeitos no aroma e sabor dos vinhos engarrafados.
- O crescimento descontrolado de microrganismos indesejáveis através das etapas anteriores, produzem grande variedade de compostos químicos que afectam negativamente, a qualidade e a estabilidade dos vinhos.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por leveduras.
- Refermentação
- Sintomas:
 - Aparecimento da produção de gás (CO_2)
 - Aparecimento de turvação
- Condições que favorecem a doença:
 - Vinhos doces ou secos com açúcares residuais ($> 2 \text{ g/L}$)
- Leveduras responsáveis:
 - *Saccharomyces* spp. que ficam activas no final da fermentação.
 - *Zygosaccharomyces bailli/rouxi*.
 - *Saccharomycodes ludwigii*, ambas contaminantes.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por leveduras.**
- **Refermentação**
- **Medidas de controlo:**
 - **Higienização cuidada dos espaços depósitos e equipamentos**
 - **Especial cuidado nas linhas de engarrafamento**
 - **Aplicar doses convenientes de sulfuroso**
 - **Procurar que a fermentação vá até ao fim (sem açúcares residuais)**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por leveduras.
- Flor
- Sintomas:
 - Aparecimento da chamada “Flor” ou véu esbranquiçado a rosado
 - Este véu é constituído pela massa de leveduras que crescem à superfície.
 - Este véu chega a mergulhar e depositar-se no fundo da vasilha
 - Aparecimento de turvação e de amarelecimento em brancos
 - Diminuição da acidez fixa (degradação de ácidos orgânicos, glicerol e do etanol)
 - Diminuição do teor alcoólico
 - Produção de acetaldeído

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por leveduras.
- Flor
- Condições que favorecem a doença:
 - Vinhos jovens e com baixo teor alcoólico
 - Depósitos mal atestados
 - Garrafas com excessiva camada de ar
- Leveduras responsáveis:
 - Leveduras com metabolismo aeróbio
 - Entre as quais *Candida* spp e *Pichia* spp e *Hansenula* spp.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por leveduras.
- Flor
- Medidas de controlo:
 - Com a doença no início, deve fazer-se uma colagem, seguida de uma filtração.
 - Evitar o contacto do vinho com o ar
 - Depósitos bem atestados
 - Nos depósitos não cheios substituir o ar por um gás inerte
 - Nas garrafas evitar excessivas camadas de ar
 - Usar rolhas de qualidade e doses convenientes de sulfuroso.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por leveduras.
- “Suor de Cavalo” - Produção de fenóis voláteis
- Sintomas:
 - Aparecimento de odores desagradáveis ou muito desagradáveis, nomeadamente:
 - Suor de cavalo, especiarias, estrebarias, animais, couro, remédio, fumo queimado, etc
 - Estes odores são devidos à produção de fenóis voláteis (4-etil-fenol e 4-etil-guaiacol (tintos) e 4-vinil-guaiacol (brancos))

Doenças de origem microbiana em vinhos

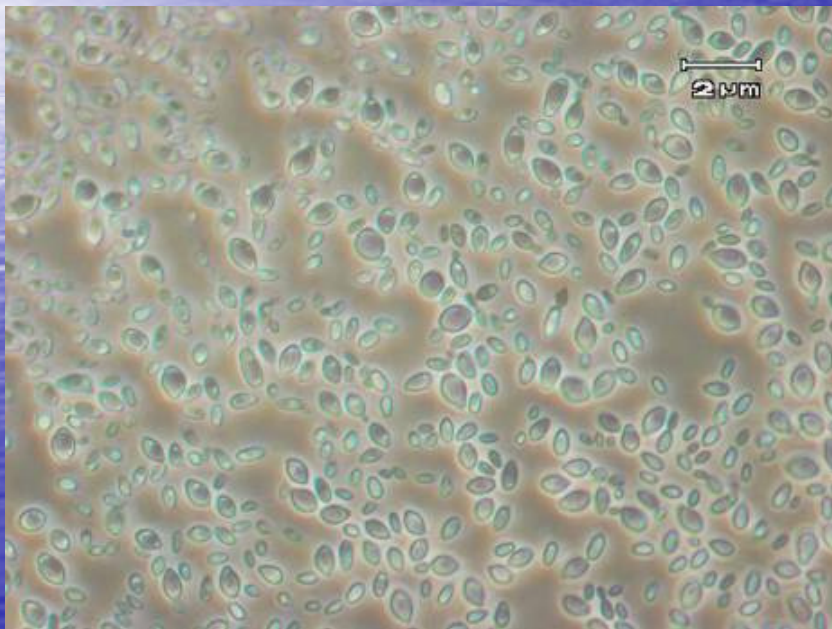
- Doenças ou defeitos causados por leveduras.
- “Suor de Cavalo” - Produção de fenóis voláteis
- Condições que favorecem a doença:
 - Associada a vinhos de grande qualidade
 - Que estagiam em barricas de madeira
 - Má higienização
 - Deficiente protecção pelo sulfuroso
- Leveduras responsáveis:
 - Leveduras dos géneros *Dekkera*/ *Brettanomyces*
- Medidas de controlo:
 - Sulfitação adequada dos vinhos
 - Eficiente higienização

Doenças de origem microbiana em vinhos

Doenças ou defeitos causados por leveduras

Suor de cavalo:

Brettanomyces/Dekkera



<http://petruccilibrary.csufresno.edu/MicrolabYeastandBacteria.htm>

ME - Pinto, A.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por Bactérias.**
- **Bactérias acéticas - Azedia:**
- **Considerações gerais:**
- **As bactérias acéticas ou acetobactérias, possuem metabolismo aeróbio parcial.**
- **Em presença do Oxigénio, utilizam as fontes de energia (acúcares ou álcool) não os degradando completamente, a CO_2 e água.**
- **Por degradarem as fontes de energia parcialmente, isto é a ácido acético, CO_2 e água é a razão porque se designa este processo por “fermentação” acética.**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias acéticas - Azedia :**
- A “fermentação” acética consiste na oxidação parcial, aeróbica, do álcool etílico, com produção de ácido acético, CO_2 e H_2O . Este processo é o utilizado na produção de vinagre comum e do ácido acético industrial.
- As bactérias acéticas constituem um dos grupos de microrganismos de maior interesse económico, porque por um lado são utilizadas na produção industrial do vinagre e do ácido acético, e por outro, pelas alterações que provocam nos vinhos.
- Inicialmente, as bactérias acéticas foram todas incluídas na espécie *Micoderma vini*. (produção de película à superfície dos vinhos).

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias acéticas - Azedia:**
- Pela classificação actual, as bactérias acéticas pertencem à família *Pseudomonodaceae* e aos géneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*.
- No género *Acetobacter*, as principais espécies de interesse enológico são: *A. aceti*, *A. pasteurianus*, *A. Xylinum*
- No género *Gluconobacter*, destaca-se a espécie *G. oxydans*.
- As bactérias acéticas são particularmente instáveis, mostrando acentuado polimorfismo e variação das características bioquímicas. Em alguns casos, podem perder até mesmo a capacidade fundamental de oxidar o etanol a ácido acético.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias acéticas - Azedia :**
- As principais espécies apresentam formas de bastonetes.
- Em relação à temperatura, o melhor crescimento é obtido entre 25°C e 30°C, embora suportem temperatura mínima de 4°C a 5°C e máxima de 43°C.
- Quanto ao álcool, a maior parte das espécies suportam até 14 a 15% de álcool etílico.
- Em relação ao ácido acético, as bactérias acéticas geralmente suportam até 10,0% deste ácido produzido.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias acéticas - Azedia :**
- Estas bactérias acéticas necessitam do oxigénio do ar para realizarem a acetificação.
- Por isso multiplicam-se mais na parte superior do vinho que está sendo transformado em vinagre (azedia), formando um véu conhecido como "mãe do vinagre".
- Este véu pode ser mais ou menos espesso de acordo com a espécie ou espécies de bactéria presentes.
- Segundo a equação da reacção oxidativa, o rendimento da transformação do álcool em ácido acético é o seguinte:
- $\text{CH}_3 - \text{CH}_2\text{OH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CH}_3 - \text{COOH} + \text{H}_2\text{O}$ ou seja 46g de álcool $\rightarrow$ 60g de ácido acético ou 1g de álcool $\rightarrow$ 1,3g de ácido acético.
- Na prática considera-se que por cada 1% de álcool forma-se 1% de ácido acético

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Bactérias acéticas - Azedia:
- As bactérias do género *Acetobacter* apresentam a forma de bastonetes elipsoidais, rectos ou ligeiramente curvos. São móveis.
- Quando jovens são Gram negativas e as células velhas são Gram variáveis.
- As bactérias do género *Acetobacter* são capazes de fermentar vários açúcares, além do álcool etílico formando o ácido acético.
- Algumas espécies podem utilizar o ácido acético produzido, degradando-o a CO₂ e H₂O.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias acéticas - Azedia:**
- As bactérias do género *Gluconobacter* apresentam forma de bastonetes rectos ou elipsoidais, Gram Negativos ou Gram positivos fracos, quando as células estão velhas.
- As células deste género apresentam-se em pares ou em cadeias e são móveis.
- São aeróbios estritos e oxidam a molécula do etanol a ácido acético.
- O nome *Gluconobacter* vem da característica do género de oxidar a glicose em ácido glucónico.
- A espécie representante do género *Gluconobacter* é o *G. oxydans*, encontrado em alimentos, vegetais, frutas, fermento de padaria, cerveja, vinho, cidra e vinagre.

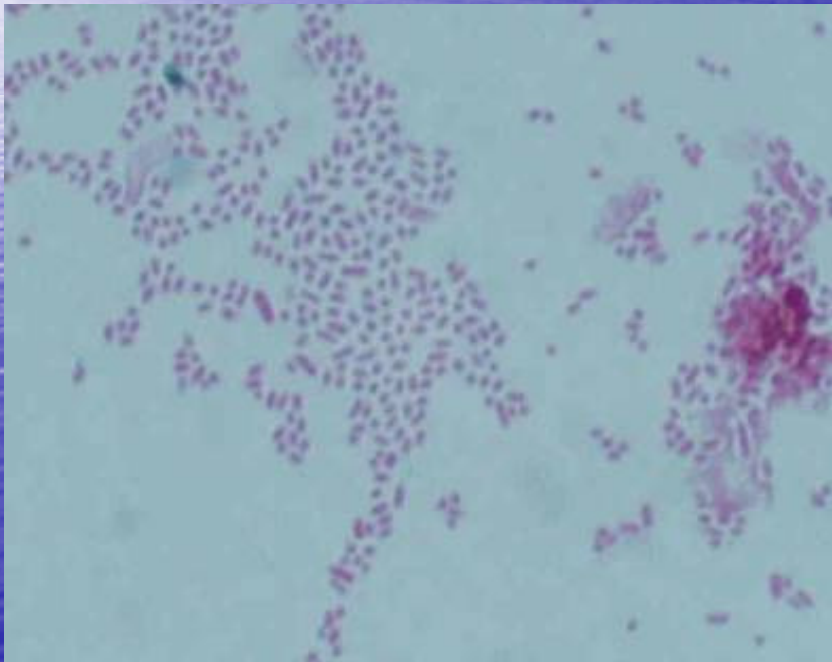
Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias acéticas - Azedia:**
- **Medidas de controlo:**
 - Armazenar os vinhos a baixas temperaturas
 - Vasilhas bem atestadas
 - Adequadas doses de sulfuroso
 - Higienização adequada
 - Se a doença estiver no início e a acidez ainda estiver abaixo dos limites máximos pode-se lotear com mosto fresco e provocar nova fermentação
 - Fazer uma pasteurização
 - Fazer uma desacidificação com produtos neutralizantes como o tartarato neutro de potássio ou carbonato de cálcio (o vinho resultante perde qualidade – “vinhos chatos”)

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Bactérias acéticas: Género *Acetobacter*

M. Óptico



M. Electrónico

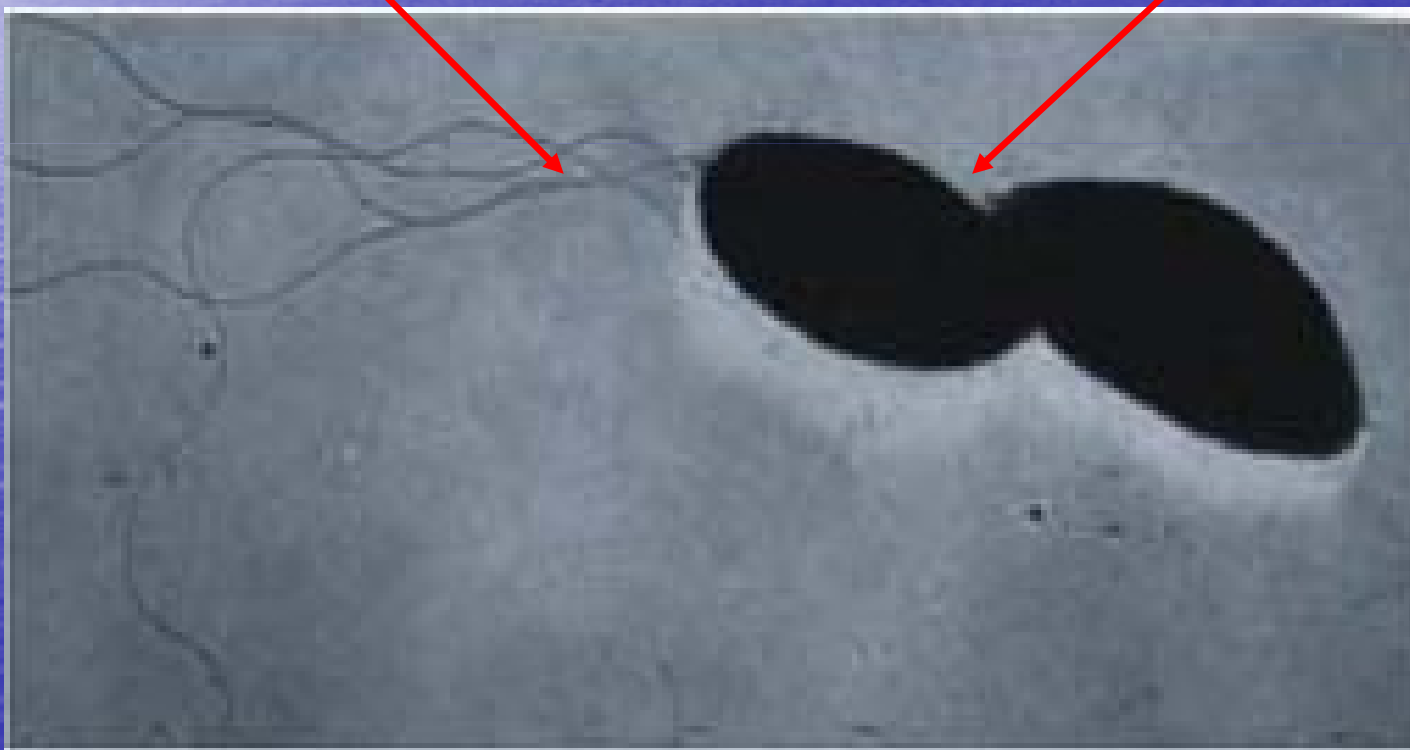


Doenças de origem microbiana em vinhos

- Bactérias acéticas: *Gluconobacter oxidans* (ME)

Tufo de flagelos

Bastonete elipsoidal



ME - Pinto, A.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por Bactérias.
- Bactérias Lácticas:
- Apesar das bactérias lácticas desempenharem um papel útil e relevante na fermentação malo – láctica dos vinhos, podem também causar defeitos e doenças variadas.
- Existem normalmente nas uvas, em pequenas populações (10^3 a 10^4 UFC/ml) e não têm grande aptidão para crescer durante a fermentação alcoólica.
- No entanto podem sobreviver nos vinhos, à espera de uma oportunidade para se desenvolverem, se as condições forem adequadas.
- As principais espécies deste grupo encontram-se distribuídas pelos géneros *Lactobacillus* (homo e heterofermentativas), *Leuconostoc* (heterofermentativas) e *Pediococcus* (homofermentativas)

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por Bactérias.
- Bactérias Lácticas – Pique Láctico:
- Este defeito resulta da produção de ácido acético e ácido D - Láctico e dióxido de carbono, a partir dos açúcares residuais.
- O ácido acético, ácido láctico e o CO₂ são produzidos pelas espécies heterofermentativas, enquanto que o ácido láctico é apenas produzido pelas espécies homofermentativas.
- Quando a elevação da acidez volátil é devida a estas bactérias, existe uma correlação positiva entre os valores de ácido acético e valores de ácido D -láctico.
- O ácido L- láctico quando aparece, é resultante apenas da fermentação malo - láctica.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por Bactérias.**
- **Bactérias Lácticas – Pique Láctico**
- **Sintomas:**
 - **Aumento da acidez volátil e acidez fixa**
 - **Turvação e produção de gás**
- **Medidas de controlo:**
 - **Armazenar os vinhos a baixas temperaturas**
 - **Evitar vinhos com açúcares residuais**
 - **Aplicar doses adequadas de sulfuroso**
 - **Colagem e filtração, caso a acidez não tenha subido muito**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por Bactérias.**
 - **Bactérias Lácticas – Manite ou Agri – Doce**
 - Esta doença apresenta os mesmos sintomas do Pique – Láctico, mas o vinho adquire um sabor agri – doce
 - Este sabor resulta da produção de manitol (sabor doce)
-
- **Gordura - Viscosidade e aspecto oleoso dos vinhos:**
 - Este defeito é o alerta para o possível desenvolvimento das bactérias lácticas.
 - Pode manifestar-se logo no final da fermentação alcoólica. Isto é o resultado de uma fermentação alcoólica mal conduzida, com pH elevados, permitindo que a fermentação malo-láctica ocorra juntamente com a fermentação alcoólica.
 - O aspecto gelatinoso e viscoso dos vinhos resulta da produção de polissacáridos mucilaginosos (dextrinas), produzidos por determinadas estirpes de bactérias lácticas.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por Bactérias.**
- **Bactérias Lácticas – Gordura**
- **Não é alterada a qualidade organoléptica dos vinhos**
- **A cor, o aroma e a acidez volátil não são afectadas**
- **Mais comum nos vinhos brancos do que em tintos**
- **Doença rara, é favorecida por pH elevados, baixos teores alcoólicos e poucos taninos**
- **O único defeito é que o vinho ao cair no copo assemelha-se a um fio de azeite**
- **Medidas de controlo**
 - **- Baixar o pH e a temperatura**
 - **- Aplicar doses de sulfuroso adequadas**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por Bactérias.**
- **Bactérias Lácticas – Gordura**
- **Em caso de doença instalada:**
 - **Aplicar taninos em quantidade suficiente para precipitar as mucilagens (dextrinas)**
 - **Agitar vigorosamente o vinho para quebrar as moléculas da viscosidade (dextrinas)**
 - **Fazer uma colagem (preferencialmente por bentonite)**
 - **Fazer uma filtração se necessário**
 - **O vinho adquire a sua qualidade normal**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Doenças ou defeitos causados por Bactérias.**
- **Bactérias Lácticas – Volta**
- **Sintomas:**
 - **Aumento da acidez fixa e volátil dos vinhos**
 - **Aparecimento de “nuvens” ténues que se movem lentamente no vinho**
 - **Aromas desagradáveis**
 - **Alteração da cor (tintos tornam-se acinzentados) e (brancos com tonalidades verde acastanhadas)**
 - **Produção de gás**

Medidas de controlo:

- **Armazenamento do vinho a temperaturas baixas**
- **Filtração**
- **A doença é hoje é muito rara**

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por Bactérias.
- Bactérias Lácticas – Amargo
- Doença rara e mais associada a vinhos velhos, pouco ácidos, pouco alcoólicos e com muitos taninos
- Sintomas:
 - Aparecimento de um sabor amargo pronunciado
 - Produção de gás e perda de cor
 - O sabor amargo resulta da degradação do glicerol que é transformado em diferentes ácidos (acético, láctico, succínico) e CO₂ e outros produtos secundários como a acroleína
 - A combinação da acroleína com os taninos é que dá origem ao sabor amargo
 - *Pediococcus parvulus*, *Lactobacillus cellobiosus* e *Leuconostoc mesenteroides*, são as espécies de bactérias lácticas associadas a esta doença

Doenças de origem microbiana em vinhos

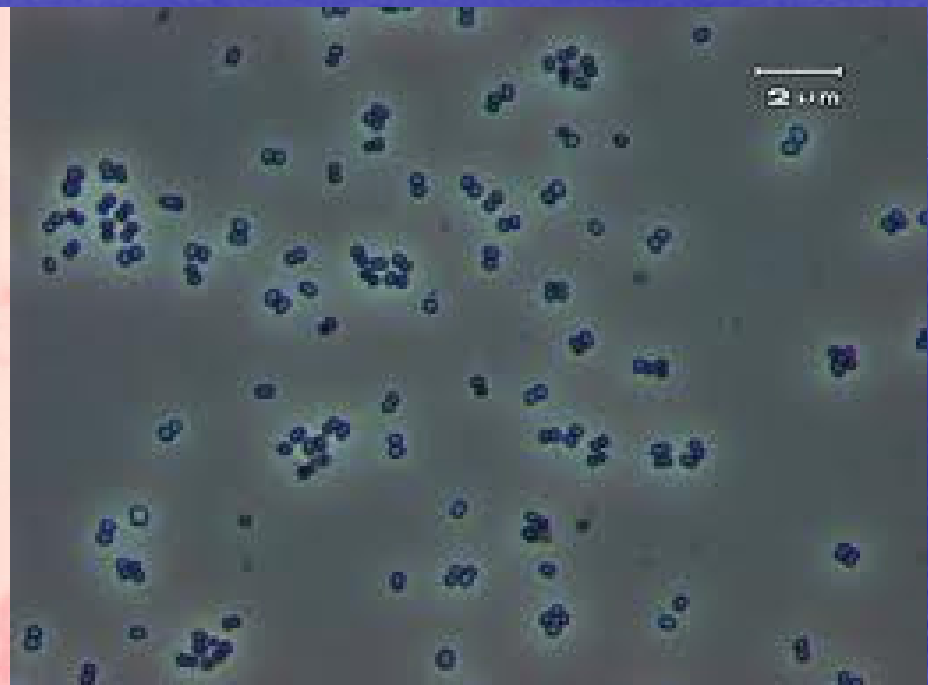
Bactérias Lácticas:

Lactobacillus: bastonetes isolados ou aos pares



<http://msc-microbiology.blogspot.pt/2008/09/lactobacillus-lactobacillus-is-genus-of.html>

Pediococcus: cocos aos pares ou em cadeias



<http://petruccilibrary.csufresno.edu/MicrolabYeastandBacteria.htm>

Doenças de origem microbiana em vinhos

Bactérias Lácticas:

Leuconostoc / Oenococcus: cocos em cadeia



<http://petruccilibrary.csufresno.edu/MicrolabYeastandBacteria.htm>

ME - Pinto, A.

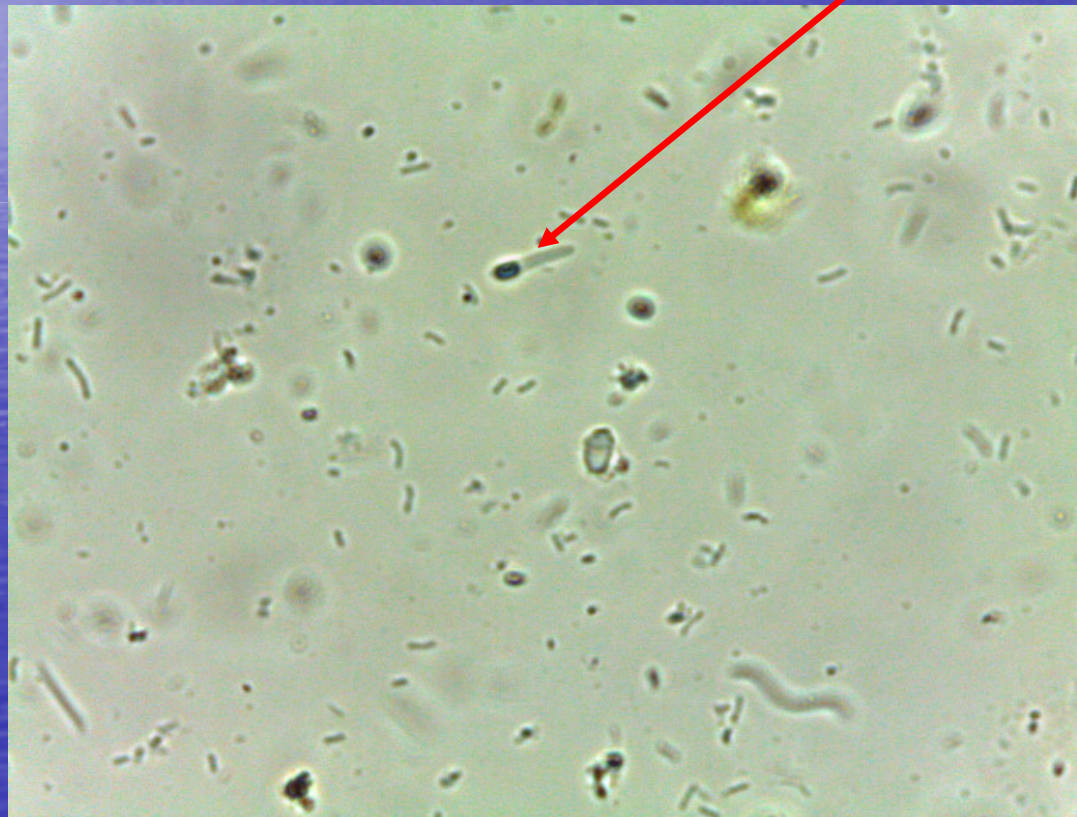
Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por Bactérias.
- Bactérias Esporuladas: Ranço
- Causado pelo desenvolvimento de bactérias anaeróbias obrigatórias do género *Clostridium* (*C. butyricum*).
- Doença não muito frequente, pois esta bactéria só se desenvolve em vinhos com elevados valores de pH (sup. a 4.0).
- Torna-se importante estar alerta nos vinhos onde ocorre a fermentação malo-láctica (esta fermentação faz aumentar o valor do pH).
- Este defeito resulta da produção, por estas bactérias, de ácido butírico (odor a ranço), juntamente com ácido acético, butanol, acetona, hidrogénio e dióxido de carbono.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **Bactérias Esporuladas**

Bastonete, com endósporo na extremidade



Pinto, A. MO.2012.1000x

ME - Pinto, A.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- Doenças ou defeitos causados por Bactérias.
- Bactérias Esporuladas:
- Bactérias do género *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. coagulans*, *B. subtilis*) podem crescer em vinhos, com baixos pH e valores elevados de álcool, estando o seu crescimento correlacionado com aumento da acidez volátil.
- Odores e sabores a rolha:
- Defeito causado por diversos metabolitos produzidos por microrganismos que têm capacidade de crescer nas rolhas de cortiça (vários bolores).
- Microrganismos que passam para o vinho, veiculados pela rolha (actinomicetos, bactérias esporuladas).
- Enzimas veiculadas pela rolha que podem alterar a constituição e a qualidade dos vinhos.

Doenças de origem microbiana em vinhos

- **CONCLUSÕES:**
- **Principais factores que favorecem as doenças:**
 - Elevado teor de açúcares residuais
 - Temperaturas elevadas
 - pH elevados
 - Acondicionamento dos vinhos incorrecto (deficiente higienização, depósitos não atestados, etc)
 - Mau estado sanitário das uvas
- **Principais medidas a adoptar:**
 - Aplicação de doses convenientes de sulfuroso
 - Realização de correcções ácidas
 - Programa de higienização das adegas eficiente
 - Trásfegas em tempo oportuno
 - Garantir uma fermentação alcoólica completa (vinhos secos).
 - Corrigir o pH para valores adequados.