

Quitosano



under investigation

Nº 1

UMA SOLUÇÃO BIOLÓGICA PARA CONTROLAR OS CONTAMINANTES NO VINHO

Gerir o risco associado à deterioração microbiana é determinante durante o tempo de vida do vinho. O produto mais comum usado para limitar os contaminantes microbianos associados à deviação sensorial é o SO_2 , embora o mercado procure vinhos com teores baixos. Uma forma de controlar os micróbios prejudiciais seria prevenir o seu desenvolvimento através da bioproteção (levedura selecionada, co-inoculação com bactérias selecionadas (ver UI Bacteria #1 e #4), assim sendo a nossa investigação levou-nos a garantir alternativas biológicas eficientes contra os contaminantes, especialmente de *Brettanomyces* e de bactérias ácidas e acéticas. Trata-se de derivados de quitina de origem fúngica (**No Brett Inside™**) e de quitosano com quitina-glucano (**Bactiless™**). Ambas as formulações de quitosano são 100% livres de *Aspergillus niger* e cumprem com as especificações estritas da OIV sugeridas pela UE, tendo sido usadas com sucesso pelos produtores durante os últimos 10 anos. Este artigo Under Investigation irá mostrar o seu modelo de ação e a eficiência das formas puras (100% natural, biodegradável, sem-OGM e não alergénica).

O QUE SÃO O QUITOSANO E A QUITANA-GLUCANO?

O *Aspergillus niger* é um fungo a partir do qual a quitina e a quitina-glucano são extraídas. O quitosano deriva da quitina via deacetilação. Os únicos quitosano e quitina-glucano aprovados pela indústria do vinho são obtidos a partir do micélio de *Aspergillus niger*. Se o quitosano for de uma fonte animal (crustáceos) ou de uma fonte fúngica, a sua utilização não será aprovada no vinho.

Em colaboração com o nosso parceiro Kitozyme desde 2003, examinámos e seleccionámos as **melhores matérias-primas para os compostos puros** baseando-nos na diversidade físico-química do quitosano e da quitina-glucano. A diversidade dos diferentes quitosanos fundamenta-se nas suas características físico-químicas tais como o grau de desacetilação, o grau de polimerização, a granulometria, por exemplo.

As propriedades antibacterianas e antifúngicas das nossas fórmulas à base de quitosano (**No Brett Inside™** ou **NBI** and **Bactiless™**) têm sido intensivamente estudadas e a eficácia da sua ação antimicrobiana tem sido comprovada: uma

forte inibição da espécie *Brettanomyces* (especialmente para NBI) e de bactérias de ácido láctico e ácido acético (especialmente para **Bactiless™**). Este último consiste num quitosano puro com quitina-glucano que atua em sinergia. O quitosano desempenha um papel antimicrobiano e a quitina-glucano por sua vez ajuda a maximizar o efeito físico (eliminação via flocculação com as células danificadas e as suas sedimentações).

A título de exemplo, a Figura 1 apresenta uma microscopia ótica de células de *Brettanomyces* tratadas com quitosano (NBI), de Taillandier et al, 2012, onde podemos observar:

- O efeito físico: a agregação que se deve à carga de interação entre o NBI e as células de leveduras
- O efeito biológico: a morte de células de *Brettanomyces*



Figura 1. Microscopia ótica das células de *Brettanomyces* com **No Brett Inside™**

A EFICÁCIA DAS FORMAS PURAS DE QUITOSANO E QUITINA-GLUCANO?

A *Brettanomyces* constitui uma ameaça permanente à qualidade dos vinhos dada a produção de fenóis voláteis (aromas de galinheiro, band-aid, medicinal) que desnatura a pureza sensorial do vinho. Estas leveduras de alteração podem desenvolver-se em ambientes difíceis em qualquer altura, ao longo do tempo de vida do vinho, e em particular durante a fase de envelhecimento. O SO_2 é o método mais comumente usado para controlar a *Brettanomyces*, mas algumas estirpes desses contaminantes são resistentes ao SO_2 .

Há também outros produtos à base de quitosano disponíveis no mercado para controlar os contaminantes que são as misturas de ácidos orgânicos e/ou derivados de levedura. O nosso grupo de I&D decidiu comparar o quitosano puro (**No Brett Inside™**) e o quitosano combinado com quitina-glucano (**Bactiless™**) com um destes produtos de mistura.

No Brett Inside™, contém um quitosano de *Aspergillus niger* 100% puro, foi estudado comparativamente com um produto de mistura recorrendo ao método RT-PMAX-PCR que fornece uma avaliação mais precisa das células vivas de *Brettanomyces* (sem o risco de falso positivo). A Figura 2 mostra quão eficiente é o **NBI**, bastando uma dose mais baixa do que a dos "chamados quitosanos ativados". É mais rápida e eficiente do que uma dosagem mais elevada do produto de mistura, 5 dias após a adição.

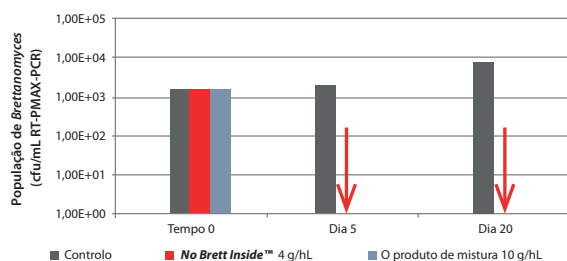


Figura 2. A morte da *Brettanomyces* medida pelo Real-Time PMAX-PCR para um vinho sem agente antimicrobiano, um vinho com 4g/hL de **NBI** e um vinho com 10 g/hL do produto de mistura (Colaboração com Excell Iberica 2017).

Por outro lado, **Bactiless™**, desde o seu desenvolvimento em 2016, demonstrou que consegue diminuir corretamente a população de bactérias indesejáveis do ácido láctico e do ácido acético nos vinhos brancos e rosés, nos vinhos de tipo espumante, no Cognac ou nas bebidas espirituosas ou até, quando é utilizado para atrasar ou evitar a fermentação malolática.

A fim de completar e aumentar a nossa experiência, a nossa equipa de I&D comparou o uso de **Bactiless™** com o produto de mistura em termos de ação antibacteriana. Num ensaio levado a cabo (Figura 3) nos

vinhos brancos em que a fermentação malolática necessitou de ser parada, **Bactiless™** e a mistura de produto conseguiram parar a FML, no entanto, **Bactiless™** demonstrou a mesma performance com uma dosagem mais baixa, dada a sua pureza mais elevada versus outra preparado de mistura (as mesmas tendências positivas destes resultados foram observadas nos vinhos tintos).

Os mesmos resultados são obtidos quando a estabilidade microbiana é necessária após a fermentação malolática como demonstrado na Figura 4. Quer **Bactiless™** quer os produtos de mistura mostraram as suas capacidades em termos de redução da quantidade de bactérias do ácido láctico, no entanto **Bactiless™** precisou de uma concentração menor (20 g/hL) em comparação com o produto de mistura (25 g/hL) dado que a qualidade do quitosano no produto **Bactiless™** é mais eficiente, mesmo com uma dose mais baixa.

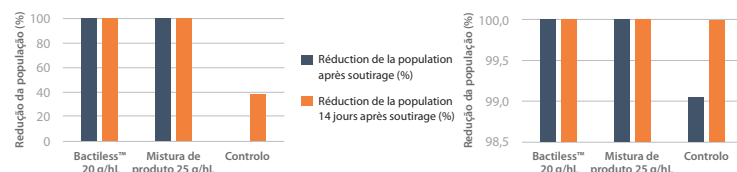


Figura 3. A diminuição da população de bactérias do ácido láctico no vinho branco com **Bactiless™** comparado com o produto de mistura para prevenir o arranque da fermentação malolática.

Figura 4. A diminuição da população de *O.oeni* depois da fermentação malolática com **Bactiless™** e com o produto de mistura.

RESUMO

- O quitosano de **No Brett Inside™** e o quitosano com quitina-glucano de **Bactiless™** irão prevenir o crescimento de contaminantes de uma forma mais eficiente versus as formulas de mistura, por serem mais concentradas, dado que um elevado grau de pureza do quitosano e uma dose mais baixa são necessários para ser realmente eficiente.
- **No Brett Inside™** e **Bactiless™** são formulados unicamente a partir de 100% de *Aspergillus niger* com a forma de quitosano mais pura e certificada e a única forma aprovada pela OIV.
- **No Brett Inside™** e **Bactiless™** podem fazer parte de uma estratégia visando reduzir o uso de SO_2 nos vinhos.
- Depois de mais de 15 anos de numerosos ensaios, podemos afirmar que os preparados puros **No Brett Inside™** e **Bactiless™** não têm um impacto negativo na qualidade sensorial do vinho. Pelo contrário, contribuem para uma melhor preservação ao reduzir o risco de deterioração microbiológica.

