UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA EM BENTO GONÇALVES
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA

COMPARAÇÕES ENTRE VINHOS CABERNET SAUVIGNON FERMENTADOS POR LEVEDURAS COMERCIAIS E AUTÓCTONES

JADE MENEZES BRITO

BENTO GONÇALVES
2019

JADE MENEZES BRITO

COMPARAÇÕES ENTRE VINHOS CABERNET SAUVIGNON FERMENTADOS POR LEVEDURAS COMERCIAIS E AUTÓCTONES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Dra. Marlene Guevara dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Luís Maciel

BENTO GONÇALVES

2019

JADE MENEZES BRITO

COMPARAÇÕES ENTRE VINHOS CABERNET SAUVIGNON FERMENTADOS POR LEVEDURAS COMERCIAIS E AUTÓCTONES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Dra. Marlene Guevara dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Luís Maciel

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Denilson e Márcia, pelo amor, infinita dedicação e pela grande quantidade de possibilidades providas a mim.

Ao meu amor, José Morais, pelo carinho, pela parceria e pelas batalhas sempre juntos.

Aos meus padrinhos, Domingos e Mônica, por também serem meus pais e me apoiarem em todos os momentos.

À toda minha família, quanto paterna quanto materna, por acreditarem que eu seria capaz de mudar de cidade, mudar de estado, ser vitoriosa, continuar sendo quem eu sou e por aguentar toda a saudade.

À minha querida orientadora Prof.ª. Dra. Marlene Guevara dos Santos pela maravilhosa orientação, ensinamentos, questionamentos, que só me mostraram que sempre tem algo a ficar ainda melhor e a ser estudado, e por despertar em mim ainda mais vontade e vocação.

Aos meus colegas bolsistas Gabriela Denardi Balzan e Jean Lucas Benvenutti, pela amizade e por estarem sempre à disposição do nosso querido projeto.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Fábio Luís Maciel pelos ensinamentos não só durante à confecção deste projeto, mas por todo o curso.

À Ariane Vitali, pela ajuda em laboratório e diversas conversas que, por muitas vezes, me entretinham e ajudavam no trabaho.

Ao Giovanni Carraro e por toda a equipe da Vinícola Lídio Carraro pela disponibilidade e doação dos mostos.

À Ma. Márcia Pozza, Drª Kélen Cristofoli e à Vinícola Salton pela disponibilidade em realizar algumas das análises no laboratório de Enologia da Vinícola.

Aos meus queridos amigos, em especial Lucas Stail Debiazi e Camila Ogliari Casagrande, por estarem sempre ao meu lado.

À toda equipe da TopWay, meu estimado local de trabalho, e ao meu querido chefe Thiago Porto Oleiro pela compreensão e ajuda nesse momento final.

À Odineli Côrrea, da Embrapa Uva e Vinho, pela ajuda e disponibilidade em relação ao projeto.

Aos amigos, funcionários e professores, em especial Profª. Drª. Francine Fioravanso Tramontina e Profª. Drª. Ana Carolina Tramontina, da Uergs - unidade

universitária em Bento Gonçalves – pela amizade, ensinamentos, conhecimento e convívio.

À toda equipe da UERGS, que acreditam que esta universidade é feita por todos nós.

“Onde quer que você esteja, esteja por inteiro.”

Eckhart Tolle

RESUMO

Atualmente, o mercado de vinhos está bem estabelecido e a competitividade neste mercado se baseia não só em valores monetários, mas em diferenciação e inovação, compelindo os produtores a desenvolver mecanismos para diversificar e agregar valor aos seus produtos, modulando o sabor e o estilo dos vinhos. Tendo em vista o potencial das leveduras autóctones, conhecidas por induzir um efeito significativo e geralmente favorável no sabor do vinho, o presente trabalho procura comparar vinhos da variedade Cabernet Sauvignon fermentados por leveduras autóctones e fermentados por leveduras comerciais. As variáveis analisadas foram as diferenças no processamento e na fermentação, utilizando-se métodos de densidade do mosto, concentração celular, brix e cromatografia em papel; parâmetros físico-químicos, tais como, acidez titulável, acidez volátil, pH, índice de polifenóis totais, análises cromáticas e turbidez; e presença do composto α-terpineol, utilizando-se o método de cromatografia em camada delgada para constatação. Para investigação mais completa, outras análises e metodologias serão desenvolvidas como análise sensorial, cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Os resultados obtidos até o momento mostraram que a fermentação alcóolica nos vinhos fermentados por leveduras comerciais foi mais rápida do que em vinhos fermentados por leveduras autóctones e a fermentação malolática iniciou-se mais rapidamente nos vinhos fermentados por leveduras autóctones do que em vinhos fermentados por leveduras comerciais. Os resultados que serão obtidos em análises futuras de análise sensorial, CG-MS e HPLC abrirão caminhos para investigações mais aprofundadas.

Palavras-chave: fermentação espontânea de vinhos; leveduras autóctones; leveduras comerciais.

ABSTRACT

The wine market has been growing in the recent years and the competition within this market as well as its consumers demand for innovation, causes winemakers to develop tools to diversify and add value to their products, modeling wine flavor and style. To consider indigenous yeast potential, known for inducing a generally favorable meaningful effect on the flavor of wines, this study aims to compare Cabernet Sauvignon wine fermented by indigenous yeast and commercial yeast. The compared elements were the differences between wine processing and fermentation, using methods of must density, yeast concentration, brix, and paper chromatography; physicochemical parameters, such as total acidity, volatile acidity, pH, total polyphenol content, color analysis and turbidity; and the presence of α-terpineol, in which thin layer chromatography was used. For further investigation, other analyzes will be performed, such as sensory analysis, gas chromatography coupled to mass spectrometry and high-performance liquid chromatography. The results so far showed a faster alcoholic fermentation of the wine fermented by commercial yeast and a faster beginning of the malolactic fermentation of the wine fermented by indigenous yeast. The results which will be obtained in future analyzes of sensory analysis, CG-MS and HPLC will pave the way for further investigation.

Keywords: spontaneous fermentation of wines; autochthonous yeasts; commercial yeasts.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração de Uvas de Mesa e Uvas Viníferas 21
Figura 2 - Quadro de Sistemas de Condução 22
Figura 3 - Etapas de Produção do Vinho 31
Figura 4 - Componentes do Vinho.....34
Figura 5 - Vias Metabólicas de Formação de Terpenos e Norisoprenóides.....43
Figura 6 - Diferenças nos Compostos Voláteis Antes e Depois da Fermentação 45
Figura 7 - Metabólitos Provenientes do Metabolismo das Leveduras durante a Fermentação 46
Figura 8 - Produção de metabólitos voláteis da FML 51
Figura 9 - Indicações Geográficas (IG) de Vinhos do Brasil e Associações de Produtores.....59
Figura 10 - Quadro dos Parâmetros da Legislação de Álcool Etílico, Acidez Total e Acidez Volátil.....60
Figura 11 - Ilustração dos Resultados da Cromatografia em Papel 61
Figura 12 - Fotografia do Parreiral da Vinícola Lídio Carraro.....63
Figura 13 - Fotografia do Procedimento Experimental no Estágio Inicial 64
Figura 14 - Fotografia do Resultado da Análise de Gravimetria Antes da Fermentação 65
Figura 15 - Fotografia das Fitas de pH após Análise 66
Figura 16 - Fotografias referentes à análise de cromatografia em papel 76
Figura 17 - Fotografia da placa de CCD após corrida 80

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Brix por Tempo de Fermentação Alcóolica 71
Gráfico 2 - Fases de Crescimento de uma Cultura Microbiano Típica 71
Gráfico 3 - Estimativa de Conversão de Açúcar em Álcool - Autóctone 73
Gráfico 4 - Estimativa de Conversão de Açúcar em Álcool - Comercial 74
Gráfico 5 - Acidez Titulável por Tempo de Fermentação Malolática 75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de leveduras conforme tipo de respiração e fermentação..25
Tabela 2 - Leveduras relacionadas a vinhos 26
Tabela 3 - Ésteres, álcoois superiores e outros compostos aromáticos e flavores comumente encontrado em vinhos 46
Tabela 4 - Comparação de Compostos Voláteis em Leveduras Selvagens e Inoculadas 54
Tabela 5 - Concentração celular antes e depois da fermentação 69
Tabela 6 - Acidez Total das Amostras de Vinhos Fermentados em Laboratório e na Vinícola 75
Tabela 7 - Acidez volátil das amostras de vinhos fermentados em laboratório e na vinícola 76
Tabela 8 - Turbidez das amostras de vinhos fermentados em laboratório e na vinícola 77
Tabela 9 - Índice de Polifenóis Totais 78
Tabela 10 - Análises Cromáticas das Amostras de Vinhos Fermentados em Laboratório e na Vinícola.....78
Tabela 11 - Intensidade, Tonalidade e Porcentagens de Pigmentos das Amostras de Vinhos Fermentados em Laboratório e na Vinícola.....79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ºBx	Brix
3MH	3-mercapto-hexanol
3MHA	acetato de 3-mercapto-hexila
4MMP	4-mercapto-4-metil-2-pentano
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CO_2	Dióxido de Carbono
DOVV	Denominação de Origem do Vale dos Vinhedos
FML	Fermentação Malolática
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
GPP	Geranil-pirofosfato
H_2S	Sulfeto de Hidrogênio
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
IN	Instrução Normativa
IPT	Índice de Polifenóis Totais
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OAV	Valor Olfativo Ativo
OIV	International Organisation of Vine and Wine
SO_2	Dióxido de Enxofre
VA	Acidez Volátil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 OBJETIVOS 17
2.1 OBJETIVO GERAL 17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17
3 REFERENCIAL TEÓRICO 18
3.1 DEFINIÇÃO DE VINHO 18
3.2 LEGISLAÇÃO 18
3.2.1 Classificação 18
3.2.1.1 Classe 18
3.2.1.2 Cor 19
3.2.1.3 Teor de Açúcar 20
3.2.1.4 Estilos de Vinho 20
3.3 VIDEIRA 20
3.4 UVA 21
3.4.1 Variedade 23
3.4.1.1 Cabernet Sauvignon 24
3.5 LEVEDURA 24
3.5.1 Leveduras comerciais 27
3.5.2 Leveduras autóctones ou indígenas 28
3.6 ETAPAS DE PRODUÇÃO 31
3.6.1 Fermentação Alcóolica 31
3.6.2 Fermentação Malolática 33
3.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA 33
3.7.1 Água 35
3.7.2 Álcoois 35
3.7.2.1 Álcool Etílico 35
3.7.2.2 Glicerol 35
3.7.2.3 Álcool Metílico 35
3.7.3.4 Álcoois Superiores 36
3.7.3 Ácidos Orgânicos 36
3.7.4 Componentes Fenólicos 36
3.7.5 Compostos Nitrogenados 37
3.7.6 Açúcares 38

3.7.7 Minerais **38**
3.7.8 Aldeídos **38**
3.7.9 Ésteres **39**
3.7.10 Compostos de Enxofre **39**
3.8 ELEMENTOS SENSORIAIS 39
3.8.1 Paladar **40**
3.8.2 *Flavor* **40**
3.8.3 Aromas **41**
3.8.3.1 Valor Olfativo Ativo (OAV) e limiares de percepção *41*
3.8.4 *Flavores* Provenientes da Uva **42**
3.8.5 *Flavores* Provenientes da Fermentação **45**
3.8.6 *Flavores* Provenientes do Envelhecimento **51**
3.9 INFLUÊNCIA DAS LEVEDURAS 52
3.10 TERROIR 55
3.10.1 Conceito **55**
3.10.2 Indicações Geográficas **56**
3.11 IMPACTO ECONÔMICO 57
3.12 ANÁLISES REALIZADAS EM VINHOS 59
3.12.1 Análises Físico-Químicas **59**
3.12.2 Análises Cromatográficas **61**
4 METODOLOGIA **62**
4.2 UVA 62
4.3 LEVEDURA COMERCIAL 63
4.5 DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO CELULAR 65
4.6 DETERMINAÇÃO DE DENSIDADE 66
4.7 DETERMINAÇÃO DE pH 66
4.8 DETERMINAÇÃO DE GRAU BRIX 66
4.9 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL 66
4.10 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ VOLÁTIL 67
4.11 DETERMINAÇÃO DE TURBIDEZ 67
4.12 DETERMINAÇÃO DE ÍNDICE DE POLIFENÓIS TOTAIS 67
4.13 DETERMINAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS 67
4.14 CROMATOGRAFIA EM PAPEL 68
4.15 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA 68
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO **69**

6 VIABILIDADE ECONÔMICA 81
7 CONCLUSÕES 82
8 PERSPECTIVAS FUTURAS 83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 84

1 INTRODUÇÃO

O aroma e *flavor* do vinho são as principais características que definem as diferenças entre a vasta gama de vinhos e seus estilos produzidos em todo o mundo. Eles são afetados pelas inúmeras variações possíveis na produção do vinho, tanto na viticultura, quanto na vinificação. Enquanto alguns vinhos têm um odor pouco detectável, outros têm fragrâncias que saltam da taça. A escolha das cepas na cultura inicial microbiana para conduzir a fermentação é uma das ferramentas que os produtores de vinhos podem utilizar para chegar a vinhos com perfis de sabor precisos e especificações de mercado. Além da fermentação alcoólica, que se baseia na conversão de açúcares em etanol e dióxido de carbono (CO_2); as leveduras também produzem metabólitos secundários ao processar as demais substâncias do mosto, sensorialmente importantes, que dão ao vinho seu caráter. Além disso, na fermentação malolática (FML) outros compostos são formados com o auxílio das bactérias láticas, responsáveis por reduzir a quantidade de ácido málico presente no vinho e convertê-lo a ácido lático (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Leveduras distintas produzem metabólitos diferentes. No entanto, somente os produzem devido aos precursores presentes na uva, resultando em outras moléculas, que podem conferir um caráter positivo ou negativo ao vinho. Vinhos feitos a partir de variedades específicas exibem caráter varietal, isto é, notas e características distintivas que evocam essa variedade. Portanto, as leveduras, por serem distintas, produzem diferentes compostos a partir da uva, utilizando vias metabólicas, para destacar um ou outro composto, trazendo diversidade e uma experiência única a cada vinho (SWIEGERS *et al*., 2005).

Com o intuito de aperfeiçoar, padronizar e reduzir os riscos no processo, a levedura *Saccharomyces cerevisae*, a principal levedura para elaboração de vinhos, passou a ser isolada, selecionada e reproduzida em grande escala, comercializada como um insumo vinícola, garantindo um processo previsível e reprodutível. Por conta das suas vantagens de resistência a altos níveis de teor alcóolico, rapidez e robustez, a *Saccharomyces cerevisae* é a levedura mais utilizada em vinhos do mundo. No entanto, o efeito secundário da prática de inoculação dessas leveduras, como consequência da disponibilidade de um número relativamente limitado de leveduras comerciais quando comparado à quantidade de vinho produzida, é a redução do efeito da microbiota nativa e a produção de vinhos com propriedades analíticas e sensoriais

semelhantes, reduzindo a gama de substâncias que compõem o vinho e a correlação entre as características do vinho e o seu território.

Como o mercado de vinhos se torna mais competitivo, os produtores estão desenvolvendo e avaliando variadas ferramentas e práticas para diferenciar seu produto e, a utilização de leveduras autóctones ou nativas, confere características regionais ou de *terroir*, conceito originário da França que engloba clima, solo, relevo, microbiota e até manejo humano.

O conceito de *terroir* é considerado importante em centros produtores de vinhos por todo o mundo. Títulos de indicação geográfica, como o de Indicação de Procedência e o de Denominação de Origem, asseguram a exclusividade, qualidade e a história por trás dos vinhos produzidos no local indicado ou denominado, agregando um valor muitas vezes imensurável pelos produtores.

2 OBJETIVOS

Os objetivos do trabalho foram divididos em geral e específicos, de forma a melhor organizar e conduzir o trabalho.

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do presente trabalho foi comparar resultados analíticos do processo de fermentação e das análises laboratoriais padrões apresentados pelos vinhos fermentados por leveduras comerciais e leveduras autóctones.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as diferenças nos parâmetros fermentativos entre os processos e compará-las.
- Determinar as diferenças nos resultados analíticos dos compostos fenólicos e compará-las.
- Determinar as diferenças nos resultados analíticos dos compostos voláteis e compará-las.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DEFINIÇÃO DE VINHO

O vinho é, de acordo com a lei nº 7.678 de 8 de novembro de 1988, “a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples de uva sã, fresca e madura”. Sendo, segundo a Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988, “exclusivamente a bebida resultante da fermentação alcoólica completa ou parcial da uva fresca, esmagada ou não, ou do mosto simples ou virgem, com um conteúdo de álcool adquirido mínimo de 7% (v/v a 20°C)”. A fermentação da uva é realizada por leveduras e o desenvolvimento do vinho é caracterizado por múltiplas etapas (BRASIL, 1988).

3.2 LEGISLAÇÃO

3.2.1 Classificação

Os vinhos podem ser classificados por classe, cor e teor de açúcar, estabelecidos em lei pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entretanto, existem outras classificações informais referentes a seus estilos.

3.2.1.1 Classe

Quanto à classe, os vinhos podem ser divididos em:

- Vinho de Mesa: é o vinho com teor alcóolico de 8,6% a 14% em volume, podendo ter até uma atmosfera de pressão a 20°C;
- Vinho Frisante: é o vinho de teor alcóolico de 7% a 14% em volume, e uma pressão mínima de 1,1 a 2,0 atmosferas de pressão a 20°C;
- Vinho Fino ou Vinho de Qualidade Preferencial: é o vinho de teor alcóolico de 8,6% a 14% em volume, elaborado mediante processos tecnológicos adequados que assegurem a otimização de suas características sensoriais e exclusivamente de variedades *Vitis vinifera* do grupo nobres;
- Vinho Espumante: é o vinho cujo anidrido carbônico provém exclusivamente de uma segunda fermentação alcóolica do vinho em

garrafas ou em grandes recipientes, com uma pressão mínima de 4 atmosferas de pressão a 20°C e com teor alcóolico de 10% a 13% em volume;

- Vinho Leve: é o vinho com teor alcóolico de 7% a 8,5% em volume, obtido exclusivamente da fermentação dos açúcares naturais da uva, produzindo durante a safra nas zonas de produção, vetada sua elaboração a partir de vinho de mesa;
- Vinho Gaseificado: é o vinho resultante da introdução de anidrido carbônico puro, por qualquer processo, devendo apresentar um teor alcóolico de 7% a 14% em volume, e uma pressão mínima de 2,1 a 3,9 atmosferas de pressão a 20°C;
- Vinho Licoroso: é o vinho com teor alcoólico ou adquirido de 14% a 18% em volume, sendo permitido, na sua elaboração, o uso de álcool etílico potável de origem agrícola, mosto concentrado, caramelo, açúcar e caramelo de uva;
- Vinho Composto: é a bebida com teor alcoólico de 14% a 20% em volume, elaborado pela adição ao vinho de mesa de macerados ou concentrados de plantas amargas ou aromáticas, substâncias de origem animal ou mineral, álcool etílico potável de origem agrícola, açúcar e caramelo (BRASIL, 1988).

3.2.1.2 Cor

Quanto à cor, os vinhos podem ser classificados em: tinto, elaborado a partir de uvas tintas, do qual o mosto permanece em contato com a casca por dias ou semanas, aferindo a cor tinta ao vinho; rosado, *rosé* ou clarete, também elaborado a partir de uvas tintas, porém, o mosto permanece em contato com a casca por menos tempo, apenas algumas horas; e branco que pode ser elaborado a partir de uvas brancas ou uvas tintas de polpa branca, do qual não há contato com a casca (BRASIL, 1988; LILLA, 2016).

3.2.1.3 Teor de Açúcar

Quanto ao teor de açúcar, os vinhos podem ser classificados em: seco, *sec* ou *dry*; meio doce, meio seco ou *demi-sec*; e suave ou doce. A quantidade de açúcar em g/l deve ser no máximo de 4g; de 4g a 25g e de 25g a 80g, respectivamente.
Os espumantes, podem ser classificados em: *nature*; extra brut; brut; seco *sec* ou *dry*; meio doce, meio seco ou *demi-sec*; e suave ou doce. A quantidade de açúcar em g/l deve ser no máximo de 3g; de 3g a 8g; de 8g a 15g; de 15g a 20g; de 20g a 60g; e mais de 60g, respectivamente (BRASIL, 1988; LILLA, 2016).

3.2.1.4 Estilos de Vinho

Apesar de ser uma classificação informal, livros e revistas relacionados à vinhos podem classificar os vinhos entre estilos e atribuir certas variedades a cada estilo.

A maioria dos vinhos podem ser categorizados em 9 estilos e estes são: Tinto Encorpado, Tinto leve, Tinto Encorpado Médio, Espumantes, *Rosé*, Branco Aromático, Branco leve, Branco encorpado, Vinhos de sobremesa, entre outros (PUCKETTE, 2018).

3.3 VIDEIRA

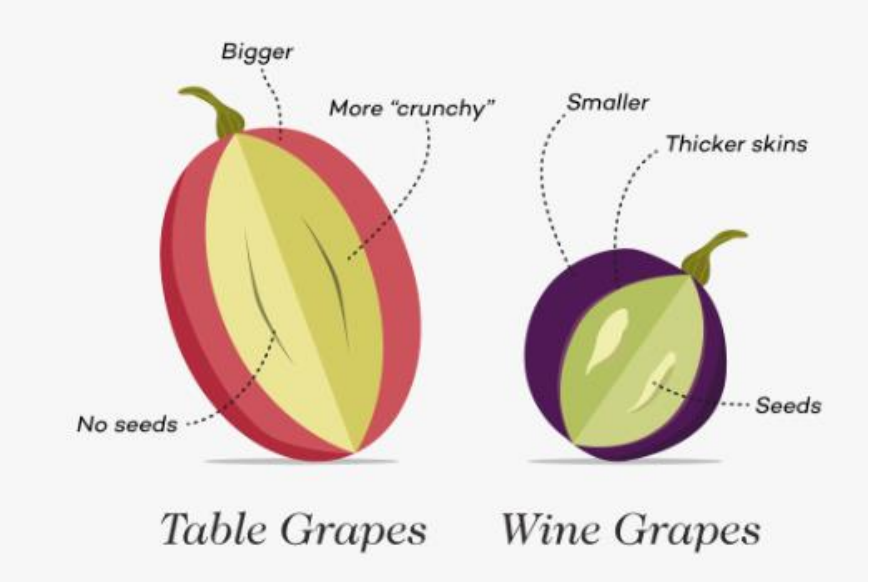
A maioria dos vinhos é feita a partir de uma única espécie de videira, a *Vitis vinifera*. Por cerca de 10.000 anos, vinhos são feitos a partir desta espécie, que se originou nas montanhas do Cáucaso da Europa Oriental (PUCKETTE, 2018).

Há outras espécies de videira que produzem vinho, porém, muito menos estudadas de forma extensiva como a *Vitis vinifera*. Um exemplo, é a videira americana *Vitis labrusca*, que é grandemente difundida no Brasil, especialmente na Serra Gaúcha. A sua variedade mais cultivada é a Isabel, muito utilizada para a produção de sucos de uva, mas também de vinhos de mesa e vinhos rosados (RIZZON; MIELE; MENEGUZZO, 2000; PUCKETTE; HAMMACK, 2016).

3.4 UVA

As uvas da *Vitis vinifera* se diferenciam fenotipicamente das uvas de mesa. As uvas para vinho são mais doces, menores, contêm sementes e têm películas mais grossas. São estes atributos que atribuem ao vinho o seu sabor único (PUCKETTE; HAMMACK, 2016).

Figura 1 - Ilustração de Uvas de Mesa e Uvas Viníferas



Fonte: Puckette (2018)

Considerando as regiões vitícolas produtoras de vinho, o fator climático, o índice pluviométrico, o solo, entre outros fatores, "interferem na maturação da uva e são determinantes para estabelecer a quantidade de açúcar e de ácidos do mosto, o grau de sanidade da uva, e por fim, para definir o momento de colheita da uva" (MENEGUZZO, 2010, p. 21).

Para um padrão de qualidade ótimo, a sanidade e a qualidade dos elementos da copa, brotos, cachos e folhas dependem: de uma nutrição balanceada; de uma umidade adequada no solo; de cachos isentos de podridões do cacho como podridão cinzenta (*Botrytis cinerea*), podridão da uva madura (*Glomerella cingulata*), podridão ácida e podridão amarga (*Greeneria uvicola*); de plantas isentas de viroses, doenças do lenho, doenças radiculares, cochonilhas, etc.; e de um controle eficiente das doenças da parte aérea e pragas (besouros, pulgões, cochonilhas, ácaros,

cigarrinhas, brocas, lagartas, traças, moscas, carunchos, marimbondos, vespas, etc.) (UVIBRA, 2015).

Quanto à classificação, há a possibilidade desta conforme o sistema de condução, ilustrado no quadro (figura 2).

Figura 2 - Quadro de Sistemas de Condução

Sistema de condução	C	B	A	AA
Espaldeira	X	X	X	X
Y, Lira	X	X	X	Não
Latada	X	X	Não	Não

Fonte: Uvibra (2015)

O sistema de condução da videira consiste na distribuição espacial do dossel vegetativo, do tronco e dos braços, juntamente com o sistema de sustentação (CHAVES, 2005).

Segundo Miele; Mandelli, 2003, p. 2:

> O sistema de condução latada, também chamado de pérgola, possui dossel vegetativo horizontal e a poda pode ser mista ou em cordão esporonado, conforme o cultivar. As videiras são alinhadas em fileiras geralmente distanciadas de 2,0 a 3,0 m, e a distância entre plantas é de 1,5 a 2,0 m. A zona de produção da uva situa-se, aproximadamente, a 1,8 m do solo, mas, no Vale do São Francisco, a latada situa-se a 2,0 m do solo.

Ainda, de acordo com Miele; Mandelli, 2003, p. 6:

> As videiras conduzidas em espaldeira têm dossel vegetativo vertical e a poda pode ser mista ou em cordão esporonado. As varas são atadas horizontalmente aos fios da produção do sistema de sustentação do vinhedo. Normalmente, deixam-se duas varas por planta quando a poda é mista; em cordão esporonado, há um ou dois cordões por planta. A distância entre as fileiras varia de 2,0 a 2,5 m (mas, pode ser de até 3,0 m no Vale do São Francisco) e entre plantas de 1,2 a 2,0 m, conforme o cultivar e a fertilidade do solo. A zona de produção geralmente situa-se entre 1,0 e 1,2 m do solo. A altura da espaldeira do solo até a parte superior é de 2,0 a 2,2 m.

Uma das principais vantagens da utilização de espaldeira como sistema de condução caracteriza-se pelo aumento de nutrientes por planta, devido à menor concentração de parreiras por hectare (MIELE.; MANDELLI, 2003).

Segundo Chaves, 2005, p.13:

> O sistema de condução da videira em lira caracteriza-se por ter duas cortinas levemente inclinadas para o lado de fora, portanto, com duas zonas de produção. As bases das cortinas são afastadas, no mínimo, de 0,90 m uma da outra. Na parte superior, elas são distanciadas de 1,00 a 1,20 m. Adota-se a poda mista ou em cordão esporonado. Os ramos são despontados cerca de 0,30 m acima do último fio.

Além, o enquadramento do vinhedo e da uva nas categoria AA, A, B ou C (sendo a categoria AA a que representa melhor qualidade) será de acordo com a resposta do vinhedo: à tecnologia de produção aplicada; à intensidade e à qualidade das respectivas práticas culturais; às condições de clima e solo; à sanidade das suas plantas; e à qualidade da uva por ocasião do recebimento (UVIBRA, 2015).

3.4.1 Variedade

Um vinho varietal é produzido com apenas uma variedade de uva e cada variedade de uva apresenta-se de forma individual (PUCKETTE; HAMMACK, 2016; MACNEIL, 2016).

A definição básica de uma variedade é que todas as videiras individuais de tal variedade derivam direta ou indiretamente de uma única muda. As novas plantas são propagadas a partir de estacas ou enxertos da planta original da planta-mãe, ou de outras videiras que dela derivam (HIGGS, 2019).

Existem cerca de 5 mil variedades de uvas viníferas, sendo as mais conhecidas *Cabernet Sauvignon, Merlot, Malbec, Carmenère, Syrah* e *Pinot Noir*, para os vinhos tintos e *Chardonnay, Sauvignon Blanc* e *Riesling*, para vinhos brancos (COPELLO, 2017).

Embora a composição geral da maioria das variedades de uvas seja muito semelhante, há diferenças de aroma e sabor claras e distintas entre a maioria das cultivares. Essas diferenças podem ser principalmente atribuídas a variações relativamente pequenas nas proporções dos compostos que constituem o perfil aromático de uma uva. Somente alguns compostos aromáticos foram diretamente ligados a *flavores* e aromas varietais específicos. Apesar que a maioria desses compostos esteja presente em baixas concentrações em ambas as uvas e no vinho fermentado, eles normalmente têm um grande Valor Olfativo Ativo (OAV, do inglês

Odor Activity Value) e, portanto, podem ter um enorme impacto no perfil geral do aroma (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

3.4.1.1 Cabernet Sauvignon

A variedade *Cabernet Sauvignon*, provavelmente a mais conhecida no mundo, originária da região de Bordeaux, na França, se caracteriza por ser uma das mais estruturadas, complexas, majestosas uvas para vinhos de guarda do mundo. Os vinhos são encorpados, com taninos arrojados e um final longo e persistente, impulsionado principalmente pelos níveis mais elevados de álcool e tanino que acompanham estes vinhos. Seus aromas e *flavores* são bem conhecidos, fáceis de identificar e são caracterizados por: amora, groselha preta, especiarias, cassis, hortelã, pimentão verde, cedro, grafite, alcaçuz, couro, tabaco verde, charuto, ameixas pretas, chocolate amargo, sândalo, entre outros (PUCKETTE, 2019; PUCKETTE; HAMMACK, 2016; ASSIS, 2012).

3.5 LEVEDURA

De acordo com Spadari, 2013, p.20, “as leveduras são fungos unicelulares (Ascomicetos, Basidiomicetos ou Deuteriomicetos) e englobam cerca de 80 gêneros e 600 espécies”. De acordo com Bamforth (2005), seus *habitats* são as superfícies de tecidos de plantas, incluindo flores e frutas; muitas são aeróbias obrigatórias, embora outras sejam consideradas anaeróbias facultativas. São essenciais para a elaboração do vinho e, devido à falta de oxigênio, as leveduras realizam a fermentação, produzindo o etanol. São responsáveis diretas pela qualidade sensorial da bebida e participam na produção de aromas e outras propriedades por uma gama de mecanismos e atividades, diferenciando o vinho do suco de uva. O gênero *Saccharomyces* é o principal responsável pela dominância e término da fermentação alcoólica (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000), sendo *Saccharomyces cerevisiae* a mais utilizada em fermentações, largamente utilizada para a produção de álcool (STECKELBERG, 2001; GAVA; FICAGNA; ROSSATO, 2017; SPADARI, 2013; BAMFORTH, 2005).

As leveduras podem ser categorizadas pelas suas propriedades fermentativas e respostas de crescimento ao oxigênio como obrigatoriamente fermentativo,

facultativamente fermentativo e não fermentativo. As leveduras exibem diversidade em seus modos de geração de energia. A tabela 1 categoriza os grupos de leveduras em relação à sua respiração e fermentação.

Tabela 1 - Classificação de leveduras conforme tipo de respiração e fermentação

Grupo	Exemplos	Respiração	Fermentação	Crescimento Anaeróbico
Respiração obrigatória	*Rhodotorula spp*. e *Cryptcoccus spp.*	Sim	Não	Não
Respiração Aeróbica	*Candida spp., Kluyveromyces spp., Pichia stipitis e Pachysolen tannophilus*	Sim	Anaeróbico em pré-crescimento celular	Não
Fermentadores Anaeróbicos	*Schizosaccharomyces pombe*	Limitada	Anaeróbico	Não
Aeróbicos Facultativos	*Saccharomyces cerevisae*	Limitada	Anaeróbico	Facultativo, mas sem crescimento na ausência de esteróis e ácidos graxos
Fermentadores Obrigatórios	*Torulopsis pintolopesii (Candida)*	Não	Anaeróbico	Sim

Fonte: Adaptado de Lambrechts e PRETORIUS (2000)

O metabolismo de levedura refere-se à assimilação bioquímica (consumo de energia) e dissimilação (geração de energia) de nutrientes pelas suas células (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Muitas vias biossintéticas em leveduras de vinho e bactérias maloláticas estão envolvidas na formação do aroma do vinho e são afetadas por vários fatores, como a composição e o pH do mosto de uva e a natureza e a temperatura predominante da fermentação (SWIEGERS *et al*., 2005).

A fermentação alcóolica do suco de uva pode ser conduzida de duas maneiras: de forma espontânea ou natural, conduzida pela flora presente nas uvas e nos vinhedos, ou inoculada com uma cepa comercial, sendo geralmente, *Saccharomyces cerevisae*. Existem vários gêneros e espécies de leveduras à parte *Saccharomyces*

cerevisiae encontrado nas uvas, no mosto e no vinho que podem contribuir para o *flavor* do vinho (tabela 2) (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Em muitos casos, na vinificação, o dióxido de enxofre (SO_2) é utilizado inibindo ou parando o desenvolvimento das leveduras e bactérias, selecionando as leveduras necessárias à vinificação, pois estas são mais resistentes que os outros microrganismos que também estão presentes no processo, mas não são desejáveis (TOLEDO *et al*., 2008). A inoculação de leveduras, logo após a utilização do SO_2, acaba por dar vantagens à levedura inoculada, permitindo que esta se desenvolva muito mais rapidamente por não haver competição por nutrientes.

Tabela 2 - Leveduras relacionadas a vinhos

Gênero	**Espécie**	**De acordo com Kurtzman & Fell, 1998**
Brettanomyces	*anomalus* *bruxellensis* *intermedius*	*Brettanomyces bruxellensis*
Candida	*boidinii* *colliculosa* *guilliermondii* *hellenica* *krusei* *lambica* *oloephila* *pelliculosa* *pulcherrima* *sorbosa* *stellata* *valida* *vanrijiae*	
Cryptococcus	*albidus*	
Debaromyces	*hansenii*	
Dekkera	*anomala* *bruxellensis*	
Hanseniaspora	*uvarum*	
Hamenula	*anomala*	*Pichia anomala*
	kluyveri	*Pichia kluyveri var. kluyveri*
Kloeckera	*apiculata*	
Kluyveromyces	*marxianus* *thermotolerans*	
Metschnikowia	*pulcherrima*	

Pichia	*kluyveri* *membranifaciens*	
Rhodotorula	*glutinis*	
Saccharomyces	*bayanus*	
	beticus	*cerevisiae*
	capensis	*cerevisiae*
	cerevisiae	
	chevalieri	*cerevisiae*
	ellipsoideus	*cerevisiae*
	fermentati	*Torulaspora delbnteckii*
	oviformis	*cerevisiae*
	rosei	*Torulaspora delbrueckii*
	uvarum	*bayanus*
Saccharomycodes	*ludwigii*	
Schizosaccharomyces	*pombe* *japonicus*	
Torulaspora	*delbnteckii* *bailii*	
Zygosaccharomyces	*bisporus* *florentinus* *rouxii*	

Fonte: Adaptado de Lambrechts; PRETORIUS (2000)

3.5.1 Leveduras comerciais

As leveduras comerciais são inoculadas em fermentações induzidas, para que se tenha um melhor controle de conversão do mosto em vinho, são selecionadas por sua adaptabilidade genética, além de sua eficácia da mutagênese, estabilidade de mutações, eficiência de esporulação e acasalamento, previsibilidade do crescimento em condições de laboratório (BISSON, 2004) e resistência a mostos com alta concentração de açúcares. Consequentemente, ao final da fermentação, há uma alta concentração de álcool e baixas quantidades de açúcares fermentescíveis no meio, condição estressante para outras leveduras, o que dá vantagens à *Saccharomyces cerevisae* (HORSEY, 2007).

Essas cepas são geneticamente estáveis, exibindo baixas taxas de mutação espontânea (BISSON, 2004) e, por ser um microrganismo "robusto", capaz de suportar condições drásticas, ainda é o mais escolhido nas vinícolas para a etapa de fermentação alcóolica (STECKELBERG, 2001).

As pressões seletivas que prevalecem durante o processo de vinificação favorecem sempre as leveduras com o catabolismo fermentativo mais eficiente, particularmente as cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Por esta razão, esta levedura é quase universalmente preferida para iniciar a fermentação alcoólica, e ganhou o título de levedura vinífera (SWIEGERS *et al*., 2005).

A herança genética de *Saccharomyces* tem sido extensivamente estudada em condições de laboratório. O gênero *Saccharomyces* é formado por 14 espécies: *S. barnetii, S. bayanus, S. castelli, S. cerevisiae, S. dairenensis, S. exiguus, S. kluyveri, S. paradoxos, S. pastorianus, S. rosini, S. servazii, S. spencerorum, S. transvaalensis* e *S. unisporus*, sendo a cepa *Saccharomyces cerevisiae r.f. bayanus* comumente utilizada devido à alta resistência a concentração de álcool no meio (KURTZMAN; FELL, 1998).

Os vinhos chamados de comerciais ou industriais, onde as leveduras comerciais como a *Saccharomyces cerevisae* são utilizadas, são confeccionados a partir da prática "intervencionista" de inocular mosto de uva com leveduras cultivadas selecionadas para evitar o risco de fermentações paradas ou lentas e *off flavours* ou para produzir vinho de acordo com especificações e estilos de sabor predeterminados (JOLLY; VARELA; PRETORIUS, 2013).

3.5.2 Leveduras autóctones ou indígenas

As leveduras autóctones, também chamadas de indígenas ou selvagens ou nativas, são linhagens de leveduras que estão presentes na microbiota natural da uva, do parreiral e do solo onde se encontram. Entretanto, as uvas são consideradas a fonte primária de leveduras autóctones do vinho e sua participação é caracterizada pela condução da fermentação alcóolica na fermentação natural (FLEET, 1992; ASSIS, 2012).

As leveduras não-*Saccharomyces* podem influenciar as propriedades sensoriais finais do vinho positiva ou negativamente (PRETORIUS; WESTHUIZEN VAAN DER; AUGUSTYN, 1999). A prática de utilização dessas leveduras poderia assegurar a tipicidade e regionalidade do vinho produzido em determinada região (PÉREZ- GONZALEZ *et al*., 1993), pois é a qualidade sensorial do vinho diferenciada que confere ao vinho características típicas é denominada de *terroir* (CAPELLO *et al*., 2004).

As leveduras autóctones mais comumente encontradas, adicionalmente a cepas selvagens de *S. cerevisae*, são *Hanseniaspora* (*Kloeckera*), *Metschnikowia*, *Candida* e *Pichia* (BISSON, 2004). Complementarmente, resultados de estudos realizados por Fleet e Heard (1993), indicaram que espécies de leveduras autóctones variadas integram o mosto de uva; destacando-se: *Hanseniaspora* (*Kloeckera*), *Metschnikowia*, *Candida*, *Pichia* e *Kluyveromyces*, presentes em uma maior proporção e as *Saccharomyces*, em menor proporção (FLEET; HEARD, 1993).

Por muitas vezes, é feita a inoculação de leveduras comerciais ainda com a presença de leveduras autóctones; esta inoculação minimiza a influência das leveduras selvagens na qualidade do vinho, embora tenha sido demonstrado que essas culturas de leveduras comerciais não necessariamente impedem o crescimento e a atividade metabólica de cepas de *S. cerevisiae* ou outras leveduras selvagens, como *Kloeckera apiculata, Hanseniaspora uvarum, Candida stellata* e *Torulaspora delbrueckii*. As leveduras selvagens são capazes de crescimento aeróbico e anaeróbico e podem persistir durante a fermentação, competindo com *Saccharomyces* por nutrientes, e podem produzir ésteres de ácidos graxos e outros compostos que afetam o *bouquet* de fermentação do vinho (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Ainda, alguns produtores de vinho podem preferir usar misturas de espécies de leveduras nativas e linhagens de *S. cerevisiae* adaptadas como culturas *starter*, permitindo assim a utilização das duas leveduras em conjunto, pois desta maneira, as características positivas tanto das leveduras comerciais quanto das leveduras nativas podem ser aproveitadas (COMITINI *et al*., 2017).

A fermentação não inoculada, muitas vezes referida como fermentação "natural" ou "espontânea", é um processo microbiano complexo realizado pela ação sequencial de diferentes não-*Saccharomyces* e uma diversidade de leveduras indígenas *Saccharomyces*. Essas leveduras podem contribuir potencialmente para as características sensoriais desse vinho (VARELA *et al*., 2009).

Nas fermentações espontâneas há um padrão de crescimento progressivo das leveduras autóctones: leveduras dos gêneros *Kloeckera, Hanseniaspora* e *Candida* predominam nas fases iniciais, seguidas por várias espécies de *Metschnikowia* e *Pich*ia nos estágios intermediários, quando o etanol sobe para 3-4% (FLEET, HEARD, 1993). Os últimos estágios das fermentações naturais do vinho são invariavelmente dominados pelas cepas tolerantes ao álcool de *Saccharomyces cerevisiae*

(SWIEGERS *et al.,* 2005). De acordo com Assis (2012), este fenômeno é atribuído “à baixa capacidade adaptativa do metabolismo da levedura devido ao aumento gradual da concentração de álcool uma vez que estas linhagens toleram concentrações de até 3-4% de etanol”.

As linhagens de *Saccharomyces*, por sua vez, são álcool-tolerantes, resistindo e completando a fermentação alcóolica, assim, mantendo a sua atividade metabólica no estágio final da fermentação (ASSIS, 2012).

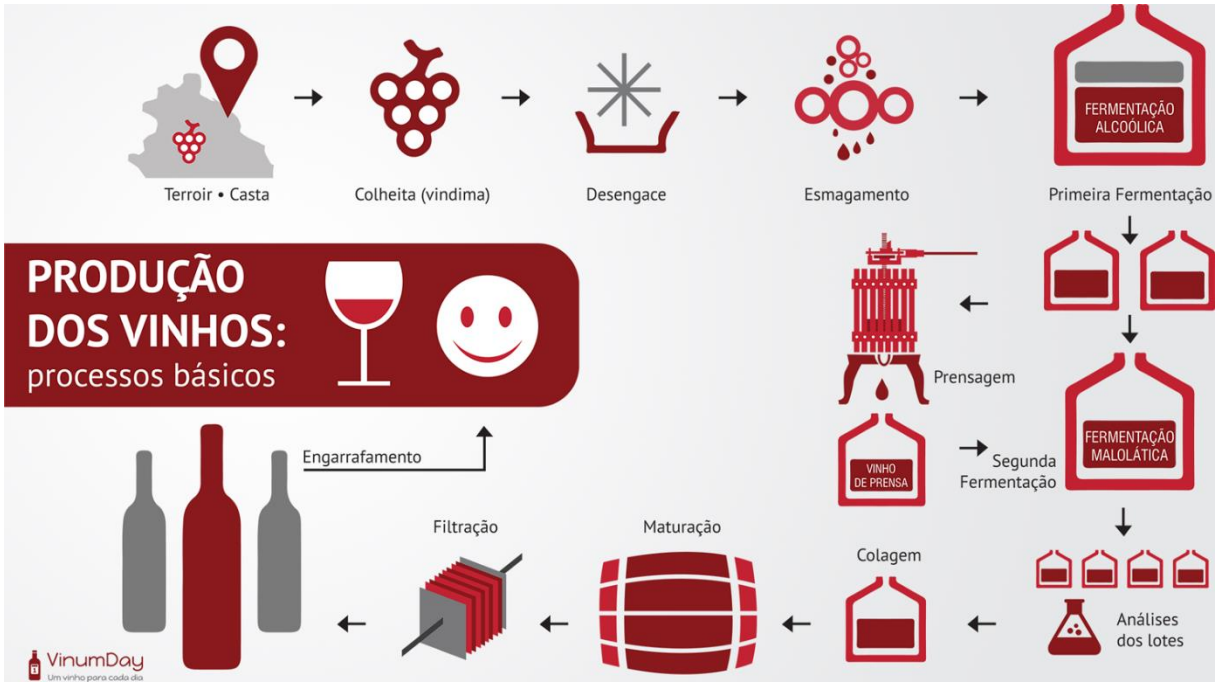
Contudo, existem riscos associados ao uso de leveduras indígenas, pois fermentações espontâneas estão associadas a um maior risco de fermentações lentas e/ou paradas, maior fase de latência, formação de *flavores* desagradáveis, a proliferação de leveduras contaminantes, o aumento dos riscos de oxidação, açúcares residuais mais elevados, subprodutos imprevisíveis e produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S) (VARELA *et al*., 2009; COMITINI *et al*., 2017; CAPECE *et al*., 2012). A produção de H_2S por leveduras é um dos problemas frequentes durante a elaboração de vinhos e a seleção de linhagens de *Saccharomyces cerevisae* que não liberem H_2S durante a fermentação, não formando aromas indesejáveis, se faz necessária e por muitas vezes, é utilizada (WLODARCZYK *et al*., 2012).

Entretanto, os vinhos fermentados de forma espontânea, embora com maior riscos associados, são geralmente considerados como tendo características melhoradas, como complexidade, corpo, sensação na boca (textura) e integração de *flavores* superiores em relação aos vinhos inoculados. Além, por ter estilo diferente, os vinhos fermentados de forma espontânea têm seu nicho específico de mercado (JOLLY; VARELA; PRETORIUS, 2013; VARELA *et al*., 2009).

3.6 ETAPAS DE PRODUÇÃO

O vinho é produzido em, basicamente, 8 etapas. Dentre elas, colheita, desengace e esmagamento, prensagem, fermentação, trasfega, clarificação e estabilização, amadurecimento e engarrafamento (figura 3) (VINUMDAY, 2016).

Figura 3 - Etapas de Produção do Vinho



Fonte: VinumDay (2016)

No presente trabalho, o enfoque vai ser dado somente às etapas de fermentação alcóolica e fermentação malolática, relacionadas ao processo de produção de vinhos tintos finos, pois a fermentação aumenta a complexidade química e de *flavor* do vinho auxiliando na extração de compostos a partir de sólidos presentes no mosto, modificando alguns compostos derivados da uva, e produzindo uma quantidade substancial de metabólitos de levedura, o que confere à fermentação um melhor fator de comparação (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

3.6.1 Fermentação Alcóolica

As leveduras são responsáveis pelas transformações bioquímicas mais importantes na fermentação, podendo metabolizar açúcares através de seu maquinário genético, por quatro vias distintas de obtenção de energia, (i) a respiração,

(ii) a fermentação alcoólica, (iii) a fermentação glicero-pirúvica, e/ou (iv) a via das pentoses fosfato (RIBÉREAU-GAYON *et al*., 2006). As três primeiras são provenientes da glicólise, que ocorre no citosol da levedura, e posteriormente, outras vias de transformação são tomadas para a produção dos componentes finais de cada via bioquímica. A quantidade de álcool produzido durante a fermentação é dependente da quantidade de açúcares presente no mosto (RODRIGUES, 2013).

Na fermentação alcoólica, a energia liberada por leveduras durante a oxidação de açúcares fermentescíveis (glicose e frutose) é utilizada para o crescimento microbiano e para a produção de álcool e CO_2, pela ação das enzimas piruvato-descarboxilase e álcool-desidrogenase, sendo estes dois últimos, subprodutos da fermentação. (LIMA *et al*., 2001; STECKELBERG, 2001).

O aparato enzimático, que envolve diversas reações químicas em sequência ordenada, transforma o açúcar em etanol e CO_2 e está presente no citoplasma celular dos microrganismos fermentativos. Esses microrganismos, denominados leveduras, além do etanol e do CO_2, produzem muitos subprodutos, como por exemplo, glicerol, ácido acético, ácido succínico e ácido lático. Além disso, as propriedades aromáticas do vinho podem ser profundamente afetadas pela produção de álcoois superiores e outras substâncias voláteis, como ésteres, produzidos pelas leveduras durante a fermentação alcóolica. A literatura sobre este tema mostra que as espécies de leveduras e, dentro de cada espécie, diferentes linhagens têm grandes diferenças na produção de compostos voláteis. Consequentemente, o aroma fermentativo induzido por levedura é responsável por grandes diferenças na composição, de aroma e de sabor (ANTONELLI *et al*., 1999; RODRIGUES, 2013).

Fatores como pH, temperatura, pressão, concentração de reagentes, concentração de micronutrientes, entre outros, podem afetar os parâmetros cinéticos que definem as taxas de reprodução celular, consumo de substrato e produção de etanol e, por conta disto, a fermentação alcóolica deve ser acompanhada minuciosamente, já que diversos fatores podem afetar negativamente o seu desenvolvimento, resultando em um vinho com características organolépticas indesejáveis (STECKELBERG, 2001; RODRIGUES, 2013).

3.6.2 Fermentação Malolática

“Os mostos de uvas tinta e branca, especialmente aquelas de clima frio, sofrem fermentação secundária denominada de fermentação malolática” (ASSIS, 2012, p. 35). Geralmente, os mostos de uvas tintas com maior frequência. Para a elaboração de vinhos tintos finos, a FML, ou comumente chamada de segunda fermentação, é fundamental para a redução da acidez. Essa é caracterizada pela ação de bactérias lácticas, que transformam o ácido málico, proveniente da primeira fermentação (alcóolica), em ácido lático, consistindo na descarboxilação bacteriana do ácido málico, formando ácido láctico e liberando gás carbônico, reduzindo assim, a acidez, devido ao ácido láctico ser menos agressivo ao paladar humano (RODRIGUES, 2013; SOUSA, 2014). As bactérias lácticas também consomem os ácidos pirúvico, cítrico e oxoglutárico presentes no vinho (RIBÉREAU-GAYON *et al*., 2006)

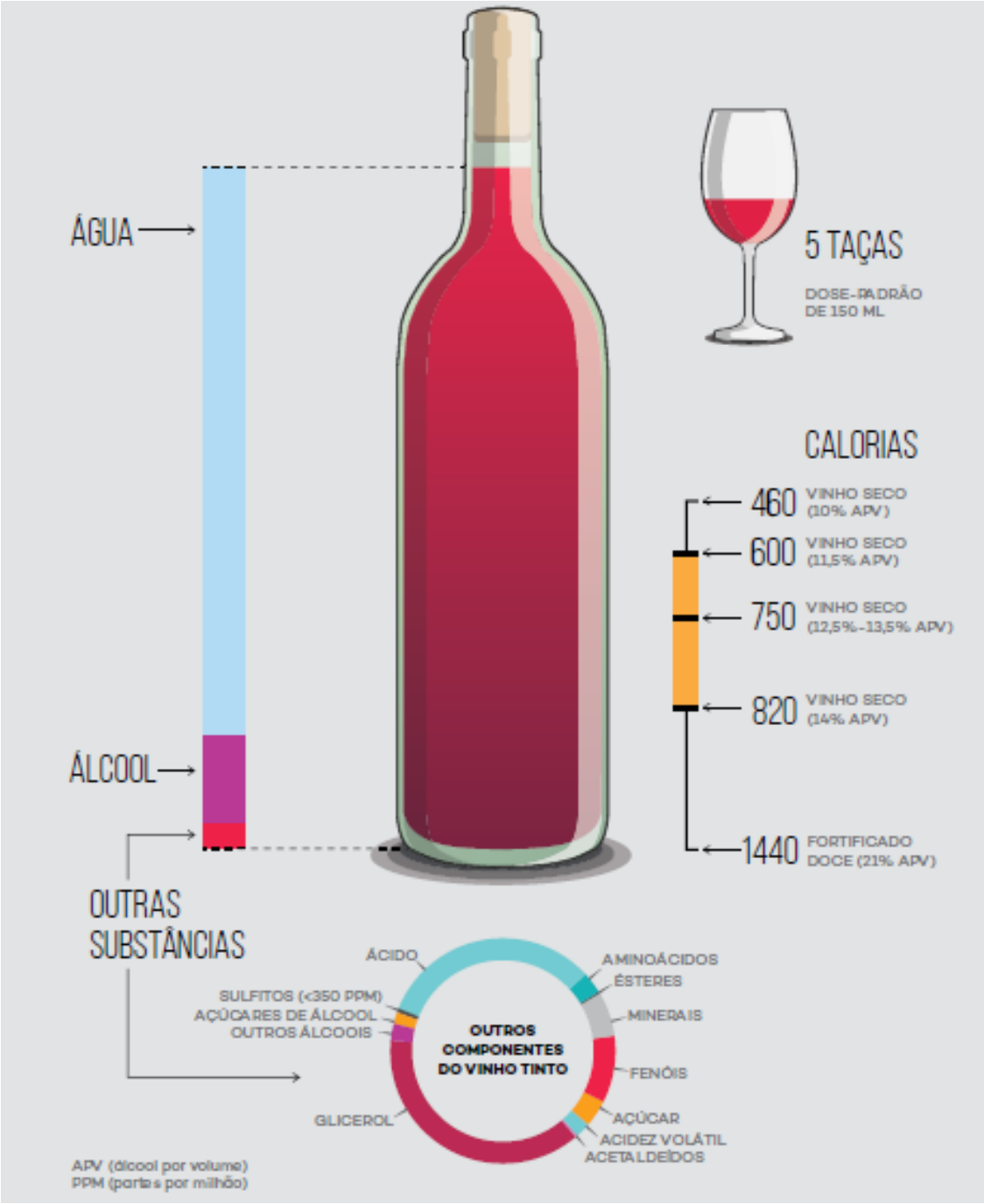
De acordo com Sousa (2014, p. 24), a FML “reduz a acidez fixa do vinho, uma vez que o ácido lático é mais fraco que o málico, estabiliza o vinho, evitando a precipitação após o engarrafamento e aumenta o “*bouquet*” do vinho.”

Os vinhos tintos são beneficiados com essa fermentação, adquirindo maior complexidade aromática, suavidade e maciez gustativa. Os vinhos que não realizam a FML conservam o caráter mais fresco e aromático, pois esta não somente contribui para a redução da acidez, mas também aumenta a estabilidade microbiana e melhora significativamente o aroma, reduzindo notas vegetais e acentuando os aromas frutados. Algumas vinícolas buscam a FML em função de acidez e para assegurar a estabilidade microbiológica (SPADARI, 2013; FILHO, 2016).

3.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os componentes do vinho podem ser visualizados na figura 4 a seguir. A água é o principal componente, seguido do álcool e de outras substâncias; que caracterizam e conferem qualidade ao vinho.

Figura 4 - Componentes do Vinho



Fonte: Puckette; Hammack (2016)

“O vinho é uma mistura complexa de compostos orgânicos, complementada por elementos inorgânicos.” (FILHO, 2016, p. 284).

Além disso, a composição química do vinho é dependente do tipo e da qualidade das uvas. O vinho contém um grande número de compostos ativos que conferem *flavor* e aroma, sendo alguns terpenos, ésteres, metoxipirazinas e aldeídos,

que conferem aromas e *flavores* distintos como floral, frutado, apimentado e amadeirados (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011; SWIEGERS *et al*., 2005).

3.7.1 Água

O composto mais presente do vinho, conforme figura 4, é a água proveniente da uva, que pode representar de 85 a 90% em volume. De acordo com a lei 7.678, a adição de água é proibida (BRASIL, 1988; FILHO, 2016).

3.7.2 Álcoois

3.7.2.1 Álcool Etílico

O álcool etílico é o mais importante álcool dos vinhos e o segundo composto em maior quantidade (figura 4), apresentando gosto levemente adocicado, auxiliando em estrutura, sendo importante para a estabilidade de vinho, atuando como solvente na extração de pigmentos e taninos e diluindo compostos voláteis (FILHO, 2016).

3.7.2.2 Glicerol

O glicerol é o segundo álcool em maior quantidade; é viscoso, o que contribui para a untuosidade do vinho, além de contribuir para qualidade e características sensoriais, pois proporciona sabor doce ao vinho, porém, não impacta diretamente nas características aromáticas (FILHO, 2016; ASSIS, 2012).

3.7.2.3 Álcool Metílico

O álcool metílico ou metanol é proveniente da hidrólise de pectinas da uva ou da hidrólise de compostos da madeira, caso sejam utilizadas barricas. O metanol não é um composto desejável em vinhos por conta de seus efeitos tóxicos em humanos (FILHO, 2016; CARDOSO, 2008).

3.7.3.4 Álcoois Superiores

Outros álcoois de três ou mais carbonos, presentes em menor volume, são chamados de álcoois superiores. São metabólitos de levedura secundários e podem ter impactos positivos e negativos no aroma e *flavor* do vinho. Álcoois superiores são divididos em duas categorias, álcoois alifáticos e aromáticos, e também são extremamente importantes no vinho. Os principais deles sendo: 1-propanol, álcool isobutílico, e álcool amílico, que podem contribuir para a qualidade sensorial do vinho de forma positiva. Porém, em concentrações excessivas, podem aportar aromas desagradáveis (FILHO, 2016; ASSIS, 2012; SWIEGERS *et al.*, 2005).

3.7.3 Ácidos Orgânicos

Os principais ácidos orgânicos da uva são tartárico, málico, cítrico, lático, succínico e acético. Os vinhos tintos normalmente são menos ácidos do que os vinhos brancos. A acidez fixa de um vinho é formada pelos ácidos tartárico, málico, lático, succínico e cítrico, sendo 90% formada pelos ácidos tartárico e málico. Na FML, o ácido málico é degradado, o que confere um aumento na quantidade de ácido lático. Por sua vez, o ácido acético é o principal ácido presente na acidez volátil (VA) de vinhos. Traços de ácidos fórmico, butrítico e propiônicos também são encontrados (FILHO, 2016; RODRIGUES, 2013).

3.7.4 Componentes Fenólicos

Os componentes fenólicos são provenientes principalmente das cascas e sementes da uva, o que, consequentemente, os torna compostos majoritários nos vinhos tintos, em maior quantidade do que nos vinhos brancos. Conferem propriedades específicas tais como cor, adstringência, *flavor*, aroma e corpo ao vinho. Por conter ação antioxidante, esses compostos são considerados benéficos ao ser humano, podendo até ser correlacionados com a diminuição de doenças cardiovasculares, como a doença arterial coronária (DAC), na população francesa em decorrência à grande quantidade de vinho que é consumida no país. Além, também contêm ações bactericidas e vitamínicas (MAMEDE; PASTORE, 2004).

A quantidade de componentes fenólicos presentes nos vinhos pode variar devidos a alguns fatores, são esses: clima, natureza do solo, variedade da uva, maturidade da uva, maceração da uva, temperatura de fermentação, pH, SO_2 e etanol. Podem ser classificados em flavonoides e não flavonoides conforme a sua estrutura química. Os flavonoides podem ser divididos em subgrupos, sendo os de maior interesse enológico: antocianinas, flavanóis, flavonóis e flavanonóis. Os não flavonoides são representados pelos estilbenos e fenóis ácidos. Os flavanóis formam o principal grupo dos taninos do vinho e são encontrados em maior quantidade nas sementes e no engaço da uva. As unidades flavanólicas básicas são chamadas de catequinas, que aumentam o grau de polimerização conforme a maturação da uva. “Os taninos condensados são polímeros de alto peso molecular, derivados da polimerização das catequinas.” (FILHO, 2016, p. 286) As antocianinas, moléculas responsáveis pela pigmentação do uva e consequentemente, do vinho tinto, estão presentes principalmente nas camadas mais externas da casca da uva; são extraídas nos primeiros dias de vinificação. Durante a fermentação e estabilização, podem reagir com outros compostos, como os flavanóis, formando produtos polimerizados, relacionados diretamente com a longevidade dos vinhos. Estes compostos, por serem responsáveis pela pigmentação vinho, são medidos nas análises de características cromáticas, além de outros compostos fenólicos que também contribuem para a cor de um vinho (MAMEDE; PASTORE, 2004; NICOLLI, 2017; FILHO, 2016; SOUSA, 2014).

Os fenóis voláteis têm um limiar de percepção relativamente baixo e são, portanto, facilmente detectáveis. As quantidades vestigiais de fenóis voláteis estão presentes no mosto de uvas, mas são predominantemente produzidas pela levedura durante a fermentação (SWIEGERS *et al*., 2015).

3.7.5 Compostos Nitrogenados

Os compostos nitrogenados podem estar presentes nos vinhos de forma orgânica, de diversas maneiras, como aminas, amidas, aminoácidos, pirazinas, bases nitrogenadas, pirimidinas, ácidos nucleicos e proteínas ou de forma inorgânica, como amônia e nitratos. As proteínas e aminoácidos têm grande importância por serem essenciais para o crescimento das leveduras e precursores de diversos outros compostos, além de conferirem sabor ao vinho. As aminas biogênicas, compostos

formados a partir das proteínas, em teores moderados, não são percebidas; porém, em teores maiores, podem se tornar compostos indesejáveis que depreciam a qualidade do vinho. As pirazinas são substâncias voláteis, características de algumas variedades, incluindo Cabernet Sauvignon e são remetidas a aromas herbáceo, vegetal, aspargos e pimentão verde (FILHO, 2016; GARDE-CERDÁN *et al*., 2011; MIRANDA, 2016).

3.7.6 Açúcares

Os principais açúcares utilizados na fermentação alcóolica pelas leveduras provenientes da uva são a glicose e a frutose. A quantidade de açúcar presente no mosto depende do estágio de maturação da uva no momento da colheita. A uva tinta é rica em polissacarídeos e estes desempenham um importante papel na manutenção do equilíbrio coloidal em vinhos tintos, além de contribuírem para a longevidade do vinho e na degustação, com sensação de volume e aveludado. Alguns vinhos podem ter seu índice de açúcar corrigido, de uma fonte externa, desde que a correção esteja dentro dos parâmetros da lei (FILHO, 2016).

3.7.7 Minerais

As cinzas compreendem a soma de todos os compostos minerais do vinho, oriundos da casca da uva e representam cerca de 10 % do extrato seco reduzido. Os componentes constituem as cinzas são formados por dois grandes grupos que são: os ânions e os cátions. Os principais cátions são potássio, sódio, cálcio e magnésio. Os principais ânions são cloretos, fosfatos e sulfatos (RIBÉREAU-GAYON *et al*., 2003; MENEGUZZO, 2010; FILHO, 2016).

3.7.8 Aldeídos

Entre os aldeídos, o acetaldeído é o principal componente, constituindo mais de 90% do teor total de aldeído nos vinhos. O acetaldeído é um produto normal da fermentação alcoólica e sua quantidade no vinho pode variar de 10 mg/l até 300 mg/l, com um valor limiar de percepção de 100 mg/l. Nos vinhos brancos, o acetaldeído é considerado como um indicador do estado de oxidação do vinho, enquanto nos vinhos

tintos deve estar presente em quantidades de até 100 mg/l (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

3.7.9 Ésteres

Os ésteres são um grupo de compostos voláteis que transmitem um cheiro bastante agradável. A maioria dos ésteres encontrados em bebidas alcoólicas são produzidos por leveduras durante a fermentação como produtos secundários do metabolismo do açúcar e constituem um dos maiores e mais importantes grupos de compostos que afetam o *flavor* (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

3.7.10 Compostos de Enxofre

Os compostos do *flavor* que contêm enxofre ocorrem tipicamente em vinhos em concentrações muito baixas, em escala de µg/l, possuem limiares de percepção muito baixos e geralmente conferem uma contribuição sensorial negativa ao vinho. Com base na sua estrutura química, compostos de enxofre no vinho se enquadram em cinco categorias diferentes: sulfetos, polissulfuretos, compostos heterocíclicos, tioésteres e tióis. Esses compostos variam muito em suas propriedades sensoriais (SWIEGERS *et al*., 2005). Os anidridos sulfurosos, assim como os sulfatos totais, têm limites de quantidade em g/l, de acordo com a legislação (BRASIL, 1988).

3.8 ELEMENTOS SENSORIAIS

A qualidade sensorial final de um vinho é o resultado de uma grande variedade de interações entre todos os componentes químicos dentro dele e de fatores ambientais específicos, como a temperatura. Quatro sentidos estão envolvidos na definição da qualidade organoléptica dos vinhos: visão, olfato, paladar e tato. Primeiramente, observa-se a cor e aparência; em seguida, julga-se o *bouquet* aromático; posteriormente, degusta-se o vinho e finalmente, desfruta-se da sensação em boca e do gosto residual (SWIEGERS *et al*., 2005).

Ainda de acordo com Swiegers *et al*. (2005, p. 140):

> A estrutura de um vinho inclui acidez, doçura, amargor (ocasionalmente), tanino (no vinho tinto), álcool, peso e comprimento no palato, sensação na boca, (...) bem como a intensidade do aroma e sabor da fruta, e complexidade (diversidade e camadas de sabor). Esses elementos estruturais devem estar em equilíbrio e harmonia - eles não são avaliados isoladamente, mas em relação um ao outro.

3.8.1 Paladar

O sabor do vinho pode ser descrito como doce, ácido, salgado e amargo, e geralmente estas propriedades são o resultado da presença de variados compostos. Como, por exemplo, açúcares, polióis, sais, polifenóis e compostos flavonóides. Além, compostos tais como glicerol, polissacarídeos e manoproteínas contribuem para a viscosidade e paladar de vinho, e etanol para um efeito de aquecimento em boca (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

3.8.2 *Flavor*

O *flavor* é a característica distintiva mais importante do vinho. O *flavor* de um vinho pode, no seu sentido mais amplo, ser considerado como a impressão sensorial de ambos os aromas (sentidos pelo nariz e boca) e compostos de sabor e, portanto, podem incorporar os aspectos mais mensuráveis de acidez, doçura, teor alcóolico, teor gasoso, adstringência e amargor (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

O *flavor* do vinho, além de envolver doçura, acidez, amargor e salinidade, se relaciona com a sensação na boca e com o corpo e a textura do vinho, influenciada por fatores como o teor de álcool (sensação de calor) e os taninos (sensação de secura) (SWIEGERS *et al*., 2005). Alguns compostos como etanol, glicerol e CO_2 fazem uma relativamente pequena, mas, não obstante, contribuição fundamental para o *flavor* do vinho. A complexidade química e de *flavores* dos vinhos está diretamente relacionada com a fermentação, ao que esta auxilia a extração de compostos dos sólidos presentes no mosto da uva, modificando alguns destes compostos derivados da uva e produzindo uma quantidade substancial de metabólitos provenientes das leveduras (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Além, o perfil final de aromas e *flavores* são fortemente dependentes de todos os aspectos dos tratamentos pós-fermentação, tais como estratégias de filtração e

maturação, incluindo o envelhecimento em recipientes de madeira (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

3.8.3 Aromas

Enquanto o *flavor* se refere aos efeitos do odor e do sabor, o aroma é puramente associado a compostos odoríferos e voláteis, enquanto o *bouquet* de vinho se refere aos compostos aromáticos mais complexos que evoluem como resultado da fermentação, elevação e envelhecimento (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

O termo aroma é normalmente usado para descrever o cheiro de um vinho jovem e fresco; os aromas primários se originam durante a fermentação - tipicamente jovens, com notas de frutas frescas. *Bouquet* é o termo para um vinho mais velho, menos fresco, porém mais complexo; os aromas secundários originam-se da maturação do carvalho e os aromas terciários originam-se durante o envelhecimento em garrafa – com um vinho desenvolvido mostrando mais idade, com aromas de frutos cozidos ou secos e outros cheiros que também procuram atenção (SWIEGERS *et al*., 2005).

O aroma dos vinhos é constituído por um conjunto numeroso e complexo de moléculas e os voláteis identificados nos vinhos são geralmente dominados pelos produtos de fermentação, uma vez que estes voláteis estão presentes em maior concentração após esta (FILHO, 2016; LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

A qualidade de certos vinhos pode ser prejudicada por aromas e sabores indesejáveis, chamados de defeitos organolépticos ou "*off-flavors*" (ROUJOU-DE-BOUBÉE *et al*., 2002).

3.8.3.1 Valor Olfativo Ativo (OAV) e limiares de percepção

O valor olfativo ativo é a razão entre a concentração de um composto e o seu limiar de percepção. Este valor é geralmente utilizado para avaliar a contribuição sensorial de um dado composto. Enquanto o limiar de percepção é a menor concentração de um determinado composto de odor que é perceptível pelo olfato humano (GUTH, 1997).

3.8.4 *Flavores* Provenientes da Uva

A maioria dos compostos aromáticos presentes na uva encontra-se sob a forma de precursores. São substâncias não voláteis, ligadas a açúcares e aminoácidos, o que limitam sua volatilidade e percepção olfativa e estão relacionadas ao caráter varietal do vinho (ASSIS, 2012). As características olfativas desses compostos aparecem depois da fermentação do mosto, pois os compostos são desligados dos resíduos glicosídicos ou aminoacídicos e há uma hidrólise bioquímica mediada por enzimas, nas leveduras dotadas das necessárias atividades enzimáticas, o que, ao final, irá expressar os aromas primários da uva de forma notória (MIRANDA, 2016; RODRIGUES, 2013).

Os compostos do aroma varietal estão agrupados em três grandes grupos: (i) substâncias aromáticas ligadas à variedade, em que se destacam as variedades *Moscato* e *Cabernet Sauvignon*, com monoterpenóides e 2-alquil-3-metoxipirazinas, respectivamente; (ii) precursores de origem varietal, que são precursores voláteis, não aromáticos (glicosídicos ácidos fenólicos, ácidos graxos); e (iii) compostos aromáticos voláteis instáveis (terpenos, dióis terpênicos, etc.) (MIRANDA, 2016; ASSIS 2012; (MARCON *et al*., 2011).

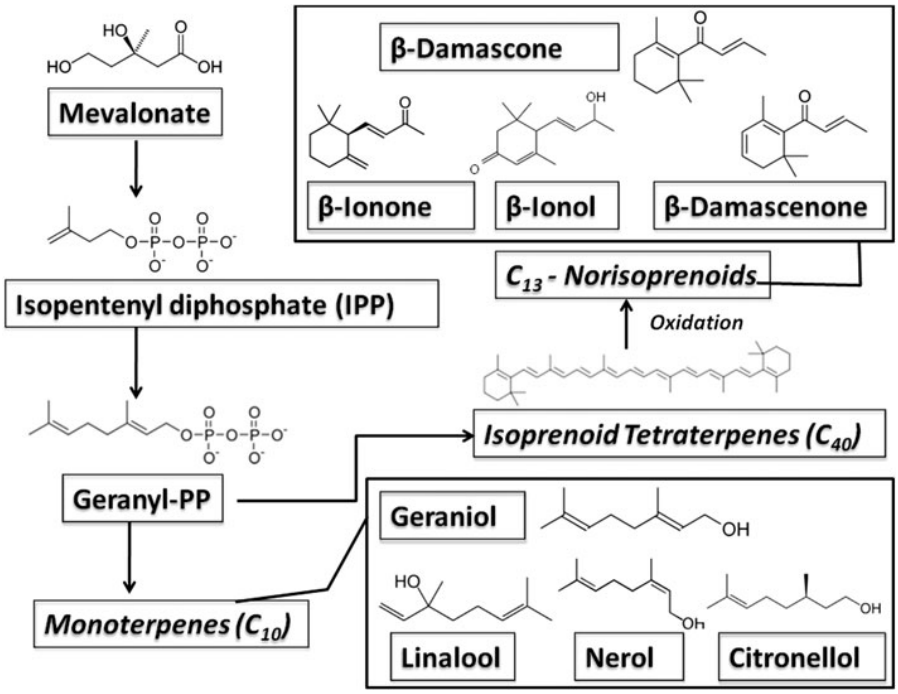
“Dezenas de variáveis contribuem para formação do aroma primário ou varietal, como o tipo de solo, o clima, a variedade da uva, o método de plantio e o grau de maturação, apenas para citar os mais importantes.” (MIRANDA, 2016, p. 1)

Os tióis voláteis expressam um caráter varietal frutado e vegetal (ASSIS, 2012; BARON *et al*., 2017) e, três dos tióis sulfurosos voláteis mais importantes, 4-mercapto-4-metil-2-pentano (4MMP), 3-mercapto-hexanol (3MH) e acetato de 3-mercapto-hexila (3MHA), estão presentes conjugados à cisteína em suco de uva e são liberados durante a fermentação pela ação de leveduras (SWIEGERS; PRETORIUS, 2005). As leveduras, por sua vez, sintetizam a enzima liase β-cisteína, liberando os tióis na forma volátil (SWIEGERS *et al*., 2005).

Os compostos aromáticos sulfurosos podem ter tanto impactos positivos quanto impactos negativos nos aromas do vinho. Existem aromas positivos relacionados aos tióis voláteis como groselha preta, álamo, raspas cítricas, maracujá, toranja, alho-poró cozido, álamo, caldo; mas também existem aromas como urina de gato, vassoura e suor (SWIEGERS; PRETORIUS, 2005).

Os norisoprenóides são compostos formados como metabólitos secundários da uva e muitos se acumulam como glicosídios não-voláteis (SWIEGERS, PRETORIUS, 2005). Se originam da ação da enzima β-glicosidase presente em algumas leveduras e seus principais representantes são β-damascenona, considerado o composto mais importante, que contribui para o aroma de maçã (PINEAU, 2007), além de flores e frutas tropicais (RIBÉREAU-GAYON *et al*., 2000), β-ionona e α-ionona, com aromas descritos como florais e frutados (RODRIGUES, 2013). Os compostos C_{13}-norisoprenóides, assim como os monoterpenos, estão presentes na exocarpa das uvas, nas formas livres ou ligadas, e são considerados fontes importantes de aromas varietais nos vinhos (RODRIGUES, 2013; ASSIS, 2012; SWIEGERS *et al*., 2005). Os glicosídeos são liberados durante os diferentes estágios de vinificação e armazenamento, produzindo esses compostos aromáticos importantes, monoterpenos e C_{13}-norisoprenoides, a partir do precursor geranil-pirofosfato (GPP). (SWIEGERS, PRETORIUS, 2005).

Figura 5 - Vias Metabólicas de Formação de Terpenos e Norisoprenóides



Fonte: Styger; Prior; Bauer (2011)

Monoterpenos são liberados a partir da hidrólise das ligações glicosídicas pelas glicosidades, liberando compostos aromáticos no vinho. Os monoterpenos isoprenóides são vários, sendo os mais importantes o linalol, geraniol, nerol e citronelol; seus álcoois compõem as uvas e estão distribuídos no interior das células

(STYGER; PRIOR; BAUER, 2011; ASSIS, 2012). As características dadas a esses compostos são de aroma frutado, ésteres, picantes e vegetais (ASSIS, 2012). Espécies de leveduras que produzem terpenóides incluem *Kluyveromyce lactis*, *Torulaspora delbrueckii* (anteriormente *Saccharomyces fermentati*) e *Ambrosiozyma monospora*. Em contrapartida, cepas nativas de *Saccharomyces cerevisiae* são capazes de produzir apenas traços relativos às concentrações presentes nos vinhos (SWIEGERS *et al.,* 2005). Nas leveduras fermentativas, a via de síntese de esteróis também parte do mesmo precursor dos monoterpenos, o GPP.

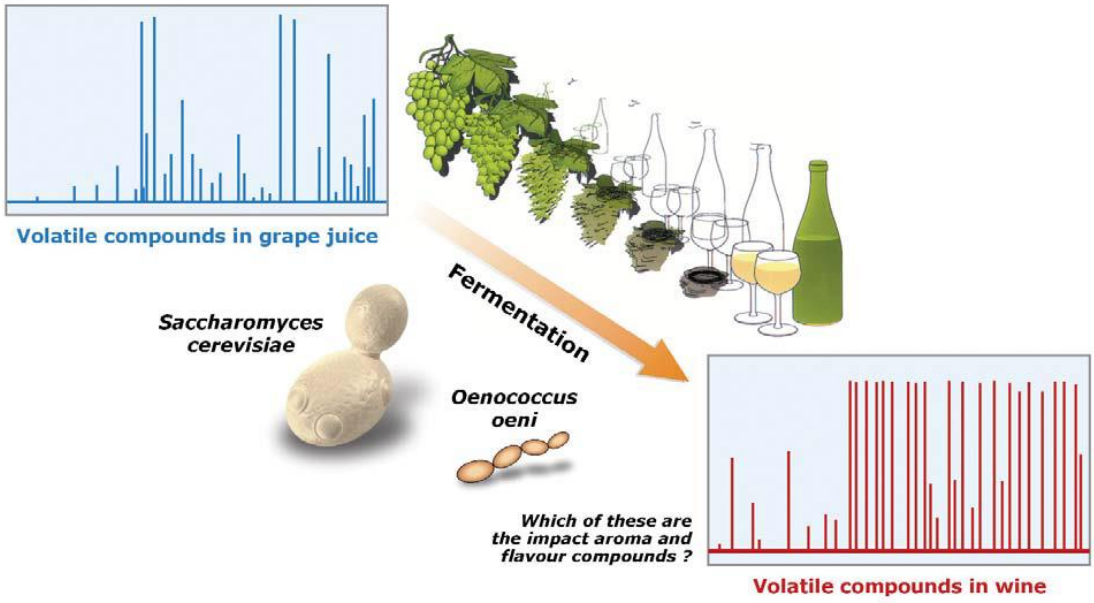
Uma característica do composto terpênico α-terpineol é um aroma floral. Dado que o teor de α-terpineol aumenta com o tempo de maturação das bagas e com o envelhecimento do vinho, este composto pode ser utilizado como um indicador da maturação das uvas (BARON *et al*., 2017). Varela *et al*. (2009) analisou vinhos fermentados da mesma variedade e mosto, sujeitos a mesmas condições de fermentação, exceto pelo método de inoculação, sendo um vinho inoculado com leveduras comerciais e no outro, fermentação espontânea, e encontrou que o α-terpineol foi superior de forma detectável em alguns dos vinhos de fermentação não inoculados.

As metoxipirazinas são compostos heterocíclicos nitrogenados (ROUJOU-DE-BOUBÉE *et al.,* 2002) que apresentam limiar de percepção olfativo extremamente baixo. Podem ser encontradas na forma de odores glicosilados, livres ou voláteis, estão naturalmente presentes nas uvas e são associadas a aromas florais (ASSIS, 2012). As três principais metoxipirazinas encontradas nas uvas são 2-isobutil-3-metoxipirazina (IBMP) e seu isômero estrutural 2-*sec*-butil-3-metoxipirazina (SBMP) e 2-isopropril-3-metoxipirazina (IPMP). O composto 2-metoxi-3-isobutilpirazina (IBMP) está em maior quantidade, representando cerca de 80% do total (SCHMARR *et al*., 2010). São descritas como responsáveis pelo potente aroma caracterizado como herbáceo ou vegetal, como o aroma de pimentão verde, caracterizado como um "*off-flavor*" ou um defeito organoléptico. Os aromas "*off-flavors*" não são apreciados no vinho e o aroma de pimentão verde é considerado o *off-flavor* mais característico das uvas *Cabernet Sauvignon*, assim como das variedades *Cabernet Franc*, *Sauvignon Blanc*, *Merlot* e *Pinot Noir* (RODRIGUES, 2013; HORSEY, 2007).

3.8.5 *Flavores* Provenientes da Fermentação

Os voláteis identificados nos vinhos são geralmente dominados pelos produtos de fermentação (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000). Os voláteis derivados da fermentação são variáveis e constituem a maior percentagem da composição total do aroma do vinho em termos de números, se nem sempre em termos de OAV (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

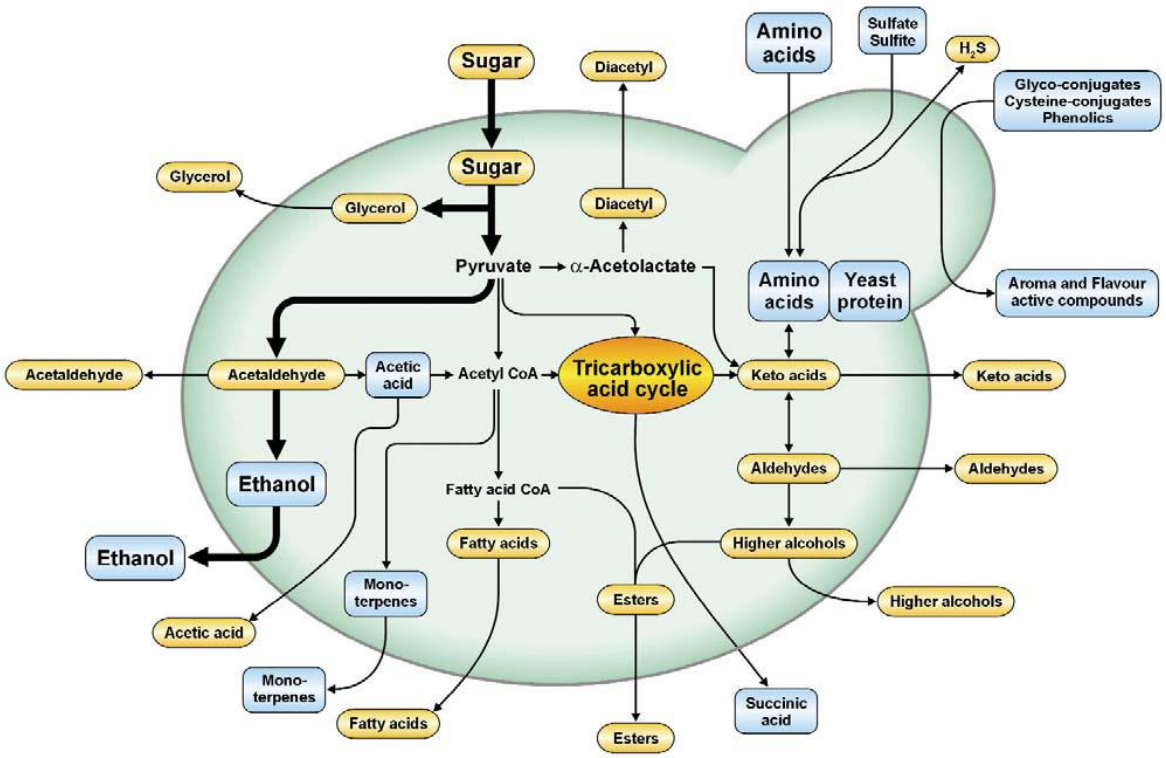
Figura 6 - Diferenças nos Compostos Voláteis Antes e Depois da Fermentação



Fonte: Swiegers *et al*. (2005)

Em um modelo de fermentação (figura 6), a partir de cerca de 22 a 24% de açúcar, 95% do açúcar é convertido em etanol e CO_2, 1% é convertido em material celular e os restantes 4% são convertidos em outros produtos finais (SWIEGERS *et al*., 2005). Pode-se verificar que a quantidade de compostos voláteis no vinho é superior à quantidade de compostos voláteis no suco de uva; diferença ilustrada nos picos hipotéticos de cromatografia (figura 6). Isso é devido à fermentação, pois pela ação das leveduras, com seu metabolismo, convertem os precursores das uvas em múltiplos compostos, como ilustra a figura 7 abaixo.

Figura 7 - Metabólitos Provenientes do Metabolismo das Leveduras durante a Fermentação



Fonte: Swiegers *et al*. (2005)

A formação de compostos aromáticos por levedura, isto é, ésteres, ácidos graxos, ésteres e álcoois superiores, está intrinsecamente ligada ao seu metabolismo, ilustrados na figura 7 e listados na tabela 3 (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Tabela 3 - Ésteres, álcoois superiores e outros compostos aromáticos e flavores comumente encontrado em vinhos

Composto	**Concentração no Vinho (mg/l)**	**Limiar de percepção aromático**	**Descritor aromático**
Acetato de etila	22.5–63.5	7.5*	Esmalte, frutado
Acetato isoamila	0.1–3.4	0.03*	Banana, pera
2-Fenetilacetato	0–18.5	0.25*	Florado, rosa, frutado
Acetato de isobutila	0.01–1.6	1.6****	Banana, frutado
Acetato de hexila	0–4.8	0.7**	Adocicado, perfume
Butanoato de etila	0.01–1.8	0.02*	Floral, Frutado

Hexanoato de etila	0.03–3.4	0.05*	Maçã verde
Octanoato de etila	0.05–3.8	0.02*	Adocicado, Sabonete
Decanoato de etila	0–2.1	0.2*****	Floral, Sabonete
Propanol	9.0–68	500**	Pungente, Áspero
Butanol	0.5–8.5	150*	Combustível
Isobutanol	9.0–174	40*	Combustível
Álcool Isoamílico	6.0–490	30*	Esmalte, áspero
Hexanol	0.3–12.0	4**	Grama
2-Fenil etanol	4.0–197	10*	Floral, rosas
Ácido acético	100–1150	280*	Vinagre
Acetaldeido	10–75	100**	Nozes, maçã machucada
Diacetil	<5	0.2** / 2.8***	Amanteigado
Glicerol	5–14 g/l	5.2 g/l**	Inodoro (sabor ligeiramente doce)
Linalol	0.0017–0.010	0.0015******/0.025*****	Rosas
Geraniol	0.001–0.044	5******/30*	Parecido com Rosas
Citronelol	0.015–0.042	8******/100*	Citronela
4-Etilfenol	0.012–6.5	0.14*/0.6***	Medicinal, celeiro
4-Etilguaiacol	0.001–0.44	0.033*/0.11***	Fenólico, adocicado
4-Vinilfenol	0.04–0.45	0.02******	Farmacêutico
4-Vinilguaiacol	0.0014–0.71	10******	Fenólico

* Álcool 10%, ** Vinho, *** Vinho Tinto, **** Cerveja, ***** Vinho sintético, ****** água

Fonte: Adaptado de Swiegers *et al*. (2005)

Quantitativamente, metabólitos que são produtos diretos e subprodutos da glicólise são encontrados na maior concentração. Esses compostos incluem etanol, glicerol e ácido acético (tabela 3). Embora usualmente apresentem baixos OAVs, sua alta concentração os torna importantes compostos de impacto (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011). Além de seu odor característico e seus efeitos fisiológicos no sistema nervoso central, o etanol determina a viscosidade (corpo) do vinho, equilibra as sensações gustativas e atua como fixador de odores (RAPP; MANDERY, 1986).

Níveis mais altos de etanol podem alterar a percepção de um vinho de frutado para herbáceo, bem como aumentar a adstringência percebida dos taninos, do amargor, rugosidade e aquecimento em boca do vinho, além de influenciar o metabolismo da célula de levedura, induzindo vários respostas ao estresse, influenciando a expressão gênica global e alterando a estrutura da membrana celular (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

Quimicamente, o glicerol é um poliol com um caráter incolor, inodoro e altamente viscoso. Tem um gosto ligeiramente adocicado, além de ter uma sensação oleosa e pesada na boca. O glicerol está presente em vinhos secos e semidoces em concentrações que variam de 5 a 14 g/l (SWIEGERS *et al*., 2005).

Álcoois superiores são quantitativamente o maior grupo de compostos aromáticos em bebidas alcoólicas e são produtos secundários da fermentação alcoólica que podem ser reconhecidos pelo seu forte odor e sabor pungente, enquanto à níveis ótimos transmitem características frutadas e podem ter uma influência significativa no *flavor* e caráter do vinho, como floral, rosas e mel (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Quando suas concentrações excedem 400 mg/l, os álcoois superiores são considerados como uma influência negativa na qualidade do vinho (RAPP; MANDERY, 1986). A formação de álcoois superiores, particularmente álcool isobutílico, aumenta nos mostos arejados (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Os álcoois superiores são compostos de álcoois alifáticos e aromáticos. Os álcoois alifáticos incluem propanol, álcool isobutílico, álcool amílico ativo e álcool isoamílico. Dos aromáticos, o álcool fenetil é o mais importante (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Os aldeídos de cadeia curta e voláteis são importantes para o *flavor* de vários alimentos e bebidas, incluindo vinho, contribuindo com características de *flavor* variando de "semelhante a maçã" a "semelhante a cítrico" a "noz" dependendo da estrutura química. Ainda, alguns *flavores* são considerados ácidos, similar a manteiga, cacau e café. Os aldeídos alifáticos de cadeia curta são os principais compostos na reação bioquímica envolvendo a produção de álcoois superiores a partir de aminoácidos e açúcares por levedura. Devido aos seus baixos valores limiares de percepção, os aldeídos são importantes para o aroma e *bouquet* de vinho (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000; SWIEGERS *et al*., 2005).

A acidez do suco de uva e do vinho tem impacto direto na qualidade sensorial e na estabilidade física, bioquímica e microbiana. Os ácidos não voláteis podem ter impactos positivos e negativos no aroma e *flavor*, dependendo da concentração e do tipo e estilo do vinho. Os ácidos orgânicos não voláteis predominantes são o ácido tartárico e o ácido málico, responsáveis por 90% da acidez titulável do mosto de uva. O ácido cítrico e o ácido lático também contribuem para a acidez do mosto de uva; os succínicos e cetoácidos estão presentes apenas em quantidades vestigiais nas uvas, mas as concentrações são maiores nos vinhos como resultado da fermentação (SWIEGERS *et al*., 2005).

A VA descreve um grupo de ácidos orgânicos voláteis de cadeia curta de carbono. O teor de ácido volátil do vinho é geralmente entre 500 e 1000 mg/l (10-15% do teor total de ácido) e, deste modo, o ácido acético constitui geralmente cerca de 90% dos ácidos voláteis (SWIEGERS *et al*., 2005; LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

O ácido acético é de particular importância. Em concentrações elevadas, confere ao vinho um carácter semelhante ao vinagre. O ácido acético se torna desagradável em concentrações de 0,7-1,1 g/l, dependendo do estilo do vinho; a concentração ideal é de 0,2 a 0,7 g/l (SWIEGERS *et al*., 2005).

Alguns dos ácidos graxos voláteis mais proeminentes são ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácido isobutírico e ácido valérico e os flavores associados a eles são vinagre, pungente, rançoso, levemente picante, queijo, suor, pútrido, fedorento e manteiga.

A produção de ésteres pela levedura durante a fermentação pode ter um efeito significativo nos *flavores* frutados do vinho. Os ésteres mais significativos (tabela 3) são acetato de etila (frutado, floral e esmalte), acetato de isoamila (banana e pêra), acetato de isobutila (banana) e hexanoato de etila (maçã, banana e violeta) (SWIEGERS *et al*., 2005).

A concentração de ésteres geralmente encontrada no vinho é geralmente bem acima de seus limiares de percepção e compõem numericamente o maior grupo de compostos aromáticos em bebidas alcoólicas (tabela 3). Os compostos de fermentação, especialmente os ésteres de acetato, são responsáveis pelo caráter desejável, frutado, de vinhos jovens (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Embora os fenóis voláteis possam contribuir positivamente para o aroma de alguns vinhos, eles são mais conhecidos por sua contribuição para *flavores*

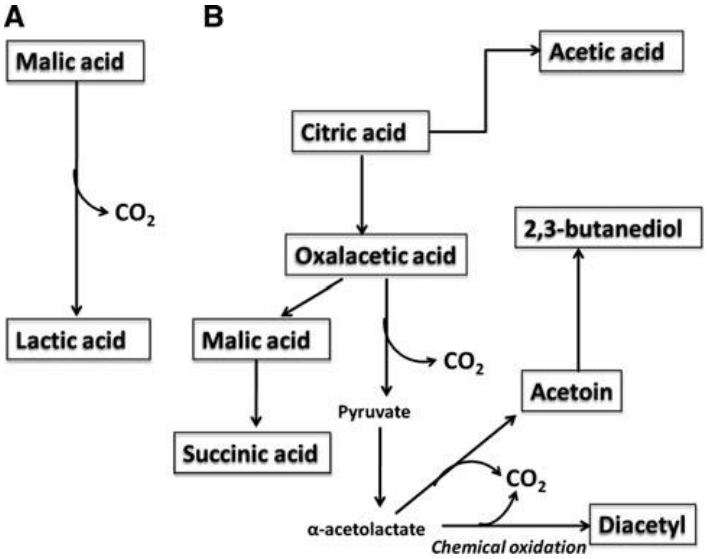
desagradáveis como hospital ou medicinal, celeiro ou estábulo, que resulta de altas concentrações de etil fenóis (SWIEGERS *et al*., 2005). Combinações glicosídicas de 4-vinilguiacol, 4-vinilfenol e eugenol podem existir em certas variedades de uvas. Acetovanilona, etil vanilato e metil vanilato são descritos como tendo um caráter baunilha e picante. Vinilfenóis (4-vinilguiacol, 4-vinilfenol) em vinhos brancos e etilfenóis (4-etilguiacol, 4-etilfenol) em vinhos tintos são, quantitativamente, os fenóis voláteis mais significativos identificados como componentes clássicos do aroma do vinho. Eles aparecem em concentrações de 0 a 6047 µg/l em vinhos e podem produzir *off flavours f*enólicos, frequentemente descritos como animal, estábulo, suor de cavalo, medicinal ou hospital, quando presentes acima de seus limiares de percepção. Os *off flavours f*enólicos dos vinhos tintos desenvolvem-se mais frequentemente durante o envelhecimento e especialmente em vinhos armazenados em barris velhos e raramente sifonados (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Muitos compostos de enxofre estão associados a descritores negativos, que incluem repolho, ovo podre, enxofre, alho, cebola e borracha (4MMP, H_2S, metanotiol, etanotiol), enquanto alguns podem contribuir com aromas positivos para o vinho, como morango, maracujá e toranja (tiazol, 3MH e 3MHA). Porém, provavelmente, o composto de enxofre mais conhecido no vinho é o H_2S, um tiol altamente volátil que confere um aroma de ovo podre e tem um limiar de percepção muito baixo. Devido à ocorrência frequente deste composto e ao baixo limiar de percepção (50-80 µg/l), este é provavelmente um dos problemas mais comuns associados à vinificação (SWIEGERS *et al*., 2005).

A degradação química dos pesticidas que contêm enxofre (por exemplo, acefato) também pode ser a causa de substâncias sulfurosas com odor ativo, como o metilmercaptano (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

Assim como os aromas descritos acima são produzidos pela fermentação alcóolica, outros aromas são produzidos durante a FML. Este processo é normalmente realizado por bactérias de ácido láctico isoladas do vinho, incluindo *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus spp., Leuconostoc spp*. e *Pediococcus spp*. Durante a FML, as bactérias do ácido láctico podem influenciar o aroma e o *flavor* do vinho, produzindo metabólitos voláteis e modificando compostos aromáticos derivados de uvas e leveduras (figura 8).

Figura 8 - Produção de metabólitos voláteis da FML



Fonte: Styger; Prior; Bauer (2011)

Verificou-se que a fermentação malolática pode aumentar o aroma frutado e a nota amanteigada, mas reduz o aroma vegetal do vinho. Além disso, características de *flavor* atribuídas a vinhos submetidos a esta segunda fermentação incluem florais, nozes, levedura, carvalho, suado, picante, torrado, tostado, baunilha, esfumaçado, terroso, amargo, amarelado e mel. Além do aroma, também se acredita que a FML aumenta o corpo e a sensação na boca do vinho e dá um sabor mais longo. Observou-se que a concentração de vanilina, um potente composto aromático, aumentou durante a FML em barris de carvalho. Muito estudo ainda é necessário sobre o efeito da produção de éster pelas bactérias do ácido láctico durante a FML, mas evidências indicam que ésteres etílicos, como acetato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila, são formados durante a FML. O impacto mais importante que esta fermentação tem no aroma do vinho é o aumento do sabor amanteigado dos vinhos. Isto é principalmente o resultado da produção de compostos carbonílicos ou cetônicos, incluindo diacetil, acetoína, e 2,3-butanodiol a partir do metabolismo do ácido cítrico pelas bactérias do ácido láctico através de várias reações nas quais a citrato liase desempenha um papel (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

3.8.6 *Flavores* Provenientes de Fase de Pós-Fermentação

O envelhecimento dos vinhos leva à perda dos aromas característicos ligados à varietal e à fermentação da uva, e há formação de novos aromas característicos de

vinhos mais antigos ou aromas atípicos associados à deterioração do vinho. Especificamente, as concentrações de ésteres etílicos alteradas, durante o envelhecimento em barrica e nas borras (principalmente células de levedura residuais), diminuíram as concentrações de compostos voláteis conferindo aroma frutado, aumentando álcoois de cadeia longa e voláteis ácidos. Curiosamente, também foi demonstrado que as borras podem remover alguns dos fenóis voláteis desagradáveis do vinho devido às suas qualidades biossorventes. A autólise é de importância enológica porque, como as células lisam, eles liberam vários componentes celulares para o vinho. Alguns desses componentes podem conter nitrogênio, aminoácidos, peptídeos e proteínas. Um aspecto importante desses componentes, é a presença de manoproteínas, pois estas macromoléculas de leveduras desempenham um papel fundamental no equilíbrio coloidal dos vinhos. As manoproteínas, liberadas durante a fermentação alcoólica e a autólise de leveduras, têm sido particularmente estudadas nos últimos anos por sua capacidade de melhorar a estabilidade tartárica (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011; COMUZZO *et al*., 2006).

Adicionalmente, as características estruturais da madeira, tais como, o grão, porosidade e permeabilidade, e sua composição química, incluindo polifenóis, taninos e compostos voláteis, podem influenciar os processos bioquímicos complexos que ocorrem durante o envelhecimento oxidativo do vinho em barris, mudando a composição do vinho e adicionando à sua estabilidade. A extração simples de compostos aromáticos (voláteis e polifenóis) e taninos da madeira pode adicionar uma riqueza e complexidade ao aroma e *flavor* dos vinhos (STYGER; PRIOR; BAUER, 2011).

3.9 INFLUÊNCIA DAS LEVEDURAS

As características ou especificidades das leveduras e fermentação são os fatores mais importantes que influenciam os *flavores* do vinho. Ambas as fermentações espontâneas e inoculadas do vinho são afetadas pela diversidade de leveduras associadas à vinha e à adega. Enquanto os metabólitos voláteis contribuem para o *bouquet* de fermentação presente a todos os vinhos jovens, os níveis de produção destes subprodutos são variáveis e a levedura é específica. Portanto, há importância em desvendar a riqueza oculta de espécies de leveduras nativas presentes nas uvas e a seleção e desenvolvimento genético de linhagens de levedura

com melhores perfis de sabor. A influência que as leveduras terão no sabor do vinho depende de vários fatores. O método de colheita da uva (manual ou mecânica), transporte (tempo, temperatura e adição de sulfito) e as condições das uvas (temperatura, adição de sulfito, higiene, aeração, tratamento enzimático, método de clarificação) afetam o conteúdo microbiano do mosto (LAMBRECHTS, PRETORIUS, 2000).

Estudos investigando leveduras indígenas e culturas *starter* comerciais mostraram que existem diferenças significativas na composição química dos vinhos resultantes (MORA; BARBAS; MULET, 1990; SADOUDI *et al*., 2012; LONGO *et al*., 1992; GAFNER *et al*., 1993; LLEIXÀ *et al*., 2016; LEMA *et al*., 1996; EGLI *et al*., 1998; HENICK-KLING *et al*., 1998; MORATA *et al*., 2012; MARTIN *et al*., 2016; RENAULT *et al*., 2016; PINA *et al*., 2004; STRAUSS *et al*., 2001; TOFALO *et al*., 2011; CIANI *et al*., 2010; ROJAS *et al*., 2001; JOLLY; AUGUSTYN; PRETORIUS, 2003; MENDOZA *et al*., 2009).

Wlodarczyk *et al*. (2012) avaliaram 120 leveduras isoladas das cultivares de uva *Cabernet Franc, Ancellota* e *Tannat* de vinhedos da região de Pinto Bandeira, Bento Gonçalves (RS) na safra de 2012 e determinaram que 64,2% das linhagens isoladas não produziram H_2S, apesar de somente 13,3% unirem os atributos de alta velocidade de fermentação e baixa produção de H_2S (WLODARCZYK *et al*., 2012).

Côrrea *et al*. (2015) avaliaram o perfil sensorial de vinhos elaborados por fermentação espontânea e com o uso de levedura autóctone e comercial; concluiu-se que a levedura que conduz o processo fermentativo teve influência direta no perfil sensorial (CORRÊA *et al*., 2015).

Mendes-Ferreira *et al*. (2002) estudaram uma grande seleção de leveduras de vinho comercial, além de leveduras não *Saccharomyces*, que, quando testadas sob condições fisiológicas idênticas, tinham todas as mesmas características de crescimento, mas variavam na produção de H_2S. Após a fermentação em mostos de uva, as cepas de levedura poderiam ser classificadas como não produtoras de H_2S, produtoras dependentes da composição do mosto e produtoras invariáveis (MENDES-FERREIRA; MENDES-FAIA; LEAO, 2002).

Varela *et al*. (2009) realizaram análises químicas, demonstrando que somente os produtos de fermentação de levedura mostraram diferenças entre os tratamentos de inoculação (tabela 4). Os álcoois superiores apresentaram concentrações significativamente maiores em vinhos de fermentação espontânea. No geral, os vinhos

feitos por fermentação espontânea apresentaram maiores concentrações de álcoois superiores e menores concentrações de ésteres de acetato em comparação com os vinhos de fermentação inoculados (VARELA *et al*., 2009).

Tabela 4 - Comparação de Compostos Voláteis em Leveduras Selvagens e Inoculadas

Composto	Selvagem	Inoculada	Significância
2-Metilpropanol (mg/l)	42 ± 10†	20 ± 3	***
Butanol (mg/l)	1.4 ± 1.1	1.0 ± 0.3	ns
2-metilbutanol (mg/l)	36 ± 7	21 ± 3	***
3-metilbutanol (mg/l)	13 ± 3	12 ± 2	ns
Hexanol (mg/l)	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.7	ns
2-Feniletanol (mg/l)	30 ± 13†	24 ± 11†	ns
Ácido acético (mg/l)	406 ± 143†	320 ± 129†	ns
Ácido propanoico (mg/l)	1.3 ± 0.1	1.9 ±0.5	**
Ácido 2-metilpropanóico (µg/l)	767 ± 331	452 ± 92	*
Ácido butanóico (mg/l)	1.8 ± 0.8	1.8 ± 1.1	ns
Ácido 2-metilbutanóico (mg/l)	5.2 ± 2.9†	2.9 ± 1.1	*
Ácido 3-metilbutanóico (µg/l)	203 ± 130	279 ± 69	ns
Ácido hexanóico (mg/l)	4.1 ± 0.4	5.1 ± 1.2	*
Ácido octanóico (mg/l)	7.0 ± 0.8	8.1 ± 1.3	*
Ácido decanóico (mg/l)	3.2 ± 0.7	2.9 ± 0.6	ns
Acetato de etila (mg/l)	85 ± 22†	70 ± 171†	ns
Propanoato de etila (µg/l)	204 ± 42	382 ± 92	***
2-metilpropanoato de etila (µg/l)	73 ± 28†	43 ± 9†	**
Lactato de etila (mg/l)	36 ± 32†	24 ± 15†	ns
Butanoato de etila (µg/l)	588 ± 224†	506 ± 114†	ns
2-metilbutanoato de etila (µg/l)	8.2 ± 5.0†	7.1 ± 1.8†	ns
3-metilbutanoato de etila (µg/l)	12 ± 7†	14 ± 5†	ns
Hexanoato de etila (mg/l)	1.0 ± 0.1†	1.2 ± 0.2†	*
Octanoato de etila (mg/l)	1.8 ± 0.3†	1.8 ± 0.3†	ns
Decanoato de etila (mg/l)	2.2 ± 0.7†	1.2 ± 0.4†	***
Dodecanoato de Etila (mg/l)	3.1 ± 2.5†	0.5 ± 0.5	**
Acetato de 2-metilpropila (µg/l)	88 ± 54	50 ± 26	ns
Acetato de 2-metilbutila (µg/l)	55 ± 45	65 ± 29	ns
Acetato de 3-metilbutila (mg/l)	1.2 ± 0.7†	2.0 ± 0.7†	*
Acetato de hexila (µg/l)	42 ± 39	139 ± 66	**

Acetato de 2-feniletila (µg/l)	115 ± 98	174 ± 194	ns
Álcoois superiores (mg/l)	243 ± 58	191 ± 21	*
Ácidos voláteis (mg/l) ‡	24 ± 5	24 ± 5	ns
Ésteres (mg/l) §	85 ± 46	112 ± 28	ns
Ésteres de etila (mg/l) §	83 ± 46	111 ± 28	ns
Ésteres de acetato (mg/l)	1.5 ± 0.8	2.4 ± 0.8	*

*, **, *** indicam significância em P <0,05, P <0,01, P <0,001, respectivamente.
† Indica concentração maior que o limiar de percepção.
‡ Os ácidos voláteis não incluem ácido acético.
§ Ésteres e ésteres etílicos não incluem acetato de etila e lactato de etila.
ns, não significativo.
Fonte: Adaptado de Varela *et al*. (2009)

Para reproduzir industrialmente as impressões digitais microbianas das fermentações espontâneas, evitando os riscos associados às fermentações descontroladas, muitos grupos de pesquisa têm proposto o uso de linhagens indígenas, isoladas de ambientes específicos e selecionadas com base em propriedades tecnológicas e características de qualidade, como ferramenta estratégica para os vinicultores interessados em unir inequivocamente um vinho ao seu ambiente de produção. Ainda, alguns produtores de vinho podem preferir usar misturas de espécies de leveduras nativas e linhagens de *S. cerevisiae* adaptadas como culturas *starter* para refletir a biodiversidade e a distinção estilística de uma determinada região. Isso ajudará os produtores de vinho a satisfazer a demanda do consumidor por vinhos individuais com caráter local intacto e a garantir a sobrevivência do aspecto mais cativante do vinho - sua ampla diversidade de tipos (COMITINI, 2017; LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000).

3.10 TERROIR

3.10.1 Conceito

Definir o conceito de *terroir* é, segundo Gladstones (2011), uma tarefa ambiciosa, porém, necessária para levar à uma compreensão mais completa do conceito. Para entender o funcionamento do *terroir*, é essencial levar em consideração as interações entre os fatores que contribuem para ele. O *terroir* pode ser descrito como a relação entre a qualidade, o sabor e o estilo de um vinho, bem como sua

origem geográfica, que pode influenciar estas características. Além, pode ser caracterizado como a junção de múltiplos fatores envolvidos, como o clima, o solo, a cultivar, as leveduras naturais e até o fator humano, como as práticas utilizadas pelos produtores da região (GLADSTONES, 2011; VAN LEEUWEN; SEGUIN, 2006).

Além, o *terroir* é todo o ambiente natural do vinho, a combinação de clima, topografia, geologia e solo que suportam o seu crescimento e as características das suas uvas e vinhos. Levedura local e outras microfloras também podem desempenhar um papel. Também, os atributos sensoriais do vinho são influenciados diretamente pelo *terroir* (VAN LEEUWEN, 2010; GLADSTONES, 2011).

Ainda, nas definições modernas, a International Organisation of Vine and Wine (OIV) define que:

> O *terroir* vitivinícola é um conceito que se refere ao espaço reconhecido como capaz de conferir características distintivas a produtos dali originários, graças às características físicas e biológicas localmente identificadas, bem como às práticas vitivinícolas ali realizadas (OIV, 2010 apud JORGE, 2016, p.15).

3.10.2 Indicações Geográficas

A região da Serra Gaúcha, principalmente na cidade de Bento Gonçalves, é reconhecida pelo seu grande número de vinícolas, com várias que utilizam o título DO (denominação de origem).

“Tanto a Indicação de Procedência quanto a Denominação de Origem são classificações que pertencem a uma Indicação Geográfica.” (APROVALE, 2010, p. 9)

A região do Vale dos Vinhedos foi a primeira no Brasil a adquirir a Indicação de Procedência, em 2002, indicação geográfica que remete ao nome do país, cidade, região ou localidade que tenha estabelecido uma ótima reputação como local produtor de vinho. A região, em 2012, também adquiriu a classificação de Denominação de Origem, que “quando é reconhecida passa a ser o “nome” deste produto, onde todos os detalhes como qualidade, estilo, sabor, se relacionam à terra, às pessoas e à história da região” (APROVALE, 2010, p. 9) são considerados e, que estabelece que toda a produção de uvas e o processamento da bebida seja realizada na região delimitada do Vale dos Vinhedos.

As diferenças entre Indicação de Procedência e Denominação de Origem são muitas. Porém, a mais importante é a de que a Denominação de Origem, que, além

de remeter ao nome da localidade, é mais rigorosa quanto ao controle da qualidade, estilo e sabor do vinho elaborado em determinada região. Ainda, existem vários fatores para o controle de qualidade, garantindo também, a originalidade do vinho (APROVALE, 2010; CLUBE DOS VINHOS, 2014).

3.11 IMPACTO ECONÔMICO

A indústria do vinho atrai uma surpreendente atenção, dado o seu tamanho relativo. As videiras cobrem menos de 0,5% da terra cultivada no mundo e o vinho representa apenas 0,4% do consumo global das famílias - mas para milhões de investidores e centenas de milhões de consumidores, os produtos da indústria comandam um interesse intenso (SWIEGERS *et al.,* 2005).

No Brasil, a maior e mais importante região produtora de derivados da uva, incluindo vinhos, é a Serra Gaúcha, no estado do Rio Grande do Sul (PROTAS; CAMARGO; MELO, 2002). A produção dessa região é baseada na agricultura familiar, representada por aproximadamente 12 mil pequenas propriedades rurais que cultivam 31 mil hectares de vinhedos (NIEDERLE; VITROLLES, 2010). Anualmente, a produção vinícola deve-se a cerca de 600 produtores entre grandes empresas, cooperativas e cantinas familiares que conjuntamente industrializam 350 milhões de litros de vinho (NIEDERLE, 2009). As principais variedades cultivadas atualmente são *Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Merlot, Tannat* e *Pinot Noir*, ganhando importância em área cultivada desde o início dos anos 80 (FILHO, 2016).

Os produtores de vinho estão a enfrentar uma concorrência crescente provocada por um aumento da distância entre a produção de vinho e o consumo de vinho; uma mudança das preferências do consumidor, de vinho de base para vinho de qualidade superior; e globalização econômica. Enquanto os consumidores modernos buscam qualidade, a indústria do vinho globalmente alcançou quantidade. Os consumidores dão prioridade à compra de vinhos cujos produtores oferecem uma "experiência sensorial" agradável e reconhecível (SWIEGERS *et al.,* 2005).

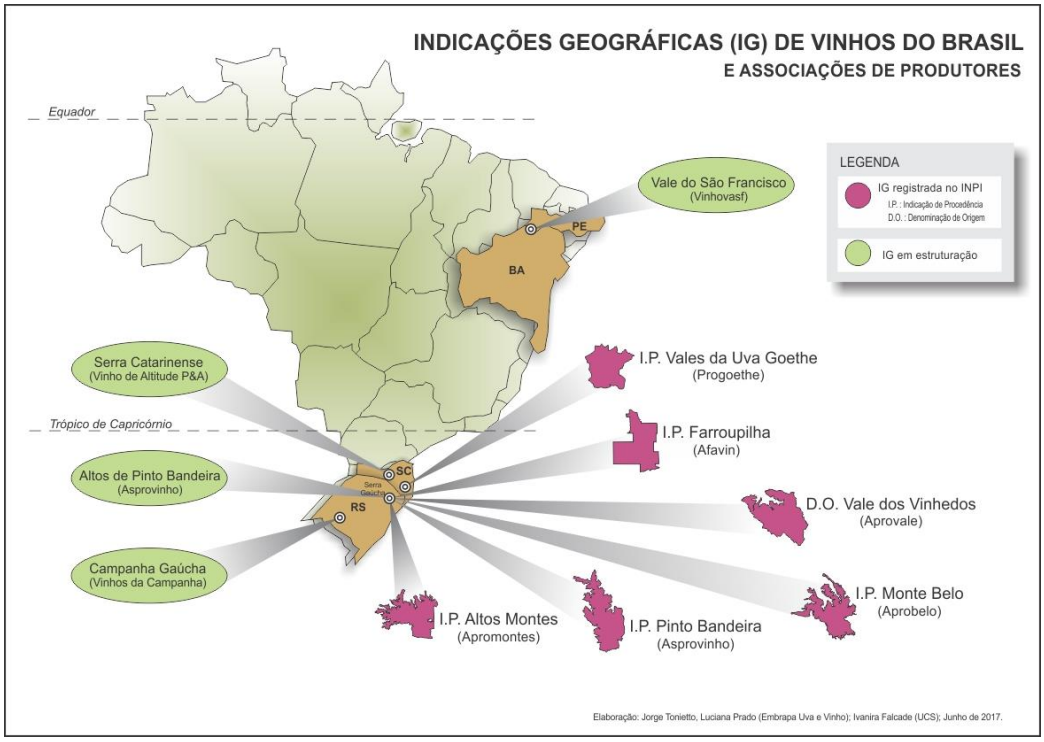
Recentemente, pesquisas vem surgindo estabelecendo uma relação direta entre a qualidade do produto e as características diferenciadas do *terroir* (NIEDERLE; VITROLLES, 2010). Há um crescimento no consumo dos vinhos “*terroir*” ou com “denominação de origem” (SANTIAGO, 2018), que “concentra uma região geográfica delimitada pois cada uma tem características naturais e humanas específicas, que

fazem com que a bebida tenha a origem garantida e reconhecida” (IBRAVIN, 2019, p. 1).

O vinho é uma das mercadorias que estabelecem uma ponte com seu local de origem, este agregando um diferencial qualitativo, sendo um dos atributos do produto. Ao comprar uma garrafa de vinho, o consumidor não compra somente a mercadoria, mas, embutido no custo de produção e lucro, há histórias de vida, paisagens próprias, elementos naturais próprios. A crescente valorização destes atributos diferenciados impulsiona os pesquisadores a um melhor entendimento do *terroir* como um recurso a ser utilizado para a promoção econômica do produto, até mesmo para um local ou região (BLUME, 2008). Tradicionalmente, os consumidores assimilam o termo “*terroir*” com qualidade, o que deu um impulsionamento no mercado deste tipo de vinho (BERNETTI; CASINI; MARINELLI, 2006). A assimilação do termo com qualidade vem das características diferenciadas, provenientes das distintas regiões e cultivares de uva, o que agrega diversidade ao mercado, causando um maior interesse neste segmento e, devido a esta analogia à qualidade, o mercado de vinhos “*terroir*” tem sido crescente (GLADSTONES, 2011). “Quando a combinação sensorial é fortuita a ponto de diferenciar o produto, tornando-o uma exclusividade, outros mecanismos de formação de preço podem incidir sobre este para uma valorização também diferenciada.” (BLUME, 2008, p. 119).

Além, “a valorização do ecossistema e aumento da competitividade do vinho refere-se, no caso brasileiro, à possibilidade da produção de vinhos de qualidade em regiões demarcadas, através da implementação das indicações geográficas”. (TONIETTO, 2002, p. 1). Após a concretização da Lei de Propriedade Industrial nº 9.279 em 1996, o Brasil teve a possibilidade de proteção legal das indicações geográficas para seus produtos vitivinícolas. A região do Vale dos Vinhedos obteve a Indicação de Procedência em 2002 e depois, cumpriu com todas as exigências referentes à Denominação de Origem, em 2012 (IBRAVIN, 2019). Bem como a região do Vale dos Vinhedos, outros centros produtores de vinho obtiveram e/ou estão buscando certificações quanto à Indicação Geográfica, ilustrado no mapa (figura 9) abaixo (EMBRAPA UVA E VINHO, 2017).

Figura 9 - Indicações Geográficas (IG) de Vinhos do Brasil e Associações de Produtores



Fonte: Embrapa Uva e Vinho (2017)

3.12 ANÁLISES REALIZADAS EM VINHOS

A determinação da massa seca, realizada por gravimetria, é uma das análises utilizadas para a determinação da concentração celular dos mostos, um dos parâmetros cinéticos mais importantes de uma fermentação.

Além desta, outras análises físico-químicas e cromatográficas são descritas a seguir.

3.12.1 Análises Físico-Químicas

De acordo com Meneguzzo (2010, p. 17):

> As análises da composição clássica correspondem a um conjunto de determinações físico-químicas efetuadas nos vinhos espumantes, e que informam sobre a qualidade geral, tanto sob o aspecto visual, como olfativo e gustativo. Essas análises indicam também sobre o enquadramento ou não desses vinhos nos padrões de identidade e qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O teor alcóolico de um vinho é um dos tipos de análises que são efetuadas para atender à classificação conforme a legislação, quadro (figura 10) a seguir; assim como o teor de açúcar, que pode ser estimado baseado em medições de grau brix (ºBx), grau Babo ou densidade.

Quanto à acidez de um vinho, a avaliação é efetuada através da determinação do pH, da acidez total e da VA, devendo estar dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação. A grande diferença entre essas três avaliações são os compostos ácidos que são avaliados. O pH analisa a concentração de íons de hidrogênio (H+) presentes na amostra, enquanto a acidez total verifica e quantifica a presença de ácidos como o tártárico, málico e lático e a acidez volátil verifica o ácido acético, que confere 90% de toda a acidez volátil presente em um vinho (MENEGUZZO, 2010).

Figura 10 - Quadro dos Parâmetros da Legislação de Álcool Etílico, Acidez Total e Acidez Volátil

	Máximo	Mínimo
Álcool etílico, em graus GL, a 20ºC	13,0	10,0
Acidez total em meq / l	130,0	55,0
Acidez volátil (corrigida) em meq / l	20,0	-.-

Fonte: Adaptado de Brasil, 1988

Conforme Art. 29, da Instrução Normativa (IN) nº 14 de 08 de fevereiro de 2018, a turbidez é admitida proveniente da manutenção das leveduras de fermentação no vinho de mesa, vinho fino, vinho nobre e espumante engarrafado, mas somente desde a estabilidade esteja garantida e a segurança do produto e esta informação esteja corretamente descrita na rotulagem dos produtos (BRASIL, 1988).

Para definição tanto de cor, quanto de corpo de um vinho, a análise de índice compostos fenólicos totais é realizada. O Índice de Polifenóis Totais (IPT) corresponde ao conjunto de todos os compostos fenólicos do vinho (RIZZON, 2010) e se mostra como uma das maneiras de se conhecer o potencial antioxidante desta classe de compostos no vinho (ARCHELA; DALL'ANTONIA, 2013); enquanto as análises de cor determinam as antocianinas, flavonoides, entre outros. Cada tipo de composto de cor absorve um tipo de comprimento de onda no momento em que a amostra é submetida a análise de absorbância e transmitância em espectrofotômetro, sendo: 420 nm, mais relacionado a região de compostos amarelos/castanhos e, consequentemente, com vinhos mais envelhecidos; 520 nm, mais relacionado a região de compostos

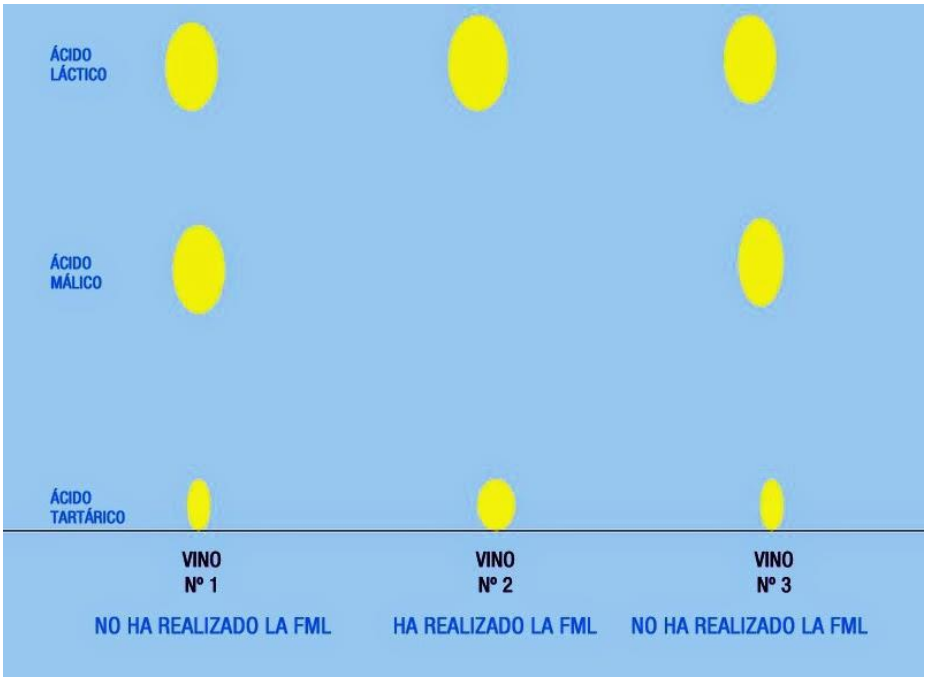
vermelhos e a vinhos jovens; ou 620 nm, componente azul dos vinhos que corresponde as quinonas das antocianinas livres e combinadas (SANTOS, 2011).

3.12.2 Análises Cromatográficas

A cromatografia em papel é uma das técnicas utilizadas para a determinação qualitativa da fermentação malolática. Esta permite verificar o andamento da FML de forma eficiente, fácil execução e baixo custo (DAUDT, 1971).

A figura 11 exemplifica o resultado da análise. Conforme a conversão do ácido málico em ácido lático, há ou não a formação de *spots* ou “manchas” no papel.

Figura 11 - Ilustração dos Resultados da Cromatografia em Papel



Fonte: Luz (2018)

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um tipo de cromatografia de adsorção onde o material adsorvente fica sobre um vidro, alumínio ou filme plástico (BRONDANI, 2016).

Segundo Brondani (2016, p. 1):

> Esta técnica consiste em uma fase estacionária fixada em uma placa (de vidro ou alumínio) e uma fase móvel, que é composta por um solvente ou combinação de solventes, chamado eluente. A amostra a ser analisada é aplicada sobre esta fase estacionária, que é um adsorvente.

4 METODOLOGIA

Para melhor organização, a metodologia foi dividida em itens. Os itens 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13, referentes às determinações de VA, turbidez, IPT e características cromáticas, respectivamente, foram realizadas no Laboratório de Enoquímica da Vinícola Salton, no distrito de Tuiuty, no munícipio de Bento Gonçalves, localizado no estado do Rio Grande do Sul.

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

O local de realização do trabalho foi o Laboratório de Química da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, na Unidade Universitária do munícipio de Bento Gonçalves, localizado no estado do Rio Grande do Sul, para acondicionamento das amostras e realização da maioria das análises.

Algumas análises foram realizadas no Laboratório de Enoquímica na Vinícola Salton, como mencionado anteriormente, e os mostos foram retirados da cantina da Vinícola Lídio Carraro em duas datas distintas, nos dias 20 de março de 2019 e 03 de julho de 2019.

4.2 UVA

As uvas *Vitis vinifera* utilizadas para a produção dos vinhos, são da variedade Cabernet Sauvignon, oriundas da propriedade da vinícola Lídio Carraro, situada no Vale dos Vinhedos, no município de Bento Gonçalves. A vinícola possui hectares de parreirais, cultivando uvas para a elaboração de vinhos finos, tanto no município de Bento Gonçalves, quanto no de Encruzilhada do Sul. As uvas foram classificadas como AA e o sistema de condução utilizado no parreiral é o de espaldeira.

Figura 12 - Fotografia do Parreiral da Vinícola Lídio Carraro

Fonte: Autor (2019)

4.3 LEVEDURA COMERCIAL

A levedura comercial, *Saccharomyces cerevisae*, adquirida foi a ZYMAFLORE® F15, da marca francesa Laffort. Essa levedura é para a produção de vinhos tintos frutados, expressivos, arredondados e bem equilibrados com bom paladar (produção elevada de glicerol). É adequada para a vinificação de mostos com concentrações potencialmente elevadas de álcool, especialmente *Merlot, Cabernet Sauvignon* e *Zinfandel*; além de estar qualificada para a elaboração de produtos para consumo humano direto no domínio da utilização regulamentada em enologia. Como características enológicas, a levedura apresenta tolerância ao álcool de até 16%v/v, tolerância à temperatura de fermentação de 20 a 32°C, possui requisitos médios de nitrogênio e tem baixa produção de VA e H_2S. Como características aromáticas e organolépticas, a levedura apresenta alta produção de glicerol, boa expressão varietal e respeita a tipicidade varietal (BÖRLIN *et al*., 2016; LAFFORT, 2018).

4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O mosto de Cabernet Sauvignon foi inoculado com leveduras comerciais no dia 18 de março de 2019; no mosto com leveduras autóctones, de acordo com os dados experimentais do acompanhamento da fermentação, houve a fermentação espontânea que começou 3 dias depois. No dia 20 de março de 2019, 2 litros de ambas as amostras foram coletados, acondicionados em garrafões, e levados ao Laboratório de Química da Uergs – Unidade Universitária em Bento Gonçalves.

Os 2 L de cada tipo de amostra foram fracionados em 4 Erlenmeyers de 500 ml, ilustrados na figura 13, vedados com rolha para evitar o contato das amostras com oxigênio. As amostras foram identificadas como A1, A2, A3 e A4 para as amostras de leveduras autóctones e C1, C2, C3 e C4 para as amostras de leveduras comerciais.

Figura 13 - Fotografia do Procedimento Experimental no Estágio Inicial

Fonte: Autor (2019)

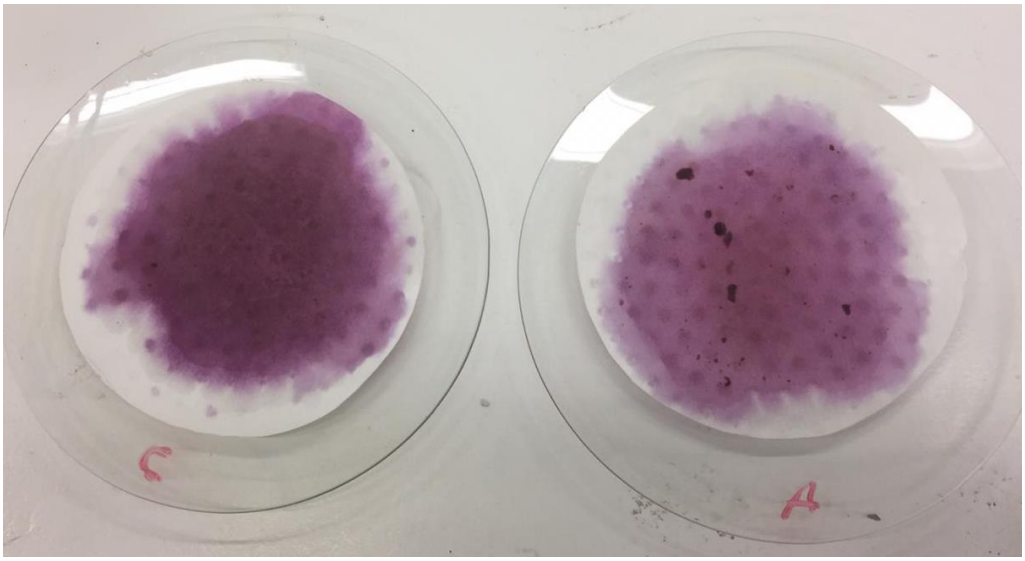
Primeiramente, as amostras foram acondicionadas em banho maria (SOLAB/SL-153), com controle de temperatura ambiente a 25°C, e, posteriormente, acondicionadas em incubadora, em mesma temperatura, pois a faixa entre 25ºC e 30ºC. A mudança de equipamento para fermentação ocorreu devido a problemas no funcionamento do banho maria. A temperatura foi mantida até o fim da fermentação alcóolica e depois, houve a mudança para 19°C, para um melhor controle e condicionamento da fermentação malolática.

Após a FML ter sido parcialmente completa em laboratório e completa na vinícola, novas amostras foram coletadas da vinícola para comparação dos vinhos fermentados em laboratório e vinhos fermentados em escala industrial, na data de 03 de julho de 2019. A adição de SO_2, na data da coleta, já havia sido realizada em cantina para estabilização dos microrganismos presentes no mosto do vinho. Nas amostras laboratoriais, a adição desse composto não foi realizada, pela quantidade pequena de amostras acondicionadas nos Erlenmeyers.

4.5 DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO CELULAR

A concentração celular foi determinada por massa seca, dividida pelo volume de amostra. Conforme método de Steckelberg (2001), adaptado por Guidini (2013), uma amostra de 15mL foi retirada dos Erlenmeyers, centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos. O centrifugado foi então lavado três vezes com água destilada, filtrado a vácuo e transferido para a estufa a 85 ± 5°C, pesado em diferentes tempos até massa constante. O valor da massa seca foi obtido pela diferença da massa do sedimento e a do papel filtro (GUIDINI, 2013; STECKELBERG, 2001).

Figura 14 - Fotografia do Resultado da Análise de Gravimetria Antes da Fermentação



Fonte: Autor (2019)

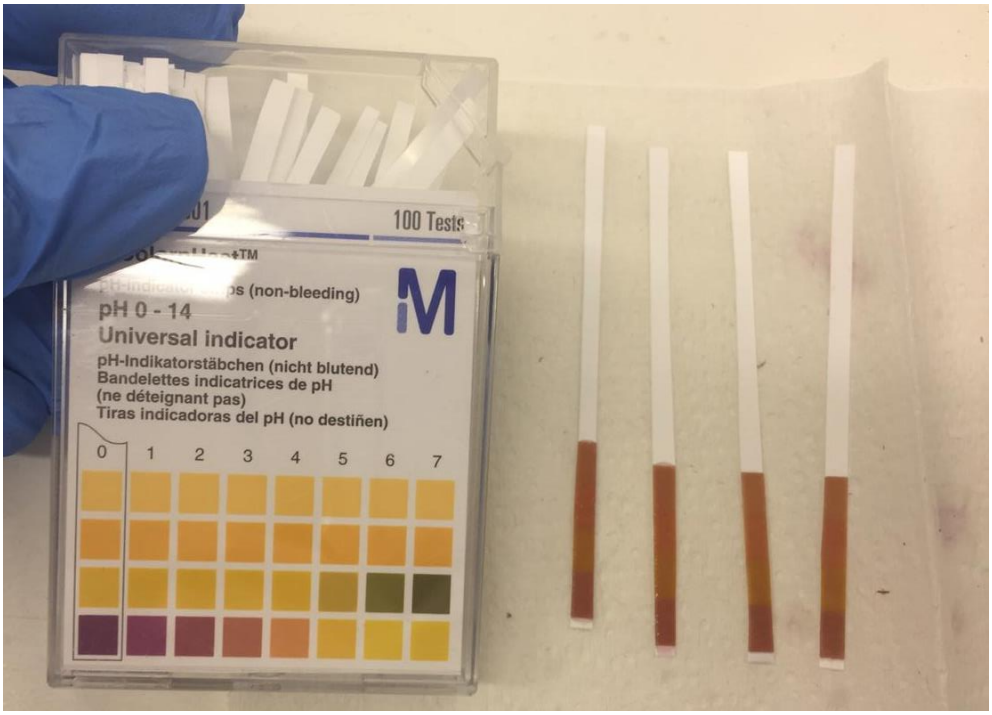
4.6 DETERMINAÇÃO DE DENSIDADE

Os dados da concentração de açúcar e álcool foram obtidos pela relação com os valores da densidade calculada por densímetro.

4.7 DETERMINAÇÃO DE pH

As determinações de pH foram feitas por fitas de pH (Indicador Universal), MColorpHast™ (Merck), em período diário durante a fermentação alcóolica.

Figura 15 - Fotografia das Fitas de pH após Análise



Fonte: Autor (2019)

4.8 DETERMINAÇÃO DE GRAU BRIX

O grau brix do mosto foi verificado por meio de refratômetro manual (ATC/RHB32), em período diário durante a fermentação alcóolica.

4.9 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL

Alíquotas de 10 ml das quatro repetições foram tituladas com NaOH 0,1 mol/L, utilizando-se azul de bromotimol como indicador. Essa análise foi realizada em período diário durante as 2 primeiras semanas da fermentação malolática e, posteriormente, realizada em período semanal, por conta da estabilização da acidez.

As quatro análises a seguir, itens 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13, foram realizadas na vinícola Salton, sem acompanhamento direto da autora. As análises foram realizadas somente uma vez, na 1ª semana de julho de 2019 e tiveram como objetivo a comparação entre os vinhos fermentados em laboratório e os vinhos fermentados em cantina na Vinícola Lídio Carraro, coletados e acondicionados em Erlenmeyers de 500 ml, no dia 03 de julho de 2019.

4.10 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ VOLÁTIL

As determinações de acidez volátil foram realizadas segundo BRASIL, 2005 (MAPA) e OIV, 2018a.

4.11 DETERMINAÇÃO DE TURBIDEZ

A turbidez foi realizada por meio de turbidímetro (DELLAB/DLT-WV).

4.12 DETERMINAÇÃO DE ÍNDICE DE POLIFENÓIS TOTAIS

A determinação de índice de polifenóis totais foi realizada conforme descrita por RIZZON, 2010.

4.13 DETERMINAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS

As determinações de características cromáticas foram realizadas segundo OIV, 2018b.

4.14 CROMATOGRAFIA EM PAPEL

A cromatografia em papel foi realizada conforme descrita por Rizzon, 2010. Essa análise foi realizada em período semanal durante a fermentação malolática. Primeiramente, a fase móvel foi preparada em capela de exaustão de gases, 20ml da solução 1 (10 mL de água destilada e 10 mL de ácido acético glacial 50%) foram adicionados no béquer e logo, 50mL da solução 2 (butanol com 10 $g.l^{-1}$ de azul de bromofenol (solução 1%) foram adicionados. A solução foi selada e deixada saturar por 30 minutos. Enquanto isso, a folha de papel Whatman nº1 foi cortada e marcada a lápis. Os pontos foram medidos de acordo com a quantidade de amostras. As amostras foram coletadas com capilares de vidro e aplicadas no papel. Após a secagem com secador, o processo de aplicar a amostra no papel repetiu-se por mais 5 vezes. Após secagem completa, o papel foi colocado na fase móvel com cuidado para não encostar nas bordas do béquer. A corrida durou cerca de 3 a 4 horas. Após este período o papel foi retirado do béquer e seco em capela de exaustão de gases. Após secos, os papéis foram fotografados (RIZZON, 2010).

4.15 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A CCD foi realizada segundo Cordonnier (1956), método adaptado pela autora. Essa análise foi realizada duas vezes, pós-fermentação, para verificação da presença de terpenos nas amostras de vinhos. Placas de gel de sílica de 0,2 mm foram cortadas em aproximadamente 4 cm x 7 cm. A fase móvel foi preparada em capela de exaustão de gases e a solução foi composta de 15 ml de hexano e 1 ml de acetato de etila. Os pontos foram marcados a lápis conforme o número de amostras. As amostras foram coletadas com capilares de vidro e aplicadas no papel. Após secar, a placa de sílica foi colocada na fase móvel com cuidado. A corrida durou cerca de 4 a 7 minutos. Após este período, a placa foi retirada da fase móvel e revelada em iodo por aproximadamente 2 minutos. Após este período, a placa foi retirada do vidro com o revelador e foi fotografada (CORDONNIER, 1956).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no trabalho foram considerados parciais, pois, para se alcançar todos os objetivos propostos no projeto preliminar a este, de Iniciação Científica, algumas análises ainda serão realizadas futuramente, sendo estas: análise sensorial, Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*) e Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*).

A determinação da massa seca foi feita antes e depois da fermentação dos vinhos. Utilizando a massa seca, pode-se estimar a concentração celular, ao realizar a razão da massa seca (em g) pelo volume do mosto (em l), conforme tabela 5.

Tabela 5 - Concentração celular antes e depois da fermentação

Antes da Fermentação			
Amostra C	Concentração Celular (em g/l)	Amostra A	Concentração Celular (em g/l)
1 min	0,0806	1 min	0,03
2 min	0,055	2 min	0,0288
Depois da Fermentação			
Amostra C	Concentração Celular (em g/l)	Amostra A	Concentração Celular (em g/l)
2 min	1,9396	2 min	1,6918
1 min	2,2792	1 min	2,054

Fonte: Autor (2019)

Houve um aumento na concentração celular dos vinhos, confirmando a reprodução da microbiota presente nos mostos, tanto inoculada quanto autóctone, além das bactérias láticas, durante a fermentação (alcóolica e autóctone). A análise utilizada para determinação da concentração celular não foi a mais ideal, pois existem outras análises como o método espelhado de contagem de células, onde não só poderia se obter a concentração celular como também o número de células vivas e mortas nas amostras.

A densidade dos mostos das uvas de Cabernet Sauvignon, com leveduras autóctones e inoculado com leveduras comerciais, respectivamente, eram inicialmente de 1,093 e 1,092 g/ml e, ao final da fermentação malolática, 0,9937 e

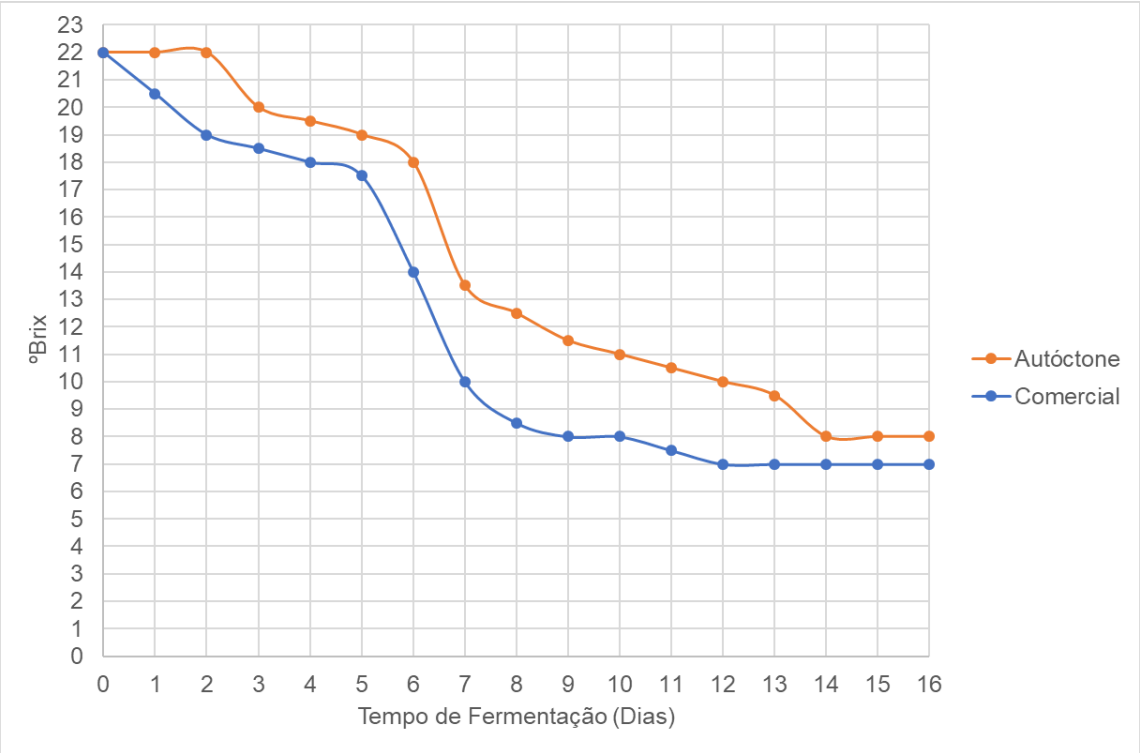
0,9935, indicando uma conversão da glicose presente na uva, mais densa, pelo álcool, produto da fermentação, que é menos denso.

O teor alcoólico dos mostos iniciais era de 0%v/v, pois a fermentação alcóolica ainda não tinha ocorrido. Ao final da FML, os teores alcóolicos foram novamente medidos e, para o vinho fermentado por leveduras comerciais, o resultado foi de 12.38%v/v e para o vinho fermentado por leveduras autóctones, o resultado foi de 13.29%v/v, indicando que estes podem se adequar à classe de vinhos finos; tanto pela graduação alcóolica estar dentro dos padrões, quanto pela sanidade da uva, tanto pela variedade Cabernet Sauvignon, de grupo nobre.

O pH foi verificado durante a fermentação alcóolica, sendo considerado um parâmetro de medição para um bom andamento da fermentação. O pH das 8 amostras se manteve entre 3 e 4, sendo feitas médias aritméticas entre as 4 amostras de vinhos fermentados por leveduras comerciais e entre as 4 amostras de vinhos fermentados por leveduras autóctones, para os resultados mostrados. O desejado foi em torno de 3,2, pois este valor é considerado ótimo para uma boa conservação do produto (RODRIGUES, 2013), podendo ocorrer pequenas variações.

O ºBx foi também medido durante a fermentação alcóolica até se manter constante em ambas as amostras, indicando o fim desta primeira fermentação, sendo feitas médias aritméticas entre as 4 amostras de vinhos fermentados por leveduras comerciais e entre as 4 amostras de vinhos fermentados por leveduras autóctones para os resultados mostrados. Foi observada uma maior rapidez na fermentação alcóolica do vinho fermentado por leveduras comerciais, pois o ºBx tornou-se constante no décimo segundo dia de fermentação, estabilizando-se em 7 e, possivelmente, este resultado deve-se à inoculação das leveduras ao invés da utilização da fermentação espontânea e, consequentemente, das leveduras autóctones.

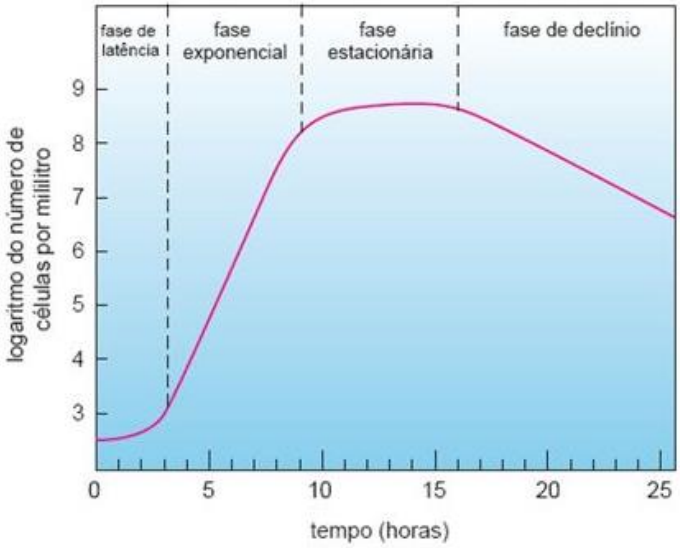
Gráfico 1 - Brix por Tempo de Fermentação Alcóolica



Fonte: Autor (2019)

Pode-se relacionar o gráfico 1 acima, de decrescimento do ºBx por tempo de fermentação em dias com o gráfico de crescimento microbiano, ilustrado abaixo (gráfico 2) (INGRAHAN; INGRAHAN, 2010).

Gráfico 2 - Fases de Crescimento de uma Cultura Microbiano Típica



Fonte: Ingrahan; Ingrahan (2010)

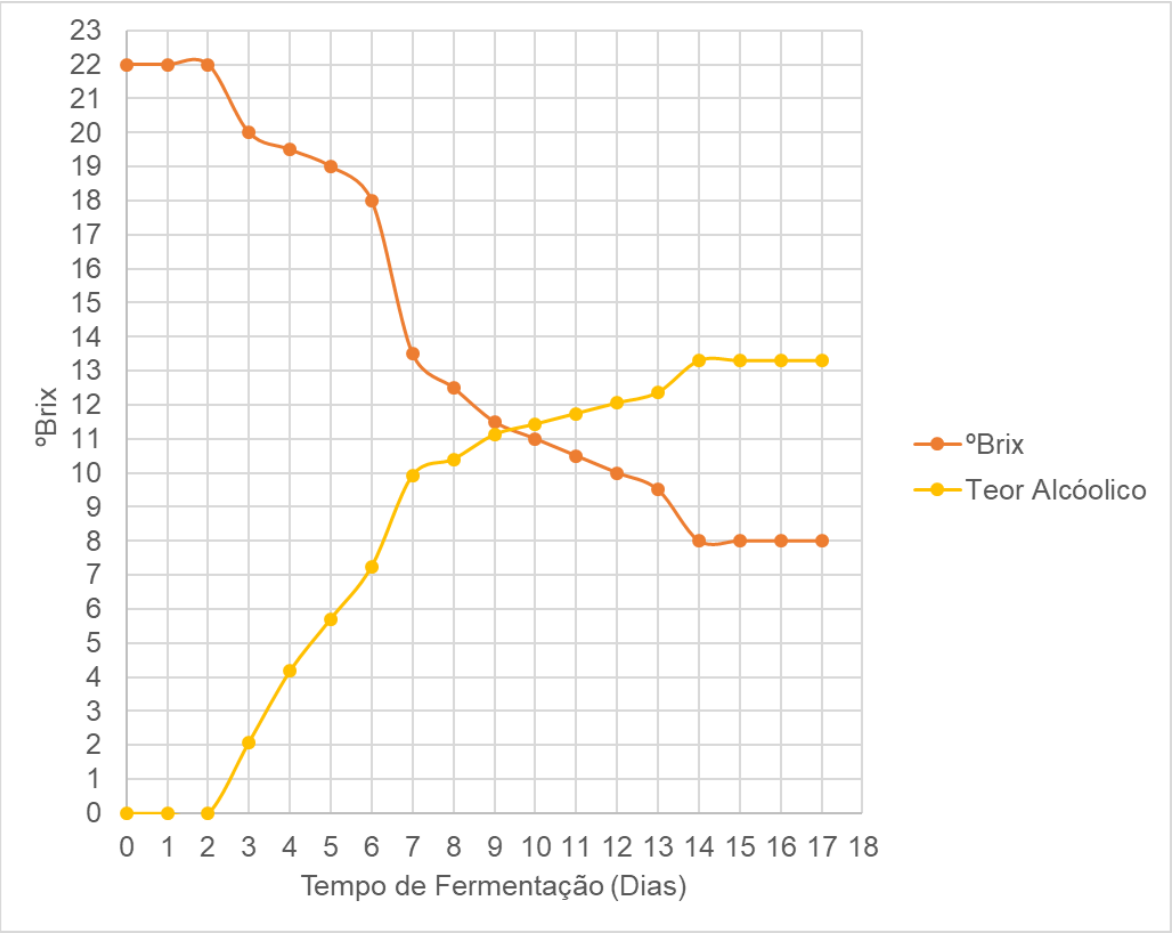
Devido a inoculação da levedura comercial, *Saccharomyces cerevisae*, presumivelmente, a fase de latência do crescimento microbiano deste microrganismo foi diminuta (gráfico 1) , graças à alta efetividade em realizar a fermentação alcóolica, proveniente da seleção genética que é efetuada em leveduras produzidas em laboratório. Portanto, desde os primeiros dias de fermentação, a taxa de consumo foi constante, diminuindo o açúcar disponível no mosto conforme o aumento da concentração celular. Comparativamente, nota-se que o ºBx manteve-se constante nos primeiros dias de fermentação do mosto com leveduras autóctones, demonstrando que houve uma fase de latência mais significativa, demorando-se 2 dias de fermentação para um aumento considerável do número de células.

Coincidentemente, em ambos os casos, há uma diminuição da concentração de açúcar em uma taxa relativamente constante, indicando a fase exponencial de crescimento microbiano; e, dos dias 5 a 7 de fermentação, uma maior queda na concentração de açúcar, possivelmente relativa à fase estacionária do crescimento microbiano, onde há uma taxa máxima de conversão de açúcar em álcool e ápice de concentração celular.

A fase de declínio pode ser relacionada aos 4 a 5 últimos dias de fermentação, onde o teor alcóolico é maior enquanto que, a quantidade de açúcar e outros nutrientes é menor, dificultando a sobrevivência das leveduras e, consequentemente, diminuindo a taxa de conversão até que esta se mantenha constante, indicando o término da fermentação alcóolica.

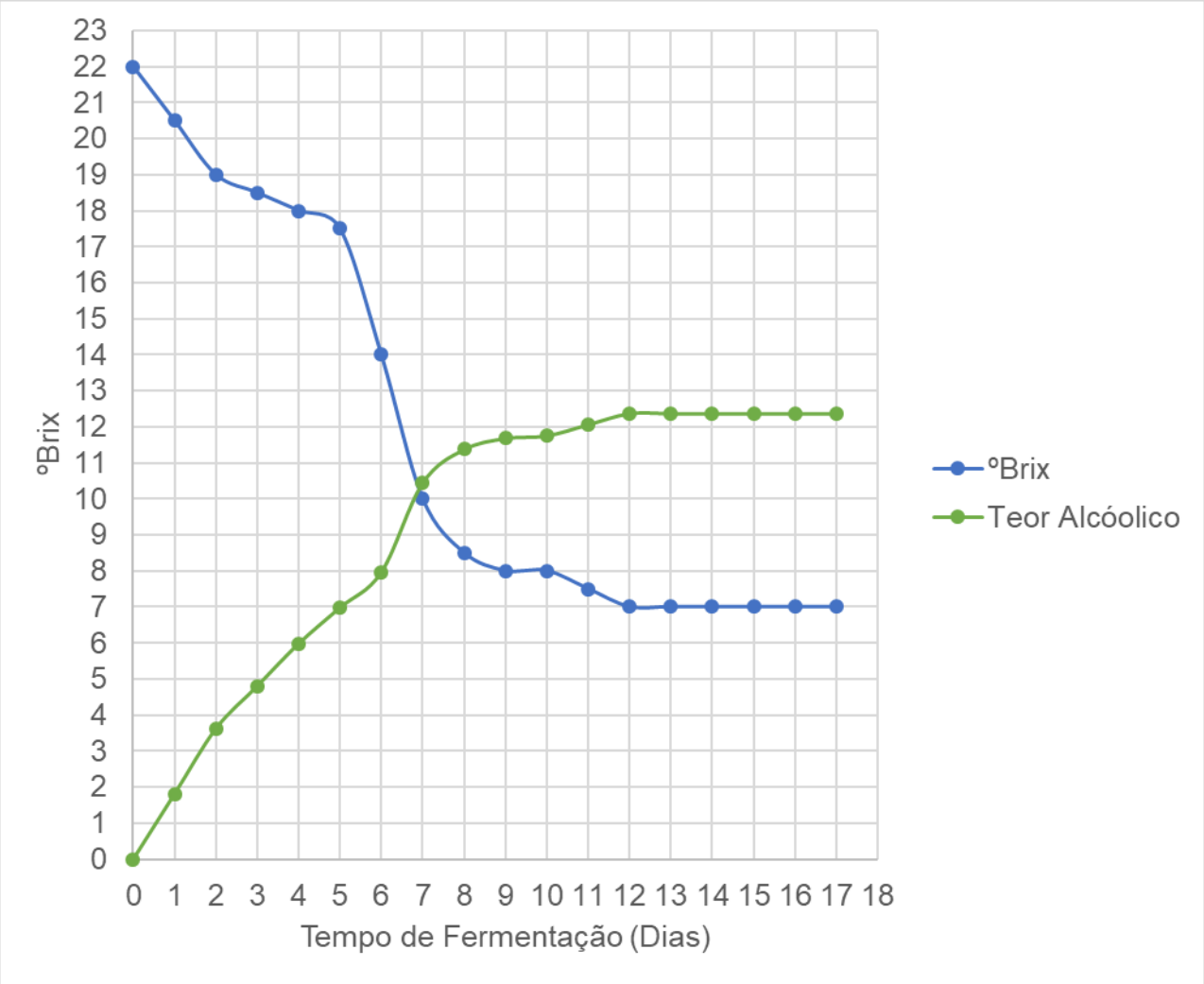
Conforme equações de conversão, baseadas em testes experimentais, expostas por Musther (2018) no VinoCalc, ferramenta disponível on-line, estimativas de conversão de açúcar em álcool baseadas no ºBx foram realizadas, demonstradas nos seguintes gráficos (MUSTHER, 2018).

Gráfico 3 - Estimativa de Conversão de Açúcar em Álcool - Autóctone



Fonte: Autor (2019)

Gráfico 4 - Estimativa de Conversão de Açúcar em Álcool - Comercial

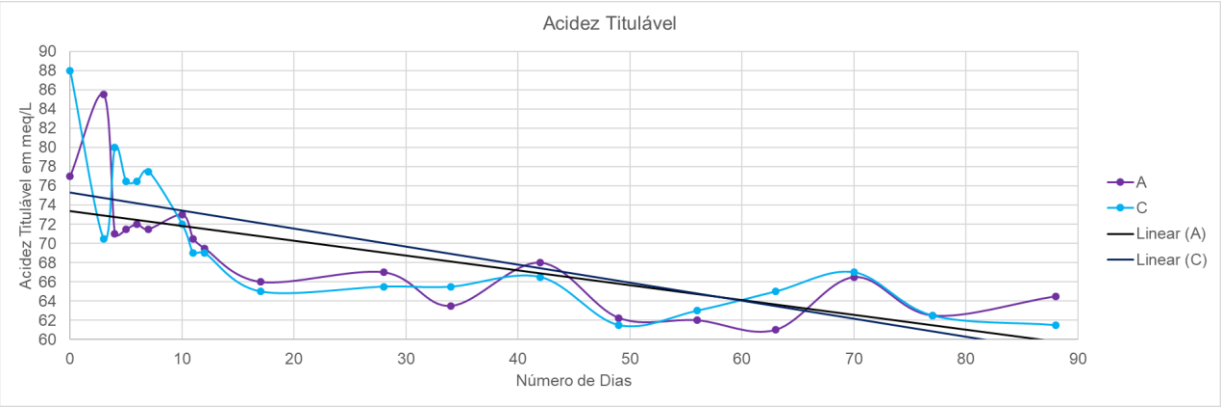


Fonte: Autor (2019)

A acidez titulável foi medida durante a fermentação malolática para controle da mudança de acidez conforme a fermentação ocorria.

Observou-se, conforme esperado, a diminuição da acidez titulável, em mEq/L, do início até o fim da fermentação, com uma queda de, aproximadamente, 12,5 e 26,5 mEq/L, para as amostras de vinhos fermentados por leveduras autóctones e vinhos fermentados por leveduras comerciais, respectivamente (gráfico 5). Indicando a conversão de ácido málico, um ácido mais forte, em ácido lático, um ácido mais fraco; diminuindo assim, a acidez total dos vinhos.

Gráfico 5 - Acidez Titulável por Tempo de Fermentação Malolática



Fonte: Autor (2019)

Ou seja, a fermentação malolática ocorreu, como esperado, num período de aproximadamente 88 dias. Além disso, a fermentação malolática iniciou mais rapidamente nos vinhos fermentados por leveduras autóctones do que em vinhos fermentados por leveduras comerciais. Possivelmente, isto é devido à maior diversidade de microrganismos na amostra de vinho de fermentação espontânea.

Por conseguinte, a acidez titulável dos vinhos fermentados em laboratório e dos vinhos fermentados na vinícola é mostrada na tabela 6 a seguir.

Tabela 6 - Acidez Total das Amostras de Vinhos Fermentados em Laboratório e na Vinícola

AMOSTRAS	ACIDEZ TOTAL (MEQ/L)
A – LABORATÓRIO	77,95
C – LABORATÓRIO	76,63
A – VINÍCOLA	64,17
C – VINÍCOLA	63,60

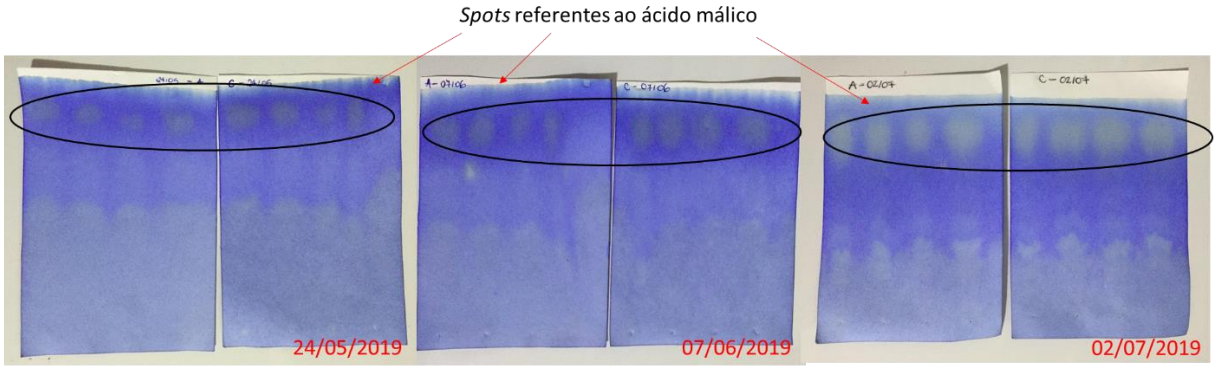
Fonte: Autor (2019)

Estes dados apresentam uma superioridade nas amostras fermentadas na vinícola, pois a acidez total é menor, caracterizando uma melhor FML. As quatro amostras estão nos parâmetros da legislação para esse fator.

As cromatografias em papel realizadas indicaram o andamento da FML nas quadruplicatas de forma qualitativa.

Conforme a figura 16, o aumento da intensidade de *spots* na borda superior do papel, enquanto há uma menor intensidade nos *spots* presentes no meio do papel, aponta um andamento e posterior finalização da FML.

Figura 16 - Fotografias referentes à análise de cromatografia em papel



Fonte: Autor (2019)

Dentre as análises de acidez volátil, a amostra laboratorial A, que representa vinhos fermentados por leveduras autóctones, não está em conformidade com a legislação (tabela 7).

Tabela 7 - Acidez volátil das amostras de vinhos fermentados em laboratório e na vinícola

ACIDEZ VOLÁTIL

AMOSTRA	mEq/L	g/l	Legislação	Teor Ácido Acético
A LAB	20,02	1,202	x	x
C LAB	13,43	0,806	✓	x
A VIN	12,02	0,721	✓	x
C VIN	8,71	0,523	✓	✓

Fonte: Autor (2019)

As outras amostras, apesar de estarem em conformidade, apresentam um teor de ácido acético desagradável, acima de 0,7 g/l, com exceção da amostra da vinícola C, que representa vinhos fermentados por leveduras comerciais. Este teor é considerado pelo fato deste composto representar 90% da VA medida em vinhos

(tabela 7). Pode-se atribuir o maior teor de ácido acético nas amostras de vinhos fermentados por leveduras autóctones à presença de acetobactérias, também conhecidas por bactérias acéticas. Essas bactérias necessitam de oxigênio para realizar a fermentação acética, que se baseia na produção de ácido acético e pode acabar transformando o vinho em vinagre. Além, as amostras laboratoriais têm um maior teor de ácido acético também por conta do maior contato com o O_2 para a amostragem feita para realização das análises. Por conta disto, é necessário um monitoramento da presença de acetobactérias e do contato do vinho com o O_2.

A turbidez nas três amostras, amostra laboratorial A, amostra laboratorial C e amostra da vinícola A indicam que a quantidade de células suspensas e materiais orgânicos é baixa, o que é um bom indicador da qualidade do vinho (tabela 8)

Tabela 8 - Turbidez das amostras de vinhos fermentados em laboratório e na vinícola

AMOSTRA	TURBIDEZ
A LAB	102 NTU
C LAB	106 NTU
A VIN	116 NTU
C VIN	335 NTU

Fonte: Autor (2019)

.

Os índices de polifenóis totais nas amostras fermentadas na vinícola foi maior do que os índices nas amostras fermentadas em laboratório (tabela 9). Portanto, podemos considerar que as amostras fermentadas nas vinícolas têm mais corpo, além de mais cor, como discutido abaixo, do que as amostras fermentadas em laboratório. Outro benefício também pode ser associado ao IPT: a capacidade antioxidante do vinho, um elemento qualitativo.

Tabela 9 - Índice de Polifenóis Totais

AMOSTRA	IPT
A LAB	18,0
C LAB	13,2
A VIN	42,8
C VIN	37,9

Fonte: Autor (2019)

Das características cromáticas, os resultados obtidos, após as análises de absorbâncias medidas em 420, 520 e 620 nm, estão demonstrados na tabela 10 abaixo.

Tabela 10 - Análises Cromáticas das Amostras de Vinhos Fermentados em Laboratório e na Vinícola

AMOSTRA	A LAB	C LAB	A VIN	C VIN
A420 (amarelos)	0,108	0,102	0,224	0,201
A520 (vermelhos)	0,09	0,099	0,258	0,238
A620 (azuis)	0,034	0,023	0,072	0,066

Fonte: Autor (2019)

A partir destes resultados preliminares, a intensidade, a tonalidade e as porcentagens de pigmento foram calculadas (tabela 11). Os vinhos fermentados na vinícola, A (VIN.) e C (VIN.), têm maior intensidade de cor, possivelmente, isto esteja atrelado ao fato de que estes vinhos foram fermentados em tanques inox, sem nenhum contato com a luz; o que indica uma maior extração na cantina. Já os vinhos fermentados em laboratório, além de serem fermentados em Erlenmeyers, foram retirados da incubadora semanalmente para as análises laboratoriais, sendo expostos a luz.

Tabela 11 - Intensidade, Tonalidade e Porcentagens de Pigmentos das Amostras de Vinhos Fermentados em Laboratório e na Vinícola

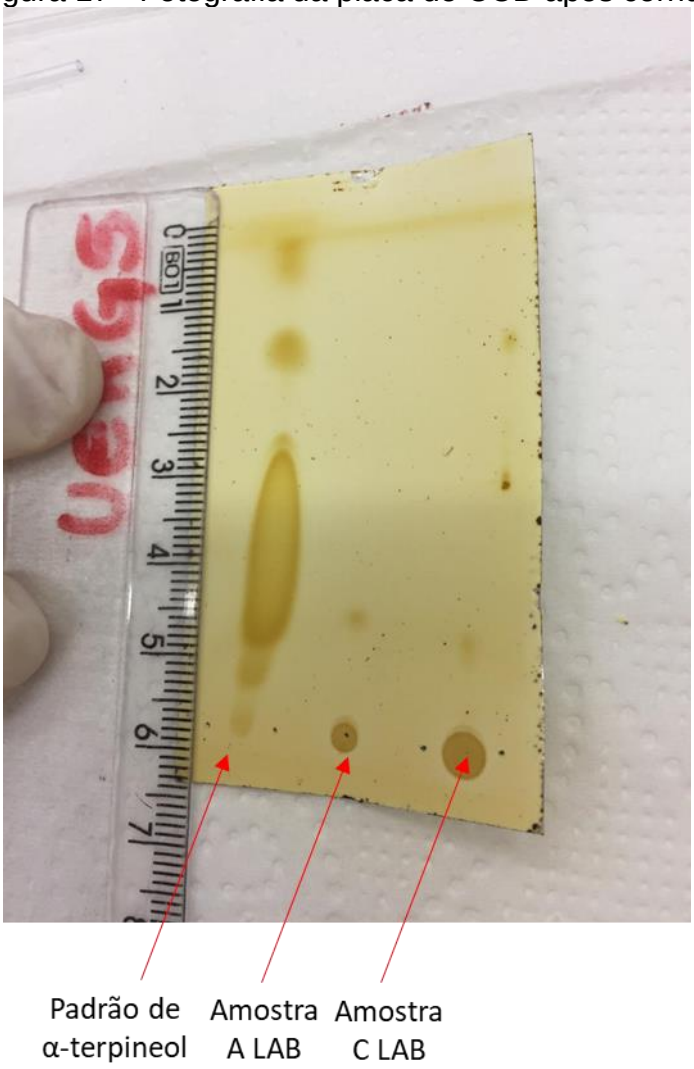
AMOSTRA	I	T	%Am	%Ver	%Az
A (LAB.)	0,232	1,2	46,55	38,79	14,66
C (LAB.)	0,224	1,03	45,54	44,20	10,27
A (VIN.)	0,554	0,87	40,43	46,57	13,00
C (VIN.)	0,505	0,84	39,80	47,13	13,07

Fonte: Autor (2019)

Além da exposição à luz, os vinhos fermentados em laboratório também foram expostos ao oxigênio, pela necessidade de abertura dos Erlenmeyers para amostragem, embora semanalmente e de forma rápida. Esses fatores de exposição podem estar relacionados à menor porcentagem de pigmento vermelho, quando comparado ao pigmento amarelo, nos vinhos fermentados em laboratório. Segundo Santos (2001, p. 63) “(...) as reações de oxidação que transformam a estrutura e a cor das diferentes moléculas, temos a degradação das antocianinas, que provoca a diminuição dos valores de A520 (...)”, explicando assim, a menor porcentagem de pigmentos vermelhos nas amostras de vinhos fermentados em laboratório.

Resultados parciais foram obtidos ao se realizar a CCD. Este método cromatográfico foi utilizado para verificar a viabilidade de se comparar os terpenos produzidos nos vinhos por este método mais simples e barato de análise. Futuramente, outros terpenos serão testados por GC-MS. Pode-se observar a presença de *spots* ou manchas referentes às amostras de vinho, dentro da variação de altura do *spot* padrão de terpineol. Possivelmente, no padrão, há diferentes formas isoméricas do composto terpineol, além de maior concentração. Porém, é possível afirmar que há quantidade de alguma forma isomérica de terpineol nas amostras de vinhos fermentados em laboratório por leveduras comerciais e autóctones.

Figura 17 - Fotografia da placa de CCD após corrida



Fonte: Autor (2019)

Além, nota-se uma mancha levemente mais concentrada e uniforme na corrida referente ao vinho fermentado por leveduras autóctones, o que pode ser relacionado aos resultados encontrados por Varela *et al*. (2009).

6 VIABILIDADE ECONÔMICA

Os vinhos elaborados com o propósito de acentuar as características de *terroir* têm seu valor agregado, pelo seu caráter único em relação a sua região. Da região do Vale dos Vinhedos, na Serra Gaúcha, bem conhecida por seu grande número de vinícolas e pelo selo de Denominação de Origem do Vale dos Vinhedos (DOVV), vinhos fermentados naturalmente por leveduras autóctones estão presentes, apesar de em esmagadora minoria. Os vinhos que, de certa maneira, possuem *terroir* e têm o selo DOVV estão presentes no mercado com valores de R$76 a R$549, dependendo do seu tipo e safra. Já os vinhos comerciais, sem *terroir* e/ou indicação geográfica, têm um alcance no mercado muito maior, por serem considerados múltiplos fatores e, por isto, têm uma grande variação em seus valores. Os vinhos produzidos pelo Vale dos Vinhedos têm valores mínimos de, aproximadamente, R$29. O valor médio situa-se entre R$55 e R$75.

Apesar do valor agregado, não só no custo, mas também na qualidade e diferenciação do produto, a quantidade de vinhos produzidos para serem considerados vinhos *terroir* ao final do seu processo ainda é diminuto ao ser comparado com a quantidade de vinhos comerciais. Isso deve-se à múltiplos fatores como os riscos associados ao uso de leveduras selvagens ou indígenas; a alta qualidade e sanidade das uvas a serem utilizadas; a burocracia na aquisição dos selos de indicação de procedência e denominação de origem; a institucionalização da raridade e o perfil do consumidor deste tipo de vinho, com um poder aquisitivo maior.

Desse modo, o presente projeto pode vir a beneficiar os produtores de vinho do estado do Rio Grande do Sul, especialmente a região da Serra Gaúcha, pela importância, porém, não só estas regiões, visto que a busca por Indicações Geográficas vêm sido realizada em todo o país, nos centros produtores de vinho. O projeto estabelece uma relação entre as leveduras autóctones da região e o *terroir*, valorizando a utilização de microrganismos endêmicos ao local de origem para elaboração do vinho, diferenciando-o, podendo conferir qualidade e aumentar o valor agregado dos vinhos produzidos na região. Vale ressaltar que o uso de leveduras autóctones pode agregar qualidades sensoriais e diferenciadas ao vinho contanto que haja um controle fitossanitário e que os produtos finais estejam dentro dos parâmetros legislativos.

7 CONCLUSÕES

Conforme resultados obtidos e evidências coletadas durante o projeto, pode-se concluir que:

- Não há diferenças significativas no processo de fermentação de vinhos por leveduras autóctones e comerciais, ambos os vinhos necessitam dos mesmos insumos e técnicas de processamento;
- A fermentação alcóolica nos vinhos fermentados por leveduras comerciais foi mais rápida do que em vinhos fermentados por leveduras autóctones;
- A fermentação malolática iniciou mais rapidamente nos vinhos fermentados por leveduras autóctones do que em vinhos fermentados por leveduras comerciais. Com isto, conclui-se que a vinificação acompanhada por amostragem em laboratório com Erlenmeyers não é o melhor método para microvinificação;
- As amostras fermentadas na vinícola formaram vinhos melhores qualitativamente do que as amostras fermentadas em laboratório, com elementos como cor, corpo (relacionados aos compostos fenólicos e características cromáticas) e menor acidez volátil;
- Foi possível detectar que houve a produção de terpineol em ambas as amostras de vinhos fermentados em laboratório por leveduras comerciais e autóctones, demonstrando que é possível analisar terpenos nos vinhos por essa técnica;
- Acidez Volátil
- Os resultados que serão obtidos em análises futuras de análise sensorial, CG-MS e HPLC abrirão caminhos para investigações mais aprofundadas.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para um maior desenvolvimento e alcance de todos os objetivos propostos no presente trabalho, sugere-se que:

- Uma nova amostragem dos vinhos fermentados por leveduras comerciais e dos vinhos fermentados por leveduras autóctones seja realizada para análise de CG-MS, assim identificando e quantificando os compostos aromáticos presentes em ambos os vinhos, podendo-se assim, realizar uma análise comparativa mais completa;
- Uma nova amostragem dos vinhos fermentados por leveduras comerciais e dos vinhos fermentados por leveduras autóctones seja realizada para análise sensorial destes vinhos, para que se possa relacionar as notas e aromas identificados sensorialmente com os compostos aromáticos, obtidos por GC-MS. Desta forma, agregar à análise comparativa;
- Uma nova amostragem dos vinhos fermentados por leveduras comerciais e dos vinhos fermentados por leveduras autóctones seja realizada para análise de HPLC, assim identificando e quantificando os ácidos e compostos fenólicos presentes nos vinhos, podendo-se assim, realizar uma análise comparativa mais completa;
- Numa nova safra, realizar novas amostragens para análise dos parâmetros fermentativos, como taxas de reprodução celular, consumo de substrato e produção de etanol, podendo-se assim medir os rendimentos e velocidade das reações fermentativas de ambas as leveduras, tanto as comerciais quanto as autóctones;
- Definir com mais clareza e precisão as diferenças entre os vinhos fermentados por leveduras autóctones e leveduras comerciais e quais os benefícios da utilização de vinhos fermentados por leveduras autóctones ao produtor de vinho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONELLI, A. et al. Yeast influence on volatile composition of wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 3, p. 1139–44, 1999.

APROVALE. **Manual da Indicação Geográfica do Vale do Vinhedos**. 2010.

ARCHELA, E.; DALL'ANTONIA, L. H. Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 34, n. 2, p. 193, 2013.

ASSIS, M. O. **IDENTIFICAÇÃO DAS LEVEDURAS ISOLADAS DE UVAS CULTIVADAS NO VALE DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO E SUA UTILIZAÇÃO NA FERMENTAÇÃO DO MOSTO DE UVA**. Salvador: 2012.

BAMFORTH, C. W. The Science Underpinning Food Fermentations. In: **Food, Fermentation and Micro-organisms**. Blackwell Publishing, 2005. p. 1–39.

BARON, M. et al. Terpene content of wine from the aromatic grape variety 'Irsai Oliver' (Vitis vinifera L.) depends on maceration time. **Open Life Sciences**, v. 12, n. 1, p. 42–50, 2017.

BERNETTI, I.; CASINI, L.; MARINELLI, N. Wine and globalisation: Changes in the international market structure and the position of Italy. **British Food Journal**, v. 108, n. 4, p. 306–315, 2006.

BISSON, L. F. The biotechnology of wine yeast. **Food Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 63–96, 2004.

BLUME, R. **Explorando os Recursos Estratégicos do Terroir para a Viticultura Brasileira**. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2008.

BÖRLIN, M. et al. Cellar-Associated Saccharomyces cerevisiae Population Structure Revealed High-Level Diversity and Perennial Persistence at Sauternes Wine Estates. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 82, n. 10, p. 2909–2918, 2016.

BRASIL. **LEI Nº 7.678, DE 8 DE NOVEMBRO DE 1988**. 1988. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/1980-1988/L7678.htm>. Acesso em: 11 jul. 2019.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 24, de 08 de setembro de 2005. Manual Operacional de Bebidas e Vinagres e Anexos.**Brasília, DF.Diário Oficial da União, , 2005.

BRONDANI, P. B. **Cromatografia de Camada Delgada (CCD)**. 2016. Disponível em: <http://nuquiocat.quimica.blumenau.ufsc.br/files/2016/07/Cromatografia-de-Camada-Delgada.pdf>.

CAPECE, A. et al. Diversity of Saccharomyces cerevisiae yeasts associated to spontaneously fermenting grapes from an Italian "heroic vine-growing area". **Food Microbiology**, v. 31, n. 2, p. 159–166, 2012.

CAPELLO, M. S. . et al. Characterization of Saccharomyces cerevisiae strains isolated from must of grape grown in experimental vineyard. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, n. 1274–1280, 2004.

CARDOSO, J. L. C. **Influência da inalação de metanol na farmacocinética enantiosseletiva da fluvastatina em ratos Influência da inalação de metanol na farmacocinética enantiosseletiva da fluvastatina em ratos**. Ribeirão Preto: 2008.

CHAVES, E. S. **INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CONDUÇÃO DO VINHEDO NO ÍNDICE DE POLIFENÓIS TOTAIS, TEOR DE ANTOCIANINAS E INTENSIDADE DE COR DE UVAS CABERNET SAUVIGNON (Vitis vinifera L.)**. Florianópolis: 2005.

CIANI, M. et al. Controlled mixed culture fermentation: A new perspective on the use of non-Saccharomyces yeasts in winemaking. **FEMS Yeast Research**, v. 10, n. 2, p. 123–133, 2010.

CLUBE DOS VINHOS, O. **Diferença entre Denominação de Origem e Indicação de Procedência**. 2014. Disponível em: <https://www.clubedosvinhos.com.br/diferenca-entre-denominacao-de-origem-e-indicacao-de-procedencia/>.

COMITINI, F. et al. New insights on the use of wine yeasts. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 44–49, 2017.

COMUZZO, P. et al. Yeast derivatives (extracts and autolysates) in winemaking: Release of volatile compounds and effects on wine aroma volatility. **Food Chemistry**, v. 99, n. 2, p. 217–230, 2006.

COPELLO, M. **Quantas uvas há no mundo?** 2017. Disponível em: <https://vejario.abril.com.br/blog/vinoteca/quantas-uvas-ha-no-mundo/>.

CORDONNIER, R. Recherches sur l'aromatisation et le parfum de vins doux naturels et des vins de liqueur. **Ann. Inst. Natl. Recherches Agron. Ser. E. Ann. Technol. Agric.**, v. 5, p. 75–110, 1956.

CORRÊA, O. L. S. et al. **Perfil Sensorial De Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e com o Uso de Culturas Iniciadoras Comercial e Autóctone**. XV Congresso Latino-Americano de Viticultura e Enologia. Bento Gonçalves: 2015

DAUDT, C. E. **Determinação da fermentação malolática em vinhos pela cromatografia em papel.Ciência Rural**, 1971.

EGLI, C. M. et al. Dynamics of indigenous and inoculated yeast populations and their effect on the sensory character of Riesling and Chardonnay wines. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, p. 779–789, 1998.

EMBRAPA UVA E VINHO. **Indicações Geográficas de Vinhos do Brasil**. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/uva-e-vinho/indicacoes-geograficas-de-vinhos-do-brasil>.

FILHO, W. G. V. **Bebidas Alcóolicas: Ciência e Tecnologia**. 2ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2016.

FLEET, G. H. Spoilage yeasts. **Critical Review in Biotechnology**, v. 12, n. 1–2, p. 1–44, 1992.

FLEET, G. H. .; HEARD, G. M. . Yeast-growth during fermentation. In: **Wine Microbiology and Biotechnology**. Harwood Academic Publishers, 1993. p. 27–54.

GAFNER, J. et al. **Neue Erkenntnisse zur Rolle von Hefen in der Weinbereitung**.

International Oenological Symposium. Montreux: 1993

GARDE-CERDÁN, T. . et al. Implications of nitrogen compounds during alcoholic fermentation from some grape varieties at different maturation stages and cultivation systems. **Food Chemistry**, v. 124, p. 106–116, 2011.

GAVA, A.; FICAGNA, E.; ROSSATO, S. B. Características fermentativas de leveduras comerciais em mosto de uva. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 3, n. 1, p. 01–09, 2017.

GLADSTONES, J. **Wine, Terroir and Climate Change**. Kent Town: Wakefield Press, 2011.

GUIDINI, C. Z. **Fermentação Alcoólica em Batelada Alimentada Empregando Saccharomyces cerevisiae de Características Floculantes Fermentação Alcoólica em Batelada Alimentada Empregando Saccharomyces cerevisiae de Características Floculantes**. Uberlândia: 2013.

GUTH, H. Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 3027–3032, 1997.

HENICK-KLING, T. et al. Selective effects of sulfur dioxide and yeast starter culture addition on indigenous yeast populations and sensory characteristics of wine. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 865–876, 1998.

HIGGS, D. **What is a wine grape variety?** 2019. Disponível em: <https://www.vinodiversity.com/what-is-a-wine-variety.html>.

HORSEY, I. **The Chemistry and Biology of Winemaking**. RCS Publishing, 2007.

IBRAVIN, B. V. D. B. **Denominação de origem em vinhos: você sabe o que é e qual a sua importância?** 2019. Disponível em: <https://qualidadenataca.vinhosdobrasil.com.br/blog/denominacao-de-origem-em-vinhos-voce-sabe-o-que-e-e-qual-a-sua-importancia/>.

INGRAHAN, J.; INGRAHAN, C. A. **Introdução à microbiologia uma abordagem baseada em estudos de casos**. 3rd ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

JOLLY, N. P.; AUGUSTYN, O. P. H.; PRETORIUS, I. S. The Effect of Non-Saccharomyces Yeasts on Fermentation and Wine Quality. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 24, n. 2, p. 55–62, 2003.

JOLLY, N. P.; VARELA, C.; PRETORIUS, I. S. Not your ordinary yeast: non-Saccharomyces yeasts in wine production uncovered. **FEMS yeast research**, v. 14, n. 2, p. 215–37, 2013.

JORGE, E. **Da casta ao Terroir: Posicionamento estratégico do vinho Alvarinho produzido na Sub-região de Monção e Melgaço para o mercado dos grandes vinhos brancos mundiais Eloi**. Porto: 2016.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. **The Yeast: A Taxonomic Study**. Amsterdam: Elsevier, 1998.

LAFFORT. **Zymaflore® F15**. 2018. Disponível em: <https://laffort.com/en/products/zymaflore-f15/>.

LAMBRECHTS, M. G.; PRETORIUS, I. S. Yeast and its importance to wine aroma: A review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 21 (Specia, n. January, p. 97- 129., 2000.

LEMA, C. et al. Contribution of Saccharomyces and non-Saccharomyces populations to the production of some components of Albarino wine aroma. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 47, p. 206–216, 1996.

LILLA, C. **Introdução ao Mundo do Vinho**. WWF Martins Fontes, 2016.

LIMA, U. A. et al. **Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e Enzimáticos**. 1a ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2001.

LLEIXÀ, J. et al. Comparison of fermentation and wines produced by inoculation of Hanseniaspora vineae and Saccharomyces cerevisiae. **Front Microbiology**, v. 7, p. 338, 2016.

LONGO, E. et al. Production of higher alcohols, ethyl acetate, acetaldehyde and other compounds by 14 S.cerevisiae strains isolated from the same region (Salnes, NW Spain). **World Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 8, p. 539–541, 1992.

LUZ, G. C. DA. **Seleção de Bactérias para Fermentação Malolática de Vinhos**. Caxias do Sul: 2018.

MACNEIL, K. **The Wine Bible**. 2nd ed. Workman Publishing, 2016.

MAMEDE, M. E. DE O.; PASTORE, G. M. AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DA FERMENTAÇÃO DE MOSTO DE UVA POR LEVEDURAS ISOLADAS DA REGIÃO DA “SERRA GAÚCHA” (RS). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 453–458, 2004.

MARCON, A. R. et al. Caracterização terpênica de vinhos da variedade Lorena. **REVISTA BRASILEIRA DE VITICULTURA E ENOLOGIA**, v. 3, p. 52–56, 2011.

MARTIN, V. et al. De novo synthesis of benzenoid compounds by the yeast Hanseniaspora vineae increases flavor diversity of wines. **Journal of Food Chemistry**, v. 64, p. 4574–7583, 2016.

MENDES-FERREIRA, A.; MENDES-FAIA, A.; LEAO, C. Survey of hydrogen sulphide production by wine yeasts. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1033–1037, 2002.

MENDOZA, L. M. et al. Influence of wine-related physicochemical factors on the growth and metabolism of non-Saccharomyces and Saccharomyces yeasts in mixed culture. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 229–237, 2009.

MIELE, A.; MANDELLI, F. Sistemas de condução da videira. In: VINHO, E. U. E (Ed.). . **Produção Integrada de Uva para Processamento**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. v. 3p. 41–49.

MIRANDA, F. W. **Os aromas dos vinhos**. 2016.

MORA, J.; BARBAS, J.; MULET, A. Growth of yeast species during the fermentation of musts inoculated with Kluyveromyces thermotolerans and Saccharomyces cerevisiae. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 41, p. 156–159, 1990.

MORATA, A. et al. Formation of pyranoanthocyanins by Schizosaccharomyces pombe during the fermentation of red must. **International Journal of Food Microbiology**, v. 159, p. 47–53, 2012.

MUSTHER, J. **VinoCalc**. 2018. Disponível em: <https://www.vinolab.hr/calculator/gravity-density-sugar-conversions-en19>.

NICOLLI, K. P. **Combinação de técnicas de análise sensorial e cromatográficas para caracterização da composição química de vinhos tintos da Campanha Gaúcha resultantes de diferentes manejos dos vinhedos e de tipos de solo**. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2017.

NIEDERLE, P. A. **Controvérsias sobre a noção de indicações geográficas enquanto instrumento de desenvolvimento territorial: a experiência do Vale dos Vinhedos em questão.** Congresso Brasileiro de Economia, Administração e Sociologia Rural. **Anais**...Porto Alegre: 2009

NIEDERLE, P. A.; VITROLLES, D. Indicações Geográficas e qualificação no setor vitivinícola brasileiro. **Estudos Sociais e Agrícolas**, v. 18, n. 1, p. 5–55, 2010.

OIV, I. O. O. V. A. W. **Viticulture Resolutions (Definition of viticulture terroir)**. 2010. Disponível em: <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/resolutions-of-the-oiv/viticulture-resolutions>.

OIV, I. O. O. V. A. W. **Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (Volatile Acidity)**. 2018. Disponível em: <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol>.

OIV, I. O. O. V. A. W. **Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (Color Analysis)**. 2018. Disponível em: <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol>.

PÉREZ- GONZALEZ, J. A. . et al. Construction of a recombinant wine yeast strain expressing β-1,4-endoglucanase and its use in microvinification processes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 9, p. 2801–2806, 1993.

PINA, C. et al. Ethanol tolerance of five non-Saccharomyces wine yeasts in comparison with a strain of Saccharomyces cerevisiae - Influence of different culture conditions. **Food Microbiology**, v. 21, n. 4, p. 439–447, 2004.

PINEAU, B. **Contribution à l'étude de l'arôme fruité spécifique des vins rouges de Vitis vinifera L. cv. Merlot noir et Cabernet-Sauvignon**. Universidade de Bordeaux, 2007.

PRETORIUS, I. S.; WESTHUIZEN VAAN DER, J. J.; AUGUSTYN, O. P. H. Yeasts Biodiversity in Vineyards and Wineries and Its importance to the Sounth African wine industry. **South African Journal Enology Viticulture**, v. 20, n. 2, p. 61–74, 1999.

PROTAS, J. F. DA S.; CAMARGO, U. A.; MELO, L. M. R. DE. A vitivinicultura brasileira : realidade e perspectivas. **Viticultura e Enologia - Atualizando Conceitos (Embrapa Uva e Vinho)**, p. 17–32, 2002.

PUCKETTE, M. **Wine 101 Guide**. Seattle: 2018.

PUCKETTE, M. **Cabernet Sauvignon**. 2019. Disponível em: <https://winefolly.com/cabernet-sauvignon/>.

PUCKETTE, M.; HAMMACK, J. **Wine Folly**. 1st ed. Seattle: Wine Folly, 2016.

RAPP, A.; MANDERY, H. Wine aroma. **Birkhäuser Verlag**, v. 42, p. 873–884, 1986.

RENAULT, P. et al. Enhanced 3- sulfanylhexan-1-ol production in sequential mixed fermentation with Torulaspora delbrueckii/Saccharomyces cerevisiae reveals a situation of synergistic interaction between two industrial strains. **Front Microbiology**, v. 7, p. 22, 2016.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilisation and Treatments**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2000.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Tratado de Enologia. 1. Microbiologia del vino - Vinificaciones. 2. Química del vino – Estabilización y tratamientos**. 1ª Ed. Buenos Aires: 2003.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications**. 2nd Edition. John Wiley & Sons Ltd, 2006.

RIZZON, L. A. **Metodologia para análise de vinho**. Bento Gonçalves, 2010.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 1, 2000.

RODRIGUES, D. **INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PRÁTICAS VITICULTURAIS SOBRE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E A FORMAÇÃO DE COMPOSTOS DE AROMA EM CULTIVARES Vitis vinifera**. 2013. Universidade Estadual de Campinas, 2013.

ROJAS, V. et al. Studies on acetate ester production by non-Saccharomyces wine yeasts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 283–289, 2001.

ROUJOU-DE-BOUBÉE, D. . et al. Location of 2- methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet sauvignon bunches and its extracbility during vinification. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 53, p. 1–5, 2002.

SADOUDI, M. et al. Yeast-yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of Sauvignon Blanc wine fermented by single or co-culture of non-Saccharomyces and Saccharomyces yeasts. **Food Microbiology**, v. 32, p. 243–253, 2012.

SANTIAGO, V. **Vinho brasileiro, um olhar para o nosso terroir**. 2018. Disponível em: <https://www.jornaldocomercio.com/_conteudo/2018/04/especiais/vinhos_e_espumantes_2018/623693-vinho-brasileiro-um-olharpara-o-nosso-terroir.html>.

SANTOS, M. DOS. **Análise Cromática de vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon do Rio Grande do Sul**. Santa Maria: 2011.

SCHMARR, H. G. . et al. Pitfalls encountered during quantitative determination of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in grape must and wine using gas chromatography–mass spectrometry with stable isotope dilution analysis. Comprehensive two-dimensional gas chromatography–mass spectrometr. **Journal or Chromatography A**, v. 1217, p. 6769–6777, 2010.

SOUSA, M. V. F. DE. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE VINHO TINTO DE CANTINAS DE SANTA TERESA, ESPÍRITO SANTO, PRODUZIDO COM UTILIZAÇÃO DE PECTINASE**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2014.

SPADARI, L. **INFLUÊNCIA DA CEPA DE LEVEDURA NA COMPOSIÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES ELABORADOS PELO MÉTODO TRADICIONAL**. Caxias do Sul: 2013.

STECKELBERG, C. **Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 2001.

STRAUSS, M. L. A. et al. Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-Saccharomyces wine yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 1, p. 182–190, 2001.

STYGER, G.; PRIOR, B.; BAUER, F. F. Wine flavor and aroma. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 9, p. 1145–1159, 2011.

SWIEGERS, J. H. et al. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 11, n. 2, p. 139–173, 2005.

SWIEGERS, J. H.; PRETORIUS, I. S. Yeast modulation of wine flavor. **Advances in Applied Microbiology**, v. 57, n. SUPPL. A, p. 131–175, 2005.

TOFALO, R. et al. Influence of organic viticulture on non-Saccharomyces wine yeast populations. **Annals of Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 57–66, 2011.

TOLEDO, A. D. . et al. **O uso de conservantes em produtos alimentícios**. São Paulo: 2008.

TONIETTO, J. O conceito de denominação de origem como agente promotor da qualidade dos vinhos. **Viticultura e Enologia - Atualizando Conceitos (Embrapa Uva e Vinho)**, p. 151–163, 2002.

UVIBRA, U. B. DE V. **Manual de produção de uvas viníferas de alta qualidade**. Bento Gonçalves, 2015.

VAN LEEUWEN, C. Terroir: the effect of the physical environment on vine growth, grape ripening and wine sensory attributes. **Managing Wine Quality**, p. 273–315, 2010.

VAN LEEUWEN, C.; SEGUIN, G. The concept of terroir in viticulture. **Journal of Wine Research**, v. 17, n. 1, p. 1–10, 2006.

VARELA, C. et al. Discovering a chemical basis for differentiating wines made by fermentation with “wild” indigenous and inoculated yeasts: Role of yeast volatile compounds. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 15, n. 3, p. 238–248, 2009.

VINUMDAY. **Como é feito o vinho?** Disponível em: <http://blog.vinumday.com.br/como-e-feito-o-vinho/>.

WLODARCZYK, S. R. et al. Evaluation of Isolated Yeasts from Grapes of Pinto Bandeira Region, Bento Gonçalves (RS) in relation to Production of H2S and Fermentation Rate. **Wine Yeast Characterization**, v. 1, n. 2, p. 26–29, 2012.