



# Oxidação do Mosto e do Vinho: Mecanismos e Soluções Biológicas

Florian BAHUT, Anne ORTIZ-JULIEN, Ann DUMONT,  
Anthony SILVANO e Nathalie SIECZKOWSKI



A oxidação é um processo natural em que o contato com o oxigênio, desejado ou não, desempenha um papel crucial. Essa reação pode influenciar significativamente o caráter e a qualidade do vinho. Quando administrada com precisão, a oxidação pode realçar a complexidade e a profundidade de um vinho, contribuindo para seu aroma e perfil de sabor únicos. No entanto, se não for cuidadosamente controlada e limitada, a oxidação pode levar a aromas e sabores indesejáveis que prejudicam a expressão pretendida do vinho.

É geralmente aceito que uma entrada lenta de oxigênio durante o envelhecimento ajuda o vinho a se desenvolver e revelar seu potencial aromático, mas, em algum momento, o oxigênio se torna prejudicial e começa a sobrecarregar o vinho com o aparecimento de "notas oxidativas" descritas como maçã machucada, amanteigado, tempero de curry ou avelã.<sup>[1]</sup>

A compreensão dos mecanismos de oxidação auxilia no manejo do fenômeno e na utilização de soluções adequadas para prevenir danos oxidativos. Tradicionalmente, produtos químicos como sulfitos (SO<sub>2</sub>) e ácido ascórbico são usados para prevenir a oxidação na produção de vinho, mas a preferência dos consumidores por menos produtos químicos usados em seus vinhos motiva os pesquisadores a explorar novas estratégias naturais, como ativos não-*Saccharomyces*, leveduras ou derivados de levedura inativados específicos. De fato, essas ferramentas enológicas ajudam a limitar o risco oxidativo.

Este artigo fornece uma atualização do estado da arte sobre a oxidação do vinho e como as soluções biológicas reduzem o risco oxidativo nos estágios iniciais da vinificação, bem como preservam a qualidade do vinho após a fermentação até o engarrafamento (incluindo envelhecimento, armazenamento, transferências, operação de estabilização, transporte...).

## 1. ENTENDENDO A OXIDAÇÃO

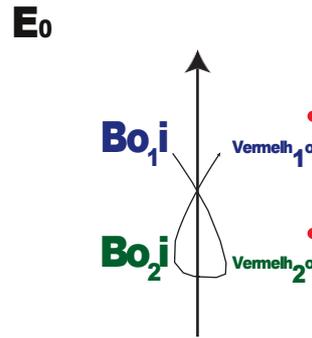
A oxidação ocorre quando o oxigênio está presente no suco da uva em quantidades prejudiciais aos vinhos. Alguns vinhos são mais sensíveis à oxidação, como os brancos aromáticos, como o Riesling, e as variedades tiólicas, como o Albariño, o Verdejo e o Sauvignon Blanc. Os vinhos tintos são menos sensíveis à oxidação devido à maior abundância de compostos fenólicos, que são antioxidantes naturais. A presença de antioxidantes no suco e no vinho, sejam eles naturalmente presentes ou adicionados, é um dos principais determinantes da proteção contra esse fenômeno.

### 1.1 Tipos de antioxidantes

Antioxidantes em enologia são compostos que contribuem para limitar a produção de oxidantes. Alguns processos técnicos ajudam a limitar a oxidação, por exemplo, o uso de gás inerte ou alguns métodos subtrativos que limitam a presença de polifenóis ou metais facilmente oxidáveis no suco/mosto ou no vinho. Antioxidantes químicos como o SO<sub>2</sub> e o ácido ascórbico também são amplamente utilizados. Antioxidantes biológicos (por exemplo, leveduras ativas ou inativadas específicas ou selecionadas) também são usados para aumentar a capacidade antioxidante do suco ou do vinho.

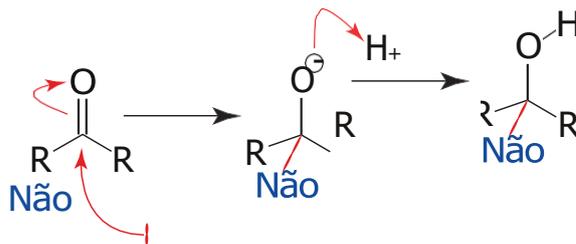
Existem duas famílias distintas de compostos conhecidos como antioxidantes:

**Compostos redutores:** Quimicamente, um redutor é um composto que transfere um ou vários elétrons para um oxidante (que não possui elétrons). Essa reação é chamada de redução do oxidante. A redução de um composto leva à oxidação do outro composto (Figura 1). Uma vez reduzidos, os compostos podem novamente sofrer uma reação de oxidação com outros oxidantes presentes no meio. Dependendo do potencial redox, definido como o equilíbrio dinâmico entre oxidantes e redutores em um determinado vinho, um composto específico pode ser um oxidante ou um redutor. Um dos redutores químicos bem conhecidos usados na vinificação são o ácido ascórbico e os sulfitos.



**Figura 1: Reação acoplada de Ox1/Vermelho1 com boi2/Vermelho2 de acordo com o potencial eletroquímico (também chamado potencial redox,  $E_0$ ) de cada espécie.**

**Compostos nucleofílicos:** Possuem dois elétrons disponíveis para compartilhar com um composto eletrofílico (que não possui elétrons). Essa reação leva à produção de um novo composto com uma fração do composto eletrofílico e outra fração do nucleófilo, unidos por uma ligação covalente (Figura 2). Esses compostos permanecem no suco/vinho e são menos reativos que o eletrófilo inicial, o que contribui para estabilizar a solução. Um dos compostos nucleofílicos químicos mais conhecidos na vinificação é a glutatona (GSH), que pode capturar o ácido caftárico oxidado (o eletrófilo) para formar o produto de reação da uva (GRP).



**Figura 2: Adição nucleofílica em uma etapa de um nucleófilo modelo (Nu) sobre a função carbonila em condições ácidas**

Essas duas famílias de compostos, redutores e nucleófilos, têm a capacidade de limitar o impacto dos oxidantes por mecanismos diferentes e complementares. Dependendo de sua concentração no suco e no vinho, isso influenciará sua sensibilidade à oxidação.

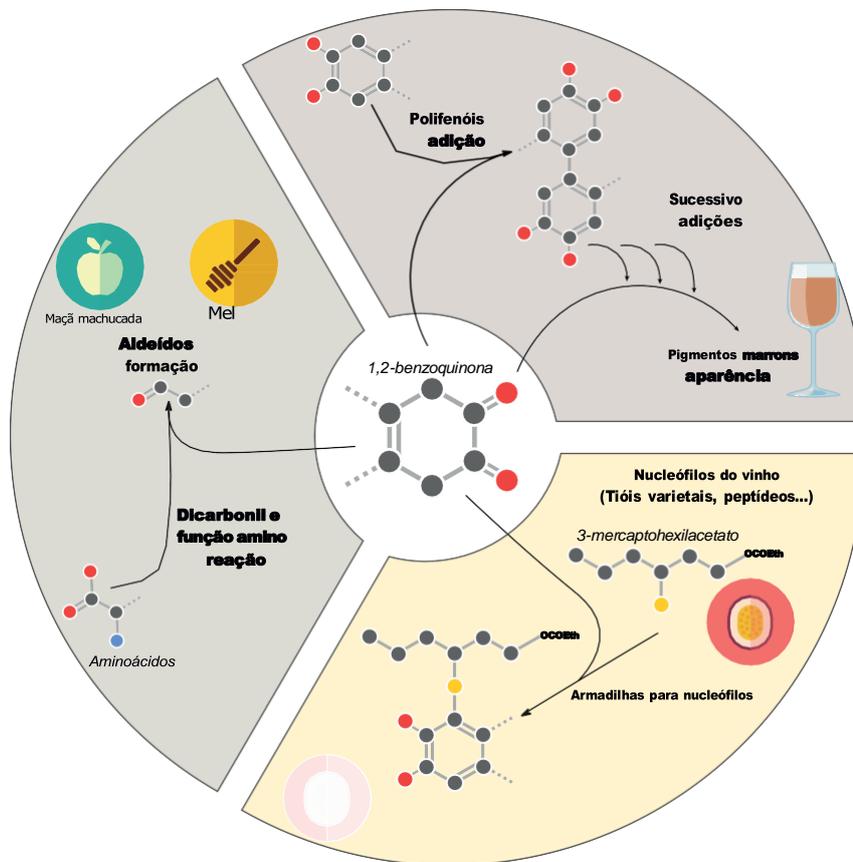
## 1.2 Risco e impacto da oxidação

O risco oxidativo surge quando o suco, ou o vinho, fica desequilibrado, com mais compostos oxidantes em comparação com os antioxidantes. Os compostos mais facilmente oxidáveis são os polifenóis. O acúmulo de polifenóis oxidados (também chamados de quinonas) afeta a qualidade do vinho de três maneiras, todas relacionadas à atividade eletrofílica/oxidante das quinonas em relação a outros componentes do vinho (Figura 3).

**Browning:** Quando as quinonas são formadas, elas podem reagir com outros polifenóis da uva. A reação das quinonas com esses polifenóis pode ocorrer sucessivamente em vários ciclos e formar um grande polímero, resultando em uma coloração marrom no vinho. Esse defeito é especialmente visível em vinhos brancos e rosés, mas também ocorre em vinhos tintos.<sup>[2]</sup>

**Produção de sabor estranho** Os aminoácidos livres do suco podem reagir com quinonas para formar os aldeídos correspondentes. O acúmulo de certos aldeídos contribui para o aparecimento de sabores estranhos, como maçã amassada ou avelã.<sup>[3]</sup>

**Perda de aromas varietais:** Algumas famílias de aromas, como os tiois, são sensíveis à oxidação, uma vez que sua função sulfidril livre (grupo -SH) possui propriedades nucleofílicas (ver seção 1.1). Assim, esses compostos podem reagir rapidamente com quinonas (compostos eletrofílicos) formando um composto sem propriedades aromáticas, levando à diminuição dos aromáticos do vinho.[4]



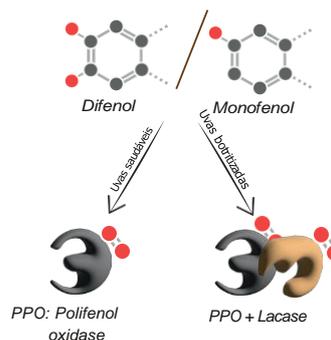
**Figura 3: Reação principal das 1,2-benzoquinonas (= quinona, polifenóis oxidados) nos componentes do vinho, levando ao aparecimento de defeitos oxidativos.**

## 2. OXIDAÇÃO PRÉ-FERMENTAÇÃO

A oxidação do mosto é o resultado da produção de quinonas provenientes da oxidação de polifenóis com oxigênio, catalisada pela atividade enzimática.

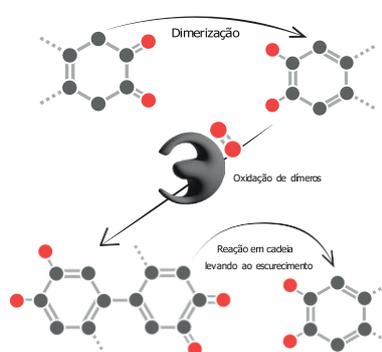
### 2.1 Oxidação por atividade enzimática

As enzimas estão naturalmente presentes em uvas sadias e no suco. O grupo genérico de enzimas responsáveis pela oxidação são as polifenoloxidasas, que convertem a função monofenol ou difenol dos polifenóis em carbonila (função ativa das quinonas). Em uvas contaminadas com *Botrytis*, além da conversão de polifenóis, *Botrytis*, também produz algumas enzimas lacase específicas que podem oxidar polifenóis (Figura 4), aumentando o risco de superprodução de quinonas, na presença de oxigênio.



**Figura 4: Tanto a função monofenol quanto a difenol podem ser oxidadas por enzimas polifenolicas, oxidase ou lacase na presença de oxigênio.**

Uma vez oxidadas, as quinonas podem polimerizar com polifenóis, que podem então passar por outro ciclo de oxidação enzimática. Essa reação cíclica leva à produção de polifenóis altamente polimerizados, que podem produzir pigmentos marrons ou precipitar (Figura 5).<sup>[5]</sup>



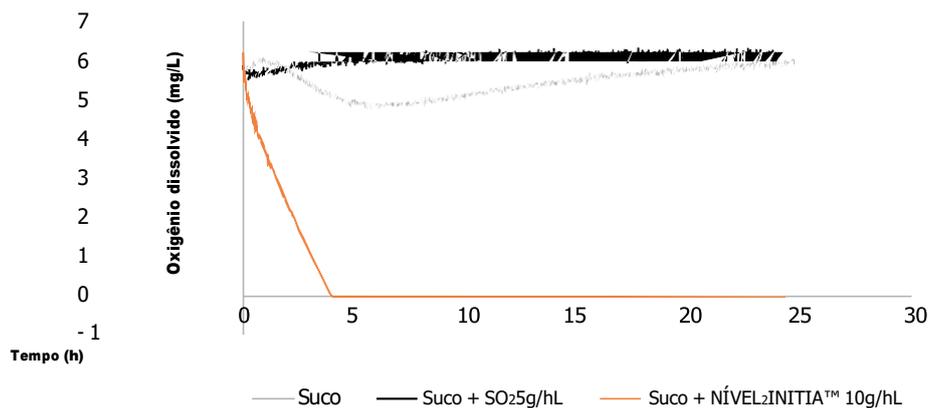
**Figura 5: Quinonas reagindo com polifenóis e se tornando substrato para enzimas em outro ciclo de oxidação. A reação cíclica leva à polimerização de polifenóis.**

## 2.2 Estratégias para proteção contra oxidação enzimática

Diversas estratégias são possíveis para reduzir a oxidação do suco devido à ação enzimática na presença de oxigênio. As mais comuns são reduzir a concentração ou a atividade das enzimas, remover rapidamente o oxigênio ou reter as quinonas precocemente para interromper o ciclo de oxidação e antes que ocorra o aparecimento de pigmentos marrons. Nos concentraremos principalmente nas soluções biotecnológicas aplicadas de forma eficiente para consumir o oxigênio e reter as quinonas no suco.

### 2.2.1 Consumo ativo de oxigênio

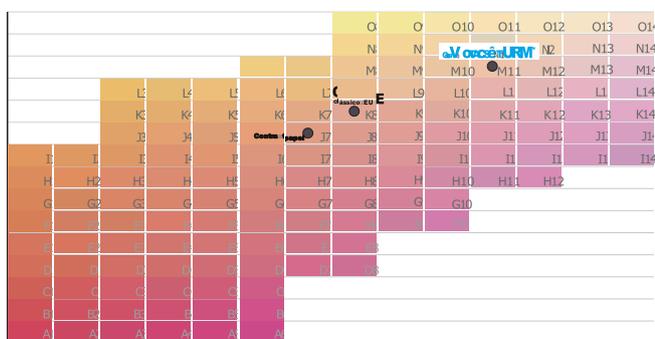
A limitação de oxigênio no mosto pode ser alcançada pela eliminação do ar durante o processo de vinificação com gás inerte. Outra solução é consumir rapidamente o oxigênio dissolvido no mosto após a prensagem. Após a prensagem ou durante a decantação, o uso de microrganismos ativos especificamente selecionados por sua rápida taxa de consumo de oxigênio e propriedades não fermentativas (NÍVEL<sub>2</sub>INITIA™ é muito eficaz, pois foi selecionado por sua alta capacidade de consumir oxigênio, além de sua bioproteção microbiana. Isso resulta na limitação da oxidação de polifenóis, visto que o oxigênio dissolvido é reduzido no suco, levando à redução de danos oxidativos, como o escurecimento (Figura 6).<sup>[6]</sup> *Metschnikowia pulcherrima*. As leveduras não têm a capacidade de absorver eficientemente os lipídios (ácidos graxos poli-insaturados e fitoesteróis) das uvas e, portanto, precisam sintetizar esses compostos lipídicos. A incorporação de lipídios na membrana é essencial para sua sobrevivência. A síntese de ácidos graxos, como o ácido linoleico e o ácido linolênico, requer um consumo substancial de oxigênio, o que explica essa característica única. Além disso, caracterizamos diferentes estirpes de *Metschnikowia pulcherrima* que mostraram que existe uma grande variabilidade em relação às suas capacidades de consumo de oxigênio dissolvido (quantidade e taxa) dentro das diferentes estirpes desta espécie e NÍVEL<sub>2</sub>INITIA™ foi o mais eficaz.



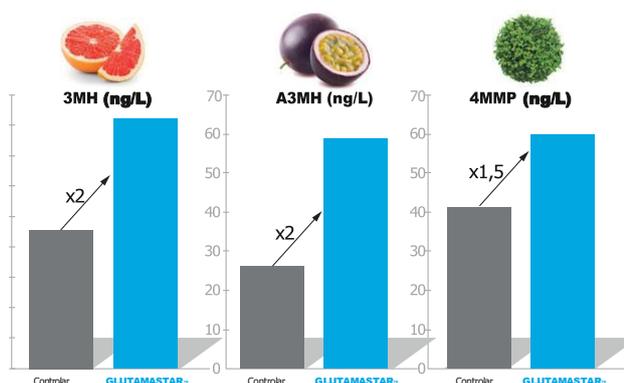
**Figura 6: Evolução do oxigênio dissolvido no suco durante as primeiras 24 horas antes da fermentação com ou sem adição de sulfitos (proteção química) ou NÍVEL2INITIA™ (proteção biológica).**

### 2.2.2 Captura de quinonas

O uso de levedura inativada com nível garantido de glutatona (G-IY) auxilia os vinicultores a enriquecer o mosto em nucleófilos na fase inicial da vinificação e limita o uso de antioxidantes químicos, como os sulfitos. Nosso G-IY específico, GLUTASTAR™, foi desenvolvido especificamente para acumular e liberar no mosto a maior concentração de glutatona. Ao mesmo tempo, a singularidade dessa cepa de levedura inativada reside em sua riqueza em outros compostos nucleofílicos acumulados, que contribuem para a proteção do mosto, bem como da própria glutatona. Os nucleófilos limitam o escurecimento do mosto, limitando a polimerização dos polifenóis ao reagir com as quinonas (Figura 7). Por fim, os nucleófilos presentes no GLUTASTAR™ melhoram e/ou preservam a capacidade antioxidante natural do vinho, o que leva a uma melhor preservação de compostos sensíveis (como os tiois varietais) (Figura 8). [7]



**Figura 7: O GLUTASTAR™ altamente nucleofílico preserva melhor a cor de um vinho rosé claro em comparação com um vinho clássico. (Figura adaptada do Centre du Rosé, França)**



**Figura 8: Concentração de tiois varietais em Sauvignon blanc de Val de Loire (FR) com o uso de Glutastar™ em estágios preferenciais em comparação com um controle. 3MH, 3 mercaptohexanol; A3MH, acetato de 3-mercaptohexanol; 4MMP, 4-mercaptopentan-2-ona.**

### 3. OXIDAÇÃO PÓS-FERMENTAÇÃO

#### 3.1 Oxidação catalisada por ferro e cobre

Após o término da fermentação, a maioria das enzimas fica inativa. Nesse caso, a oxidação é impulsionada principalmente pela presença de oxigênio e metais. O oxigênio não reage diretamente quando em solução no vinho; no entanto, o ferro e o cobre atuam como doadores de elétrons, reduzindo o oxigênio a outras espécies, chamadas espécies reativas de oxigênio (ERO) (Figura 9).

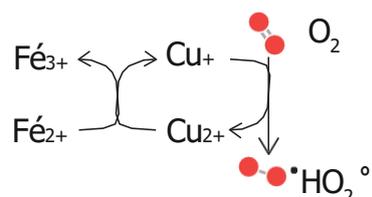


Figura 9: Transferência de elétrons do metal para o oxigênio para formar radical hidroxila (ROS).

As ERO geradas durante a redução do oxigênio podem atuar como doadoras de elétrons para polifenóis, levando à produção de polifenóis oxidados com a transferência de 2 elétrons das ERO e da fração metálica, resultando em uma semiquinona, seguida de uma quinona, e uma redução acoplada do oxigênio a um radical hidroxila. O radical hidroxila, sendo altamente instável, reage rapidamente com o etanol para formar etanal (acetaldeído) e água, que é a última etapa da redução do oxigênio (Figura 10).<sup>[8]</sup>

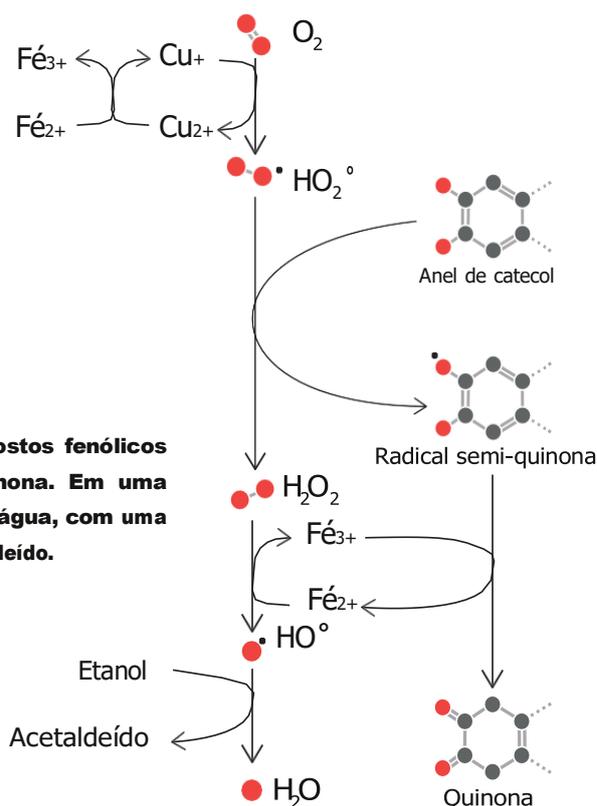


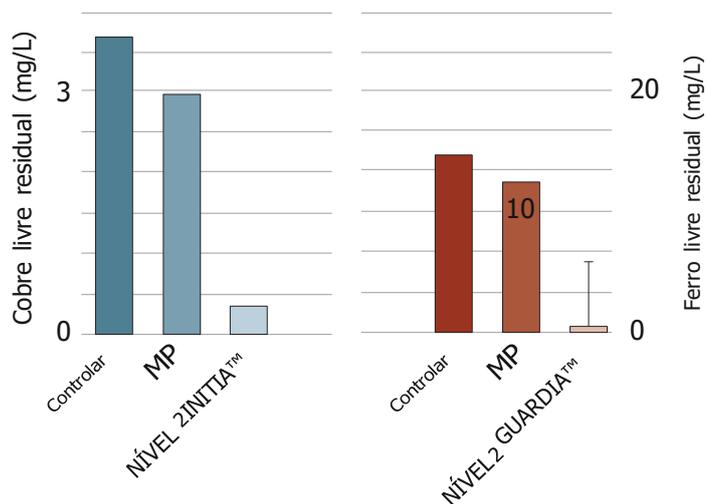
Figura 10: Os elétrons são transferidos para compostos fenólicos para produzir sucessivamente semiquinona e quinona. Em uma reação paralela, o oxigênio é totalmente reduzido a água, com uma última etapa envolvendo a oxidação do etanol a acetaldeído.

#### 3.2 Estratégias para proteger o vinho da oxidação química

No vinho, as estratégias para controlar a oxidação são diferentes das do suco porque envolvem mecanismos diferentes e, como há atividades enzimáticas mínimas associadas às reações, temos que olhar além do controle enzimático.

### 3.2.1 Gerenciamento de metais

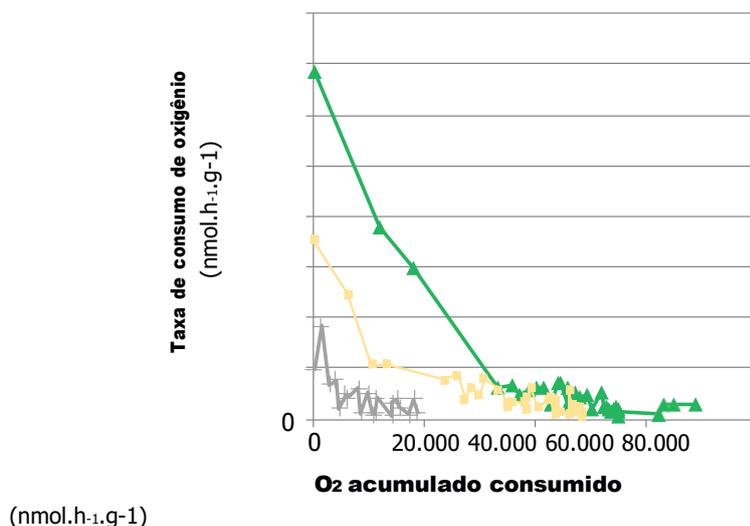
Reduzir a concentração de metais (cobre e ferro) pode ser de suma importância para limitar o escurecimento e a perda de aromas, limitando a primeira etapa da cascata oxidativa. A retenção de cobre e ferro nos estágios iniciais da vinificação por meio de métodos não-fermentativos selecionados *Saccharomyces*, como LEVEL<sup>2</sup>INITIA™ ou NÍVEL<sup>2</sup>GUARDIA™, retarda o aparecimento de ROS e, conseqüentemente, o defeito de oxidação no vinho (Figura 11). Estas 2 estirpes diferentes de *Metschnikowia pulcherrima* foram selecionados por sua capacidade de capturar cobre (NÍVEL<sup>2</sup>INITIA™), ou ferro (NÍVEL<sup>2</sup>GUARDIA™).



**Figura 11: Capacidade de retenção do LEVEL<sup>2</sup> INITIA™ ou LEVEL<sup>2</sup> GUARDIA™ para reter metais comparado a outra cepa de *Metschnikowia pulcherrima* (MP).**

### 3.2.2 Consumo progressivo de oxigênio

O envelhecimento do vinho sobre as borras preserva o vinho de danos oxidativos. Um dos postulados é a capacidade das borras de levedura de consumir oxigênio ativamente (a partir da atividade enzimática residual) ou passivamente, com estruturas celulares específicas. Em colaboração com o INRAE, desenvolvemos uma levedura inativada específica (PURE- LEES LONGEVITY™), altamente eficiente para consumir 1 mg/L de oxigênio dissolvido quando 20 g/hL de PURE-LEES LONGEVITY™ são adicionados (Figura 12).[9]. O consumo de oxigênio diminui a taxa de produção de espécies radicais de oxigênio e, assim, limita o aparecimento de danos oxidativos no vinho durante o envelhecimento.



**Figura 12: Taxa de consumo de oxigênio de diferentes derivados de levedura, uma levedura inativada clássica (quadrados amarelos), uma parede celular (cruz cinza) e PURE-LEES™ LONGEVITY (triângulo verde).**

### 3.2.3 Captura de quinonas

Assim como no suco, as quinonas podem ser capturadas por compostos nucleofílicos presentes no vinho. Esses nucleófilos estão naturalmente presentes no vinho (resultado da fermentação do suco, autólise, ...) ou podem ser adicionados usando levedura inativada específica, seja no suco ou diretamente no vinho. Você pode então enriquecer seu vinho com nucleófilos de levedura para melhorar a capacidade antioxidante do vinho. O mecanismo de ação nesse caso é o mesmo que no suco: os nucleófilos capturam as quinonas e formam um novo produto nucleófilo-quinona que permanece no vinho. Esses novos compostos podem (ou não) reagir com outras quinonas ou podem ser um substrato de oxidação por espécies radicais de oxigênio. Dessa forma, os nucleófilos que você adiciona ao seu vinho protegerão os compostos, como os tiois.

## 4. TENDÊNCIAS FUTURAS

Os consumidores estão cada vez mais conscientes do impacto dos alimentos em sua saúde, o que gera a necessidade de profissionais reduzirem a quantidade de produtos químicos e oferecerem soluções biológicas.

Vários projetos de pesquisa se concentraram em não-*Saccharomyces* com propriedades de biocontrole, incluindo capacidades antioxidantes naturais para proteger o suco contra a oxidação. Nossos projetos também se concentram em frações de levedura de leveduras inativadas específicas *Saccharomyces*, pois demonstraram que podem controlar os fenômenos de oxidação. A singularidade das leveduras não-*Saccharomyces* leva à investigação de novas frações desses microrganismos para aplicações específicas na vinificação<sup>[10]</sup>, recentemente aprovado para uso pela OIV. Pesquisas futuras visam explorar a nova biodiversidade de leveduras, de diferentes ambientes, para entender sua especificidade e como os produtores de vinho podem aproveitar esses microrganismos, na forma ativa ou inativada, que podem ser considerados coadjuvantes de processamento, para potencialmente substituir aditivos que devem ser rotulados.

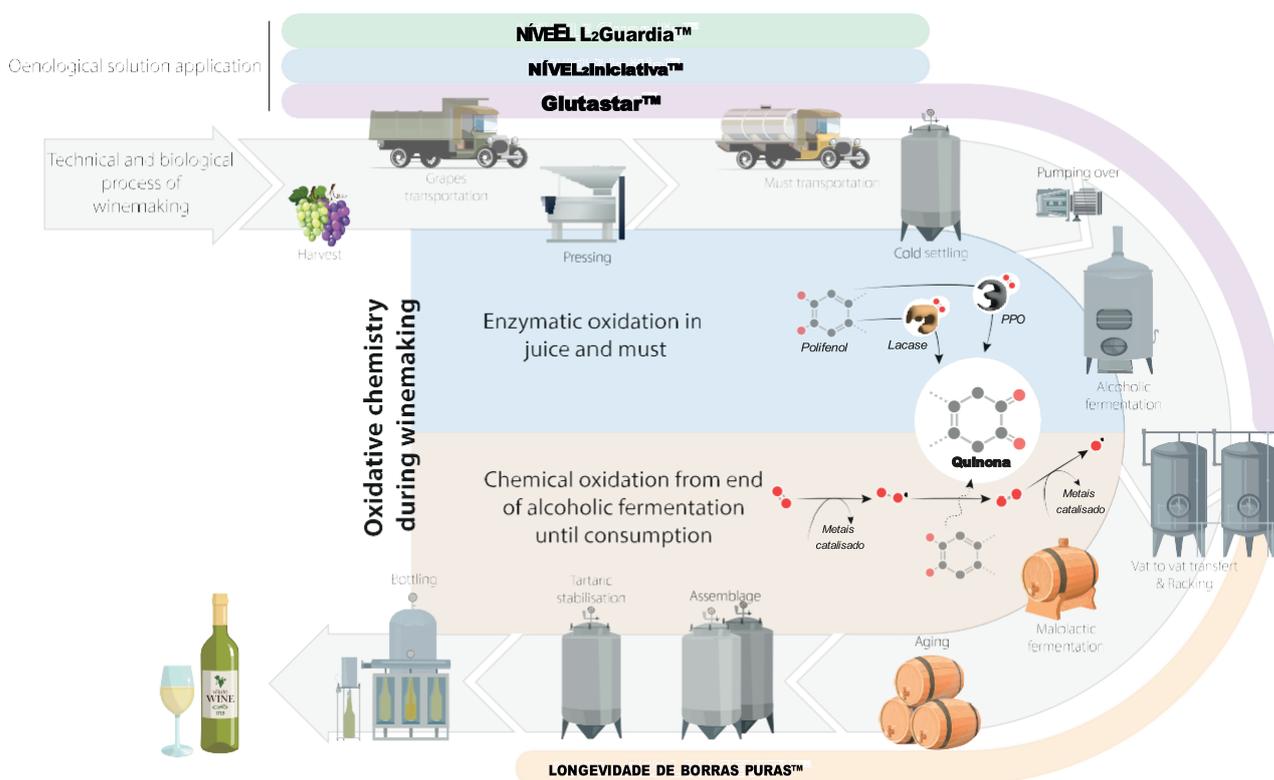
## 5. CONCLUSÃO

A capacidade antioxidante de um vinho é determinada bem antes do produto final estar pronto para o engarrafamento, desde a vinha e durante o processo de vinificação. A falta de gestão da oxidação pode induzir o aparecimento de defeitos no início da vida do vinho e reduzir a qualidade percebida pelos consumidores (perda de cor e qualidade aromática).

Polifenóis oxidados (quinonas) estão no centro de muitas vias que levam a defeitos oxidativos. O manejo dessas quinonas, antes ou depois de sua produção, é a principal alavanca para proteger o vinho da oxidação. A limitação da produção de quinonas pode ser alcançada, primeiramente, pela depleção de metais no meio com NÍVEL<sub>2</sub>INITIA™ ou NÍVEL<sub>2</sub>GUARDIA™, outra possibilidade é consumir oxigênio ativamente (microrganismos selecionados NÍVEL<sub>2</sub>INITIA™) ou passivamente (consumo de oxigênio por levedura inativada específica, como PURE-LEES LONGEVITY™), ou finalmente, capturando as quinonas com nucleófilos adicionados por levedura inativada específica com alto teor nucleofílico (GLUTASTAR™). Todas essas soluções biotecnológicas podem funcionar em sinergia e é possível combinar o consumo precoce de oxigênio (LEVEL<sub>2</sub>INITIA™) com a liberação de nucleófilos (GLUTASTAR™) para controlar a oxidação (Figura 13).

A eficiência das nossas soluções naturais deve-se à combinação da extensa caracterização que fazemos das nossas frações de leveduras inativadas ou dos nossos ativos não-*Saccharomyces* leveduras e a compreensão de seus mecanismos de ação durante a vinificação.

Hoje, com nossa expertise em oxidação de sucos e vinhos, nossa equipe de P&D desenvolve soluções biológicas eficientes para reforçar a capacidade antioxidante natural dos vinhos brancos ou rosés, melhorar a qualidade geral do vinho e aumentar o frescor do produto final. Essas ferramentas representam oportunidades poderosas para os produtores de vinho reduzirem ou substituírem os insumos químicos tradicionais.



**Figura 13: Resumo do processo de vinificação com o principal mecanismo de oxidação (enzimático ou químico), respectivamente, antes e depois da conclusão da fermentação alcoólica.**

- [1] V. Ferreira, M. Bueno, E. Franco-Luesma, L. Culleré, P. Fernández-Zurbano, Principais alterações nos compostos ativos do aroma do vinho durante o armazenamento em garrafa de vinhos tintos espanhóis sob diferentes níveis de oxigênio, *J. Agric. Food Chem.* 62 (2014) 10015–10027. <https://doi.org/10.1021/jf503089u>.
- [2] H. Li, A. Guo, H. Wang, Mecanismos de escurecimento oxidativo do vinho, *Food Chem.* 108 (2008) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.065>.
- [3] AR Monforte, SIFS Martins, AC Silva Ferreira, Impacto de compostos fenólicos na formação de aldeídos de Strecker em sistemas de modelos de vinho: análise de alvos e não alvos, *J. Agric. Food Chem.* 68 (2020) 10281–10286. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02674>.
- [4] M. Nikolantonaki, M. Jourdes, K. Shinoda, P.-L. Teissedre, S. Quideau, P. Darriet, Identificação de adutos entre um tiol volátil odorífero e compostos fenólicos de uva oxidados: estudo cinético da formação de adutos sob condições de oxidação química e enzimática, *J. Agric.* 60 (2012) 2647–2656. <https://doi.org/10.1021/jf204295s>.
- [5] V. Cheynier, H. Fulcrand, S. Guyot, J. Oszmianski, M. Moutounet, Reações de quinonas geradas enzimaticamente em relação ao escurecimento em mostos de uva e vinhos, *Enzym. Browning Its Prev.* (1995) 130–143. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0600.ch010>.

- [6] M. Bustamante, P. Giménez, A. Just-borras, I. Solé-clua, JM Canals, F. Zamora, Inoculação com uma cepa selecionada de *Metschnikowia pulcherrima* como alternativa bioprotetora aos sulfitos para prevenir o escurecimento do mosto de uva branca, 58 (2024) 1–10.
- [7] F. Bahut, R. Romanet, N. Sieczkowski, P. Schmitt-Kopplin, M. Nikolantonaki, RD Gougeon, Atividade antioxidante de levedura inativada: expandindo o conhecimento além da estabilidade oxidativa do vinho relacionada à glutatona, Food Chem. 325 (2020) 126941. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126941>.
- [8] CM Oliveira, ACS Ferreira, V. De Freitas, AMSS Silva, Mecanismos de oxidação que ocorrem em vinhos, Food Res. Internacional 44 (2011) 1115–1126. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.050>.
- [9] JM Salmon, C. Fornairon-Bonnefond, JP Mazauric, M. Moutounet, Consumo de oxigênio pelas borras do vinho: Impacto na integridade das borras durante o envelhecimento do vinho, Food Chem. 71 (2000) 519–528. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00204-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00204-1).
- [10] F. Bahut, N. Sieczkowski, R. Schneider, R. Gougeon, M. Nikolantonaki, Levedura inativada por antioxidantes: Alto potencial de não *Saccharomyces* metaboloma específico, Talanta. 277 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126340>.