

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JEAN CARLOS CARRARO

**UTILIZAÇÃO DE FIBRAS DE CELULOSE E TANINO GÁLICO NA
ELABORAÇÃO DE VINHO BRANCO PROVENIENTE DE UVAS COM
*Botrytis cinerea***

ORIENTADORA PROF^a. DR^a. REGINA VANDERLINDE

CAXIAS DO SUL

2019

JEAN CARLOS CARRARO

**UTILIZAÇÃO DE FIBRAS DE CELULOSE E TANINO GÁLICO NA
ELABORAÇÃO DE VINHO BRANCO PROVENIENTE DE UVAS COM
*Botrytis cinerea***

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia da
Universidade de Caxias do Sul, visando à
obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia.**

Orientadora: Profa. Dra. Regina Vanderlinde

CAXIAS DO SUL

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

C313u Carraro, Jean Carlos

Utilização de fibras de celulose e tanino gálico na elaboração de
vinho branco proveniente de uvas com *Botrytis cinerea* / Jean Carlos
Carraro. – 2019.

89 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa
de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2019.

Orientação: Regina Vanderlinde.

1. Vitivinicultura. 2. Uva. 3. Vinho. 4. Fungos. I. Vanderlinde, Regina,
orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 634.8

Catalogação na fonte elaborada pela(o) Bibliotecária(o)
Paula Fernanda Fedatto Leal - CRB 10/2291

JEAN CARLOS CARRARO

UTILIZAÇÃO DE FIBRAS DE CELULOSE E TANINO
GÁLICO NA ELABORAÇÃO DE VINHO BRANCO
PROVENIENTE DE UVAS COM
Botrytis cinerea

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Profa. Dra. Regina Vanderlinde

TESE APROVADA EM 16 DE DEZEMBRO DE 2019.

Orientador: Profa. Dra. Regina Vanderlinde

Prof. Dr. Giuliano Elias Pereira

Prof. Dra. Neide Garcia Penna

Prof. Dr. Sergio Echeverrigaray Laguna

“É verdade, alguns vinhos melhoram com o tempo, mas apenas se as uvas eram boas em primeiro lugar.”

Abigail Van Buren

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, por ter me dado forças e me guiado por este longo caminho. E por ter colocado em minha vida pessoas tão especiais.

Aos meus pais, Carlos Miguel e Maristela Carraro, irmã Andréia, por estarem sempre ao meu lado. Vocês são minha fortaleza. Nunca quis ser o orgulho da família, no entanto, sempre quis dar o mínimo de orgulho a vocês, isto me incentivou a aproveitar todas as oportunidades que a mim foram dadas.

A minha namorada Talita, que também sempre me incentivou, dando-me forças para que conseguisse superar as dificuldades. Você é muito especial na minha vida.

A minha orientadora, Professora Doutora e Presidente da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) Regina Vanderlinde, pelos ensinamentos e amizade, por ter acreditado em mim, por mostrar-me que sempre é possível melhorar, bem como por ter sempre me apoiado e motivado durante o percurso deste projeto. Agradeço também pelos cafés, conselhos valiosos e as conversas agradáveis.

A doutoranda Fernanda Rodrigues Spinelli por sua preciosa ajuda, principalmente na realização das análises dos vinhos.

Aos professores Dr. Aldo José Pinheiro Dillon e Dr. Sérgio Echeverrigaray-Laguna, pela disponibilidade de fazerem parte de minha banca de acompanhamento.

Agradeço aos professores que participaram da banca desta pesquisa, suas contribuições e seus apontamentos, que são de notória importância para a complementação deste trabalho.

Meu agradecimento à Universidade de Caxias do Sul (UCS); à Coordenação de Apoio de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro; a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e à Lucimara Serafini Rech pela atenção e solicitude.

Agradeço ao Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN) e Laboratório de Referência Enológica (LAREN) por parte das análises realizadas neste trabalho.

Ao Programa de Mestrado Acadêmico em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS), pela oportunidade de realizar este estudo. Agradeço a todos os professores e funcionários. A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para que esta etapa fosse cumprida.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Aspecto do cacho da variedade Chardonnay	18
Figura 2: Representação esquemática do centro ativo da lacase, com identificação dos quatro átomos de cobre (Cu1, Cu2, Cu3 e Cu4) organizados em três diferentes grupos (T1, T2 e T3)	23
Figura 3: Métodos físicos e químicos de imobilização da lacase	25
Figura 4: Fórmula estrutural da celulose.	26
Figura 5: Mecanismo de adsorção da lacase através de ligação iônica	28
Figura 6: Imagem (A) fibra de celulose e (B) lacase adsorvida em fibra de celulose	29

ÍNDICE DE TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela1: Países produtores de vinho.....	15
--	----

ÍNDICE DE TABELAS DA PUBLICAÇÃO

Tabela1: Características analíticas clássicas dos mostos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.....	45
Tabela 2: Características analíticas dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.....	48
Tabela 3: Características analíticas dos álcoois superiores dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.....	53
Tabela 4: Características analíticas dos ácidos graxos dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.	57
Tabela 5: Características analíticas dos ésteres dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.....	60
Tabela 6: Compostos fenólicos dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.....	63
Tabela 7: Resultado das características organolépticas dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 VITICULTURA NO MUNDO	14
2.2 EXPANSÃO DA VITICULTURA PARA O BRASIL	16
2.3 CHARDONNAY	17
2.4 <i>Botrytis cinerea</i>	19
2.4.1 Controle	22
2.4.2 Lacase	23
2.4.3 Imobilização da lacase	25
2.5 CELULOSE	26
2.6 TANINO GÁLICO	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVO GERAL.....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
RESUMO	32
ABSTRACT	34
1 INTRODUÇÃO	36
2 METODOLOGIA	38
2.1 AMOSTRAS.....	38
2.2 DESENHO EXPERIMENTAL.....	35
2.3 MATERIAIS.....	37
2.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	41
2.4.1 Análises Clássicas	41
2.4.2 Determinação de álcoois superiores, etanol e metanol	41
2.4.3 Determinação de acetatos, ésteres e ácidos graxos	42
2.4.4 Determinação de tirosol, ácido caféico, e ácido ferrúlico	42
2.4.5 Determinação de ácido gluconico	42
2.4.6 Determinação dos compostos fenólicos totais em vinhos	42
2.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	42

2.6 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	43
3 RESULTADO E DISCUSSÃO	44
3.1 ANÁLISES DO MOSTO PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS	44
3.2 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRAS DE CELULOSE NA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO VINHO.....	47
3.3 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRAS DE CELULOSE NOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO VINHO	51
3.3.1 Etanol, metanol e álcoois superiores	51
3.3.2 Ácidos graxos	55
3.3.3 Ésteres do ácido acético e ácidos graxos	58
3.4 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRA DE CELULOSE NOS COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS DO VINHO	61
3.5 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRA DE CELULOSE NA AVALIAÇÃO SENSORIAL DO VINHO	65
4 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXOS	73
ANEXO A: ESQUEMA DE VINIFICAÇÃO REALIZADO NESTE ESTUDO.....	77
5 CONCLUSÃO GERAL	78
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS	81
ANEXOS	91
ANEXO A: FICHA TÉCNICA DA FIBRA DE CELULOSE FIRST FIBRA SUPER	91
ANEXO B: FICHA TÉCNICA DO TANINO GÁLICO.	92
ANEXO C: FICHA TÉCNICA DO TANINO GÁLICO.	93

1 INTRODUÇÃO

O setor vitivinícola nacional e o mercado de vinhos alcançaram um grande desenvolvimento nos últimos dez anos. Novas áreas vêm sendo demarcadas buscando o melhor potencial produtivo, seja pelo solo, clima, tipo de uva e outras características singulares. Em consequência, o aumento do consumo tem sido constante e expressivo, principalmente devido à melhora da qualidade dos vinhos nacionais.

O Brasil, décimo quarto maior produtor de uvas do mundo, representa 2 % do total da produção mundial, com uma produção média anual de 1,6 milhões de toneladas (OIV, 2019). Das uvas produzidas, 57,07% são destinadas ao processamento para posterior produção de vinho, suco e derivados. Segundo a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), no Brasil, em 2019, foram elaborados 2,9 milhões de hectolitros de vinho.

A Serra Gaúcha possui o maior polo vitivinícola do Brasil, onde são produzidas mais de 85% da produção do Rio Grande do Sul, entre bebidas feitas a partir de uvas, como vinhos e sucos e outros derivados da uva e do vinho (IBRAVIN, 2019). Regiões como o Vale dos Vinhedos, possuem certificações e prêmios internacionais pela qualidade de seus produtos, sendo assim, novas tecnologias são necessárias para manter frente às novas exigências do mercado, sustentando os produtos competitivos e rentáveis.

Devido à interferência dos fenômenos naturais, no Rio Grande do Sul, 2017 foi uma das safras mais difíceis dos últimos anos. Eventos de granizo, geadas e o excesso de chuvas, causaram uma perda significativa na produtividade dos vinhedos em todas as áreas produtoras de uvas do RS. Segundo o Ibravin (2017), a explicação para a quebra na produção está nas condições climáticas. Com temperaturas mais elevadas no inverno, a brotação das flores ocorreu antes do normal e desuniforme. Em seguida, no início de setembro, uma forte geada atingiu as primeiras brotações. O excesso de umidade também favoreceu o surgimento de doenças diretamente nos cachos, aumentando a queda da produção. Com as chuvas em dezembro e início de janeiro, a qualidade da maturação também é atingida, com a diminuição de açúcar das uvas.

A podridão do cacho, podridão cinzenta ou mofo cinzento, causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, é considerada a mais importante das podridões da uva e tem causado a

redução qualitativa e quantitativa da produção de uva em todos os países vitícolas do mundo.

Há vários fatores que propiciam a infecção e o desenvolvimento desse patógeno nas regiões produtoras do sul do Brasil, destacando-se principalmente, a precipitação pluviométrica elevada, a alta umidade relativa do ar, bem como temperaturas elevadas, as quais propiciam a formação de um microclima favorável à infecção da uva pelo patógeno.

Assim que a película do bago de uva é rompida, o suco da uva fica exposto ao ar e às enzimas começam a atuar. A lacase é produto da infecção do fungo *Botrytis cinerea*, que torna a uva imprópria para a elaboração de vinho, pois diminui o teor de açúcar do mosto, aumenta a acidez volátil, degrada compostos fenólicos prejudicando a cor, o aroma e o sabor dos vinhos (FERNÁNDEZ M, et al 2012; MENEGUZZO et. al., 2006).

Segundo Sathishkumar et al. (2014) em estudo sobre efluentes, a celulose é um suporte adequado para imobilização enzimática da lacase devido à sua alta superfície intrínseca, específica, e porosidade, além de ter baixo custo de obtenção. Durán et al. (2002) verificaram que as lacases interagem com as fibras de celulose e em pH baixo a adsorção é maior. A imobilização da lacase utilizando fibra de celulose é o meio mais eficiente entre os relatados em diversos estudos (FERNÁNDEZ et al. 2012).

Entretanto, a utilização de fibras de celulose em uvas botritizadas constitui uma inovação no Brasil e no mundo, visto que não foi encontrado em literatura relatos sobre a utilização desta técnica na elaboração de vinhos.

Concomitante ao uso das fibras de celulose foi testado o emprego de um tanino gálico enológico comercial utilizado para a redução da atividade de enzimas oxidativas (lacase), proveniente da infecção do patógeno. Entretanto, este produto tem um valor de aquisição consideravelmente mais elevado que a celulose, em torno de 65% mais caro.

A variedade Chardonnay foi escolhida para este experimento devido à sua grande representatividade entre as variedades mais utilizadas para a elaboração de vinhos espumantes e vinhos brancos na região da Serra Gaúcha, assim como por sua compactabilidade (característica que permite o acúmulo de água entre bagas e favorece o desenvolvimento da podridão). Além disso, variedades brancas são mais sensíveis do que as tintas, ao ataque do fungo devido a menor espessura de sua película (CAMARGO, 2003; ZANUS, 2005; GIOVANNINI e MANFROI, 2009).

Por esta razão, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a utilização de fibras de celulose para redução dos efeitos negativos causados pelo fungo *Botrytis cinerea* em mostos e vinhos provenientes de uvas Chardonnay e contribuir para desenvolvimento de uma nova tecnologia para melhorar a qualidade dos vinhos brancos. Concomitante ao uso das fibras de celulose foi testado o emprego de um tanino gálico enológico comercial, proposto para a redução da atividade de enzimas oxidativas (lacase) provenientes da infecção por *Botrytis*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 VITICULTURA NO MUNDO

Conforme Macneil (2003), a videira surgiu aproximadamente a cem milhões de anos. Portanto, quando o ser humano apareceu sobre a Terra, há três milhões de anos, a videira selvagem já conquistava seu habitat. No princípio, o vinho teria sido feito por acaso, como grande parte das descobertas da humanidade, a partir de uvas fermentadas naturalmente.

A origem do vinho é descrita muitas vezes de “hipótese de Noé,” por causa do relato de Noé e o vinho no primeiro livro do Antigo Testamento, que faz referência ao cultivo da videira e a produção de vinhos que iniciaram no Monte Ararat, onde a Arca de Noé teria atracado depois que as águas do Dilúvio refluíram. Segundo a descrição bíblica, Noé foi o primeiro viticultor e produtor da bebida (PACHECO, 2006). O vinho tornou-se, também, importante símbolo em religiões, como a do antigo Egito e o cristianismo, onde era relacionado com à morte e à ressurreição. (PHILLIPS, 2005).

A disseminação da vitivinicultura acompanhou a expansão da colonização. Os gregos intensificaram e introduziram a produção de vinho na Itália. Os romanos introduziram o plantio de uvas e a elaboração do vinho em regiões de seu império, que abrangiam o território da França, Alemanha e Hungria, e atualmente são importantes produtoras (PHILLIPS, 2005).

Na América, Cristóvão Colombo teria introduzido as primeiras videiras na sua segunda viagem às Antilhas, em 1493, mais tarde as videiras se espalham para o México e os Estados Unidos, chegando às colônias espanholas da América do Sul, em especial Chile e a Argentina (PACHECO, 2006).

A partir do século XX a elaboração dos vinhos tomou novos rumos com o desenvolvimento tecnológico da viticultura e da enologia, propiciando conquistas tais como o cruzamento genético de diferentes cepas de uvas e o desenvolvimento de leveduras selecionadas geneticamente, controle de temperatura, entre outros. Para os produtores, o vinho se origina no vinhedo, o que significa que a qualidade do vinho vem da uva da qual ele é elaborado (PACHECO, 2006; PHILLIPS, 2005).

A produção mundial de uvas de é 75,8 milhões de toneladas, segundo relatório anual publicado pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), referentes ao ano de 2019. Do total produzido, cerca de 54% é proveniente do continente europeu, 19% da Ásia, 18% da produção é de uvas colhidas no continente americano e 9% da produção é da Oceania e da África. Quanto à produção mundial de vinho, foram produzidos 263 milhões de hectolitros de vinhos, apresentando uma redução de 10% em relação ao ano anterior. Pouco mais de 45% da produção mundial de vinhos é produzido por 3 países de origem europeia, Itália, França e Espanha (OIV, 2019), conforme tabela 1.

Produção de vinho (excluindo sucos e mostos)

Unidade: Milhões de hectolitros	2014	2015	2016	2017	2018	2019	19/18 Variação em volume	19/18 Variação em %
Itália	44,2	50	50,9	42,5	54,8	46,6	-8,2	-15%
França	46,5	47	45,4	36,4	49	41,9	-7,2	-15%
Espanha	39,5	37,7	39,7	32,5	44,9	34,3	-10,6	-24%
EUA	23,1	21,7	23,7	23,3	23,9	23,6	-0,3	-1%
Argentina	15,2	13,4	9,4	11,8	14,5	13	-1,5	-10%
Austrália	11,9	11,9	13,1	13,7	12,9	12,5	-0,4	-3%
Chile	9,9	12,9	10,1	9,5	12,9	11,9	-1	-7%
África do Sul	11,5	11,2	10,5	10,8	9,5	9,7	0,2	3%
China	13,5	13,3	13,2	11,6	9,1	NA	NA	NA
Alemanha	9,2	8,8	9	7,5	10,3	9	-1,2	-12%
Portugal	6,2	7	6	6,7	6,1	6,7	0,6	10%
Rússia	5,1	5,6	6,6	5,8	5,5	6	0,5	8%
Romênia	3,7	3,6	3,3	4,3	5,1	4,9	-0,2	-4%
Hungria	2,4	2,6	2,5	2,5	3,4	3,2	-0,2	-6%
Nova Zelândia	3,2	2,3	3,1	2,9	3	3	0	-1%
Brasil	2,6	2,7	1,3	3,6	3,1	2,9	-0,1	-5%
Austrália	2	2,3	2	2,5	2,8	2,6	-0,1	-4%
Grécia	2,8	2,5	2,5	2,6	2,2	2	-0,2	-8%
Geórgia	0,9	1,2	0,9	1	1,7	1,8	0	1%
Suíça	0,9	0,9	1,1	0,8	1,1	1,1	-0,1	-6%
Mundo	270	275	270	249	294	263	-30,6	-10%

Tabela 1: Países produtores de vinho.

Fonte: OIV, 2019.

Os países europeus, que sempre foram líderes, tiveram significativas reduções na produção de vinhos. Já os países asiáticos, oceânicos e americanos também

apresentaram uma redução na produção de vinhos. O Brasil ocupa o 16º posição em relação à produção mundial de vinhos em 2019 (OIV, 2019).

2.2 EXPANSÃO DA VITICULTURA PARA O BRASIL

Desde que a uva foi introduzida pelo português Martim Afonso de Souza, que trouxe as primeiras videiras de *V. vinifera* L. para a capitania de São Vicente, atual Estado de São Paulo em 1532, o Brasil começou a produção de vinhos. No entanto, somente com a colonização italiana alguns séculos depois, é que a atividade ganhou patamares mais elevados, em escala comercial, em São Paulo e no Rio Grande do Sul (MARNEIL, 2003).

A imigração italiana no Brasil teve um papel fundamental no desenvolvimento da viticultura. A área de produção vitivinícola no Brasil hoje soma 79,1 mil hectares. São mais de 1,1 mil vinícolas no país, a maioria instalada em pequenas propriedades, colocando o Brasil como o quinto maior produtor da bebida no Hemisfério Sul e o décimo sexto na produção mundial de vinhos (OIV, 2019, IBRAVIN, 2017).

Ainda no Brasil, a grande maioria dos produtores de uva não elabora vinho, mas comercializa a uva, ao contrário do que acontece na maior parte dos países, onde eles elaboram a bebida e agregam valor ao produto. Além disso, enquanto que na maioria dos países só são elaborados vinhos com variedades de *Vitis vinifera*, no Brasil mais de 80% do volume produzido é originário de variedades *Vitis labrusca* e híbridas (MELLO, 2009).

O Estado do Rio Grande do Sul é responsável por 90% da produção nacional de uvas para processamento entre vinhos tranquilos, espumantes e suco de uva. Em 2019 a produção de uva foi de 614,2 mil toneladas, houve uma queda de 5,5% na produção em relação a 2018, possivelmente devido ao impacto negativo na colheita causada, principalmente, por granizo em outubro, comprometendo parreirais em algumas regiões da Serra Gaúcha, como São Marcos, Nova Pádua, Flores da Cunha e Farroupilha, entre outros. (IBRAVIN,2019).

A produção de uva e a elaboração e vinhos e derivados movimenta atualmente, no Rio Grande do Sul, 1% do PIB, com aproximadamente de 20 a 25 mil famílias de produtores envolvidas no processo (IBRAVIN, 2018).

A Serra Gaúcha é a principal região produtora, com solo e clima propícios para a produção de uvas com alta acidez, usadas na preparação de vinho base para elaboração de espumante, neste caso a variedade Chardonnay é a mais representativa (IBRAVIN, 2017).

A Serra Gaúcha pode ser dividida em três microrregiões: Vale dos Vinhedos, Pinto Bandeira e Altos Montes. (IBRAVIN, 2013). O Vale dos Vinhedos foi a primeira região brasileira a conseguir a classificação de Denominação de Origem Controlada (D.O.C). A D.O. C. delimita a produção à região do Vale dos Vinhedos, que compreende os municípios de Garibaldi, Bento Gonçalves e Monte Belo do Sul, e apresenta normas de cultivo e processamento mais restritas, o que assegura a qualidade dos vinhos daquela região (VALDUGA, 2007).

As variedades tintas autorizadas para cultivo no Vale dos Vinhedos são a Merlot e Cabernet Sauvignon, como principais, e Cabernet Franc e Tannat como auxiliares. No caso dos brancos a Chardonnay é a principal e a variedade Riesling Itálico como variedade auxiliar. Já para os espumantes, a Chardonnay e Pinot Noir são as variedades principais e a Riesling Itálico variedade auxiliar (APROVALE, 2012).

2.3 CHARDONNAY

A uva Chardonnay, também chamada de rainha das uvas, é uma cultivar de videira pertencente ao grupo das *Vitis vinifera* L. É originária da Borgonha, França. De película branca e sabor simples a aromático, dependendo do clone (GIOVANNINI; MANFROI, 2009). Possui folhas apicais soltas de cor verde dourada, folhas médias arredondadas, quase inteiras, de cor verde escuro. O cacho é médio, de tronco cônico, compacto, a baga é média, de cor amarelo dourada e casca de média consistência (Figura 1). A polpa é sucosa, doce de sabor simples e aroma pouco intenso (CAMARGO, 2003).



Figura 1: Aspecto do cacho da variedade Chardonnay.

Fonte: <http://www.vivairauscedo.com/en/catalogo.php> Acesso 25/06/2019.

A uva Chardonnay é muito sensível às condições do clima e do solo em que se desenvolve, podendo variar o sabor, a acidez, a doçura, a forma, a coloração e a resistência da casca, o tamanho, a quantidade de semente, a forma e o formato dos cachos (GUERRA, 2001).

É uma cultivar de brotação precoce, sujeita a prejuízos causados pelas geadas tardias. A brotação geralmente ocorre de 10/08 a 20/08 e a maturação de 06/01 a 15/01, no sul do Brasil. É resistente à antracnose, muito sensível ao oídio e às podridões e moderadamente sensível ao míldio (GIOVANNINI; MANFROI, 2009). Essa variedade destaca-se pela capacidade de produzir vinhos bastante complexos, ricos e bem estruturados, com sabores e aromas frutados e que podem variar conforme a região.

Seus vinhos podem variar tanto em acidez e corpo, como em frescor e untuosidade. Em climas frios possui acidez e estrutura destacadas. Nas regiões mais quentes apresenta-se com sabor mais intenso e acidez média (MARC e CASTILHO, 2004).

Os aromas e sabores do vinho elaborado de uvas Chardonnay são muitos, dependendo da região e do produtor. Em geral, os aromas primários mais encontrados são: frutas cítricas (maçã verde, pera, limão, lima tangerina), frutas tropicais (abacaxi, maracujá, pêssego, damasco, banana, manga), florais (acácia, flor de laranjeira), amanteigados (manteiga, cera, mel, melaço, fermento). Dependendo da região ainda pode-se encontrar: minerais, pedra de isqueiro e esfumaçado (GIL, 2000).

Na Serra Gaúcha, a variedade Chardonnay destaca-se na elaboração de vinhos brancos, sendo bastante utilizada para a elaboração de espumantes, pois gera um vinho base relativamente neutro em aroma. Visando a melhoria na qualidade dos vinhos

brasileiros, a sanidade da uva é fator fundamental para a obtenção do mesmo (CAMARGO, 2003; ZANUS, 2005).

2.4 *Botrytis cinerea*

A podridão cinzenta, mofo cinzento ou *Botrytis* é causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, e acarreta danos tanto à produtividade como à qualidade da uva. Afeta diretamente a qualidade do vinho pela degradação de compostos qualitativos e pela presença de substâncias indesejáveis para a vinificação, conservação e qualidade gustativa do vinho, pois diminui o teor de açúcar do mosto, aumenta a acidez volátil e o torna mais vulnerável à oxidação (FERNÁNDEZ M, et. al 2012; MENEGUZZO et. al., 2006). Este fungo está presente em praticamente todos os vinhedos do mundo e infecta diversas outras espécies de frutas (SÔNEGO & GARRIDO, 2005). No Brasil, apresenta-se principalmente nas variedades *Vitis vinífera* e naquelas que possuem o cacho compacto, como a Chardonnay, originando grandes prejuízos (GALLOTTI et al., 2004). As condições climáticas presentes na Serra Gaúcha são propícias ao desenvolvimento de várias doenças, devido a elevadas precipitações, e temperaturas favoráveis.

Embora o metabolismo de *Botrytis cinerea* seja mais conhecido nos dias de hoje, o método de avaliação da contaminação das uvas pelo fungo ainda é através da avaliação visual das uvas podres (MENEGUZZO et. al., 2006).

As uvas botritizadas contêm fenoloxidasas e lacases, enzimas responsáveis pela oxidação enzimática dos compostos fenólicos e turvação dos mostos e vinhos. Este fenômeno prejudica a estabilidade e qualidades primordiais do vinho, como cor, aroma e sabor (LORRAIN et al. 2013).

O *Botrytis cinerea* hiberna sob a forma de micélio, preferindo os diversos órgãos das videiras infectadas durante o período vegetativo, especialmente o cacho, mas também os brotos novos, folhas e sobrevive no solo em restos culturais e gemas. (GIOVANINNI, 2014). Em condições adversas o fungo hiberna, também como esclerócio sobre sarmentos do ano. Trata-se de corpúsculos duros, marrons e alongados. Quando há condições ambientais na primavera, com o aumento da temperatura e da umidade, os esclerócios formam micélios, conidióforos e conídios, capazes de invadir diversos órgãos da videira. Água livre ou umidade relativa acima de 90% e temperaturas em

torno de 25°C são as condições ideais para o desenvolvimento do fungo (SÔNEGO & GARRIDO, 2005).

Antes da maturação da uva as bagas são pouco receptivas ao patógeno, são infectadas em condições de alta umidade e se restos florais permanecerem no cacho. Em regiões de alta umidade relativa, o fungo causa a deterioração dos frutos na pré e/ou pós-colheita, principalmente nas cultivares viníferas brancas (GIOVANINNI, 2014).

Em condições favoráveis, o fungo se desenvolve no interior da polpa, emitindo seus órgãos de frutificação, que podem cobrir parcial ou totalmente as bagas, ficando com aparência de mofo cinzento. Em cultivares de cacho muito compacto, o fungo passa de uma baga para outra, podendo tomar todo o cacho e com perdas de mais de 50% (SOUZA, 1996).

Nestas condições as bagas tornam-se marrons com frutificação do fungo, e se constituem em focos da doença. Na fase da maturação da uva, os primeiros sintomas são manchas circulares, de coloração lilás na película das bagas atacadas que, posteriormente, tomam uma coloração parda nas uvas brancas. As uvas contaminadas possuem um sabor amargo, passando essas características aos vinhos (GIOVANINNI e MANFROI, 2009).

A infecção de um modo geral se dá a partir das cicatrizes deixadas pela queda das peças florais, sépalas, pétalas e estames ou por outros ferimentos. Portanto, a infecção do patógeno na planta ocorre na fase da floração, e permanece em estado de latência até a maturação dos frutos, quando, então, ocorre o desenvolvimento da infecção propriamente (SÔNEGO et al., 2005).

Sônego et al. (2005) comprovaram que uvas com *Botrytis cinerea* contêm maiores concentrações de tirosinase e lacase, que são as enzimas responsáveis pela oxidação enzimática dos compostos fenólicos, prejudicando a cor, o aroma e o sabor dos vinhos. Quando os compostos fenólicos são oxidados, são convertidos em quinonas, que por sua vez podem formar polímeros marrons, os quais causam a descoloração nos vinhos tintos e o escurecimento nos vinhos brancos. O fungo também reduz a concentração de aminoácidos e degrada os compostos aromáticos (terpenóides).

O tratamento químico é preventivo, devendo ser iniciado no final da floração para facilitar a penetração do produto no interior do cacho, evitando a contaminação e sobrevivência do fungo nos resíduos florais. Cultivares com cachos compactos

favorecem a doença, pois a umidade persiste no interior do cacho e a penetração dos fungicidas é dificultada. Além disto, nestas cultivares as bagas se comprimem, sofrem rachaduras, o mosto escorre, favorecendo o desenvolvimento do fungo. Injúrias em bagas causadas por insetos também favorecem as infecções (EMBRAPA, 2003; GIL, 2000).

A suscetibilidade das cultivares à podridão de *Botrytis* é diferenciada pela compactabilidade do cacho, espessura e forma da película, e composição química da baga (GIOVANINNI e MANFROI, 2009). Além da redução na colheita, são consideráveis os prejuízos indiretos acarretados pela doença, em razão do fungo desenvolver-se em detrimento do açúcar, tanino e nitrogênio solúveis da uva (PROFFIT e GENEVET, 2005).

Em locais restritos do mundo, sob condições específicas, pode-se obter a chamada "podridão nobre", onde condições climáticas, como manhãs nubladas e úmidas, com restante do dia seco e ensolarado e com certas variedades viníferas, a infecção por *Botrytis cinerea* produz um mosto diferenciado que possibilita a elaboração de vinhos de sobremesa de alta qualidade, os chamados vinhos botritizados, os quais representam alguns dos vinhos de maior valor no mundo (RIBEIRO, 2003, LORRAIN et al. 2013).

Neste caso, a "podridão nobre" ocorre pelo fungo desenvolver-se principalmente na superfície da baga, o que leva à dessecação por permitir que a casca apresente maior permeabilidade de água, concentrando os açúcares, (especialmente frutose) e em menor escala, os ácidos (GIOVANINNI, 2014). Outra mudança benéfica adicional causada pelo fungo é o acúmulo de glicerol nas bagas, que contribui para a doçura do vinho resultante de "podridão nobre" (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

A umidade do ar é um dos fatores primordiais para ocorrer a infecção do fungo. Quanto à temperatura, o fungo tem uma faixa bastante ampla para se desenvolver, porém a mais adequada para a germinação dos conídios é de 25°C., e na forma de escleródios na casca do ramo. Frutos mumificados da safra anterior também proporcionam substrato para sua sobrevivência (SÔNEGO e GARRIDO, 2005).

2.4.1 Controle

No Brasil, onde as doenças desenvolvem um importante papel na viticultura, os métodos de controle adotados apresentam uma série de limitações, pois têm sido empregados tradicionalmente a produtos químicos, com pouca utilização de outras estratégias (GALLIOTTI et al., 2004).

A *Botrytis* pode ser confundida com outras podridões, como por exemplo, a podridão ácida, por isso, a correta identificação da doença antes da aplicação dos fungicidas é extremamente importante (SÔNEGO et al., 2005).

O controle da podridão não deve se basear apenas na pulverização com fungicidas, devido à eficácia moderada dos mesmos, principalmente em anos muito chuvosos, em vinhedos com alta incidência da doença e cultivares altamente suscetíveis (SÔNEGO et al., 2005).

Deve-se utilizar uma série de medidas preventivas, tais como proporcionar uma boa aeração e insolação através da exposição adequada; aplicação de tratamentos culturais como a desfolha, poda verde e adubação nitrogenada adequada, remover restos de poda e tecidos vegetais das videiras para fora do vinhedo (WILCOX, 2014).

Os períodos críticos para o controle da infecção por *Botrytis* são: nos estádios fenológicos de floração, início do fechamento dos cachos, início da maturação e duas a três semanas antes da colheita (GALLIOTTI et al., 2004).

O número de pulverizações necessárias para controlar a podridão cinzenta depende da pressão da doença no vinhedo, das condições climáticas e da suscetibilidade da cultivar. Um número menor de pulverizações pode ser necessário se o tempo está muito seco e/ou a pressão da doença é baixa (SÔNEGO et al., 2005).

Ajustes podem ser necessários no pulverizador para melhor penetração dos produtos e cobertura uniforme dos cachos, além do manejo adequado que propicie uma boa uniformidade de cobertura dos produtos fitossanitários, sendo de extrema importância iniciar o tratamento com controle preventivo da podridão durante a fase da floração, seguido de um tratamento durante o desenvolvimento dos cachos e outro no início do amadurecimento das bagas. Pode-se ainda ser necessária uma quarta aplicação, cerca de 20 dias antes da colheita (LIMA et al, 2009).

2.4.2 Lacase

A lacase é uma enzima que pertence à família das *multicopper blue oxidases*, responsável por catalisar reações de oxidação-redução de diversos compostos, por conter átomos de cobre no seu centro ativo. Essas enzimas têm sido estudadas desde o século XIX. Além de ser encontrada em plantas, a lacase também está em fungos, insetos, bactérias e até veneno de vespa, o que revela a sua presença em vários ambientes (GIARDINA et al., 2010; LOERA et al., 2006)

Bioquimicamente, a lacase é classificada como uma glicoproteína extracelular, contendo um total de 520 a 550 aminoácidos. Esta enzima apresenta uma massa molecular variável, entre 60 e 80 kDa (GOCHEV VK, 2007).

A nível estrutural, a lacase é caracterizada como uma molécula dimérica ou tetramérica, com um centro ativo que engloba quatro átomos de cobre organizados em três grupos diferentes: um cobre do tipo 1 (T1), um do tipo 2 (T2) e dois do tipo 3 (T3), que se encontram arranjados num cluster trinuclear (KUNAMNENI et al., 2008), conforme figura 2.

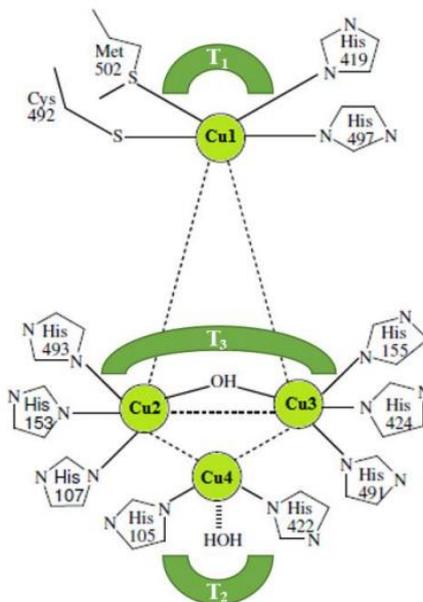


Figura 2: Representação esquemática do centro ativo da lacase, com identificação dos quatro átomos de cobre (Cu1, Cu2, Cu3 e Cu4) organizados em três diferentes grupos (T1, T2 e T3)

Fonte: Kunamneni et al. 2008.

Nas áreas de biotecnologia e ambientais, as lacases são excelentes biocatalisadores devido à sua alta atividade, seletividade e especificidade, que lhes permitem realizar

processos químicos complexos (LOERA et al., 2006). A indústria têxtil é uma das áreas onde a lacase é amplamente utilizada no melhoramento do branqueamento do algodão. Na fabricação de papel a lacase é utilizada no processo de branqueamento, promovendo a obtenção de uma pasta mais branca, através da deslignificação de fibras de madeira (KUNAMNENI et al, 2008).

A lacase é utilizada no tratamento de efluentes, tanto domésticos como industriais, devido ao seu poder de oxidação de fenóis e seus derivados, e também se mostrou eficaz na descoloração de efluentes com determinados corantes (ARORA e SHARMA, 2010).

Nos produtos fármacos a lacase é utilizada na síntese de anestésicos, anti-inflamatórios, antibióticos e sedativos, entre outros. Mais recentemente, atendendo ao seu potencial de descoloração, a lacase foi testada na área da higiene, na fabricação de alguns produtos, como desodorizantes, pastas de dentes, detergentes, sabões e fraldas (MAYER e STAPLES, 2002).

Na viticultura a lacase é produto da infecção do fungo *Botrytis cinerea*, que torna a uva imprópria para a elaboração de vinho. A alta incidência dessa enfermidade e a grande quantidade produzida de enzima lacase tem conseqüências econômicas nefastas na viticultura. Assim que a película do bago de uva é rompida, o suco da uva fica exposto ao ar e as enzimas começam a atuar (FERNÁNDEZ M, et al 2012).

A lacase provoca problemas de estabilidade e de qualidade no vinho, desempenhando um papel primordial no processo alteração, levando à oxidação com a perda de um elétron dos grupos hidroxila fenólicos e reduzindo o O₂ (GIARDINA et al., 2010). No vinho, em presença do oxigênio, a lacase degradada irreversivelmente os polifenóis (antocianas e taninos) responsáveis pela cor dos mesmos, também produz odores desagradável devido à oxidação dos grupos orto e para-difenol (MADHAVI e LELE, 2009).

São necessários pequenos ataques de *Botrytis cinerea* para que numerosas substâncias aromáticas desapareçam e haja a eliminação dos aromas específicos da casta, característica particularmente importante nas de uvas brancas. Na elaboração dos vinhos, observa-se o aparecimento de odores e gostos desagradáveis, provenientes de alterações de metabolismos naturais em consequência da presença do fungo (GRASSIN et al., 1987).

Os principais compostos fenólicos das uvas, o ácido cafeico e o ácido p-cumárico livres são esterificados com o ácido tartárico e depois transformados em quinonas pela lacase, provocando a polimerização das quinonas e originando o escurecimento da uva, sendo mais difícil de detectar em uvas tintas (ZOECKLEIN, 2000). A lacase é resistente ao dióxido de enxofre, possui grande solubilidade e passa facilmente ao mosto nas operações de esmagamento e prensagem, por isso é importante a redução do tempo de pré-fermentação (FERNÁNDEZ M, et al 2012).

2.4.3 Imobilização da lacase

Apesar da grande diversidade de métodos desenvolvidos e aplicados na imobilização de enzimas, não há um método aplicável para todas as enzimas. Portanto, para cada aplicação de uma enzima imobilizada é necessário escolher o procedimento mais simples e mais barato, resultando em um derivado com boa retenção de atividade e alta estabilidade operacional.

Os métodos de imobilização podem ser divididos em dois tipos principais baseados em mecanismos físicos e químicos (DURÁN et al., 2002). Os métodos químicos de imobilização incluem ligações covalentes entre a enzima e a matriz, e auto imobilização enzimática por reagentes multifuncionais. Os métodos físicos envolvem a adsorção, o encapsulamento de moléculas de enzimas, o confinamento em matrizes formadas por géis poliméricos insolúveis ou em micelas, conforme figura 3 (DURÁN et al., 2002).

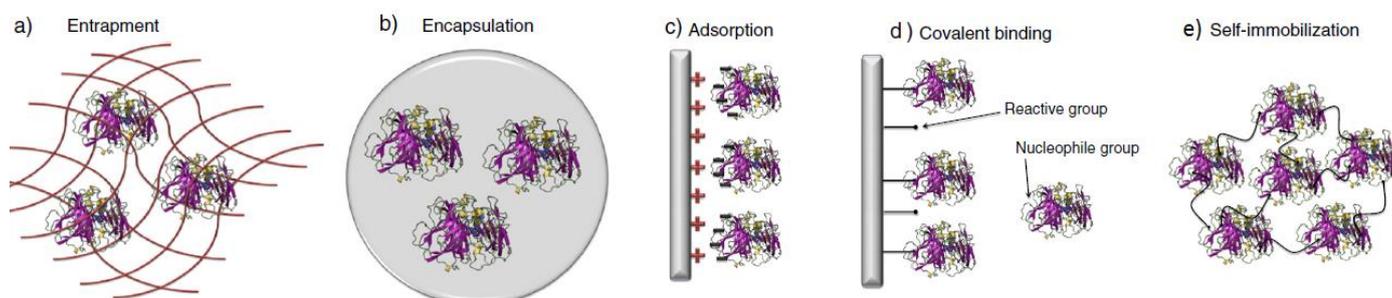


Figura 3: Métodos físicos e químicos de imobilização da lacase.

Fonte: Fernandez et al. 2012.

2.5 CELULOSE

A celulose é o polímero natural mais abundante da terra, sendo o principal componente estrutural das paredes celulares das plantas e algas. É formada a partir das unidades repetidas de D-glicose, as quais são ligadas por meio de ligações β -1,4-glicosídicas (Figura 4). Este polissacarídeo natural tornou-se um dos biopolímeros mais utilizados devido às suas propriedades físicas, estruturais e sua biocompatibilidade. Ela é o componente estrutural primário das plantas e não é digerível pelo homem, e quando pura é uma substância branca (NAVARRO et al. 2007).

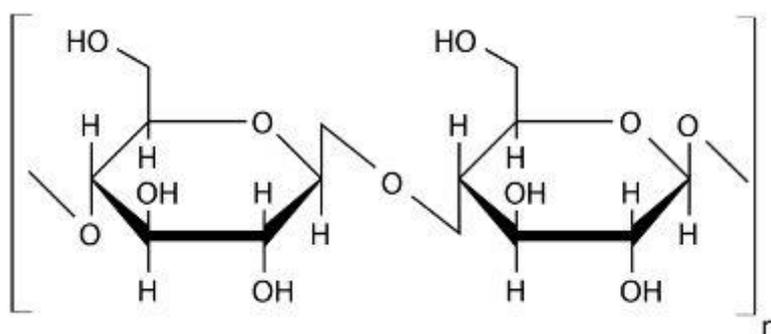


Figura 4: Fórmula estrutural da celulose.

Fonte: Navarro. 2007.

Possui amplas aplicações, desde a produção de papel à utilização como emulsificante, agente dispersante ou gelificante e, uma pequena parte, empregada na produção de fibras sintéticas. É biodegradável, biocompatível, não tóxica e não alergênica, e insolúvel em água (GOMES, 2011).

As fontes de celulose mais utilizadas atualmente é a madeira de eucalipto. Porém, existem outras formas conhecidas de obtenção como: plantas, síntese enzimática, síntese química, ou até por alguns microrganismos. Entre os microrganismos destaca-se o *Acetobacter xylinum*, capaz de produzir celulose em quantidades comerciais (MORMINO et al., 2002).

Klemm et al. (2005) afirmaram que as moléculas se juntam na forma de microfibrilas, onde há presença de regiões altamente ordenadas (cristalinas), que se alternam com regiões menos ordenadas (não cristalinas). A união das micro-fibrilas formam as

fibrilas e estas se agrupam formando as fibras celulósicas. As ligações de hidrogênio presentes na celulose são responsáveis por sua insolubilidade nos diversos solventes orgânicos.

Para ser utilizada na filtração, quando é proveniente da madeira, está sujeita a tratamentos especiais: trituração e desagregação química (para dissolução e libertação das fibras), seguidas de lavagem para purificação da pasta. A pasta oriunda já seca submete-se a tratamentos mecânicos de diversas intensidades, assim surge diferentes granulometrias e poderes filtrantes.

Sua ação de filtração é devido às suas características de adsorção, sendo a celulose utilizada para a clarificação de líquidos ou para retirada de impurezas do mesmo, proporcionando limpidez e transparência ao produto final (KLEMM et al., 2005). Pela mesma razão é utilizada na fabricação de placas filtrantes ou em fibras para, sozinha ou misturada com outros meios filtrantes, sendo usada na como auxiliar filtrante para vinhos e derivados (OIV, 2016).

A geometria, o tamanho e a densidade superficial de carga elétrica de partículas, em geral, são propriedades que interferem nos processos de coagulação e floculação. No caso de fibras de celulose, tais propriedades não são bem definidas devido à variedade no tamanho e forma das fibras. A fibra de celulose pura em suspensão tem alta tendência de agregar-se e formar coágulos pela ação da gravidade (NAVARRO et. al. 2007).

As fibras de celulose empregada na filtração são relativamente puras, no entanto, é recomendável efetuar uma lavagem com água, para evitar os aromas de papel que pode transmitir ao vinho. Estas fibras são também compostas de hemicelulose, que é um polissacarídeo, e de lignina, polímero amorfo, de composição química complexa e que confere firmeza e rigidez ao conjunto de fibras de celulose (NAVARRO et. al. 2007).

O emprego de celulose e seus derivados, principalmente esterificados, se apresenta como alternativa a outros tipos de suporte de enzimas devido ao balanço do caráter hidrofílico e hidrofóbico e por possuir agrupamentos OH, favorecendo a funcionalização da sua superfície, ligação iônica, ou até mesmo a imobilização de enzimas via ligação covalente, utilizando agente químicos (BRÍGIDA, 2010).

Sathishkumar et al. (2014) imobilizaram lacases para tratamento de efluentes com suporte celulósico. Kim et al. (2015) utilizaram nanofibras de celulose como suporte

para imobilizar lipase. Durán et al. (2002) verificaram que as lacases interagem com as fibras de celulose e em pH baixo a adsorção é maior, como é o caso do vinho.

O método de adsorção física é a técnica mais antiga de obtenção de enzimas imobilizadas. A adsorção é um método simples e barato de imobilização de lacase, portanto, têm uma maior aplicação comercial do que outras metodologias (SATHISHKUMAR et al. 2014).

A imobilização por adsorção se dá quando a enzima se liga a algum suporte sólido por interações intermoleculares como forças de Van der Waals, ligações hidrofóbicas, adsorção física, interações iônicas ou a combinação destas (DALLAVECCHIA et al., 2004).

Segundo Sathishkumar et al. (2014), em efluentes, a celulose é o suporte mais adequado para imobilização enzimática da lacase, devido à sua alta superfície intrínseca, específica, e porosidade, além de ter baixo custo de obtenção.

A adsorção física ocorre pela atração da oposição de cargas do campo elétrico entre a celulose (carga positiva, por conter pólos do hidrogênio H^+) e a lacase (carga negativa, pela presença de OH^-), as partículas agrupam-se formando pequenos flocos que decantam até o fundo do recipiente (FERNÁNDEZ et al. 2012).

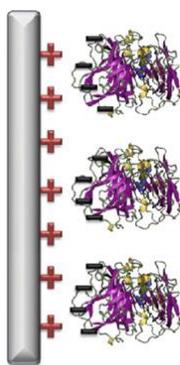


Figura 5: Mecanismo de adsorção da lacase pela atração de cargas.

Fonte: Fernandez et al. 2012.

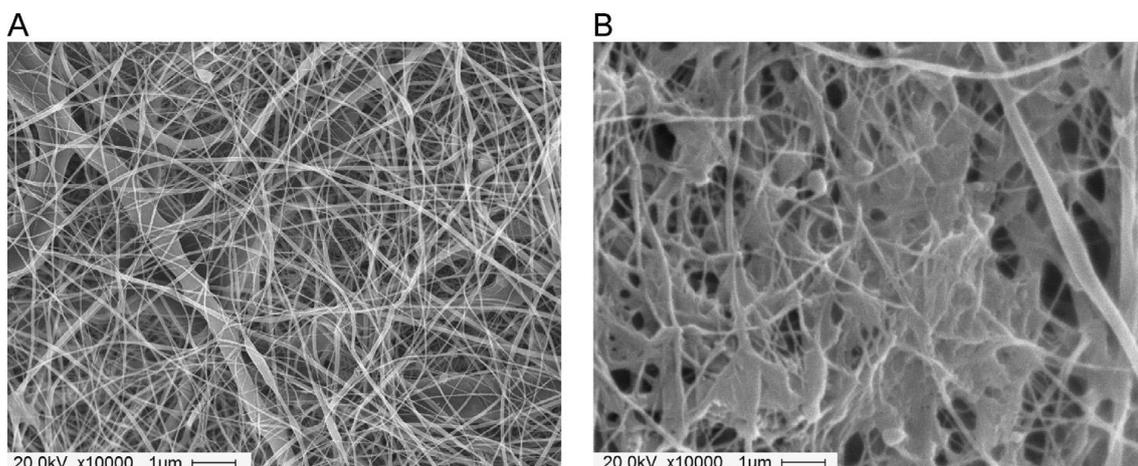


Figura 6: Imagem (A) fibra de celulose e (B) lacase adsorvida em fibra de celulose.

Fonte: Sathishkumar et al. 2014.

A quantidade de lacase imobilizada utilizando fibra de celulose (figura 6) é melhor do que muitos resultados relatados de outros estudos. Portanto, a celulose é um suporte promissor para imobilização enzimática (FERNÁNDEZ et al. 2012).

As fibras de celulose utilizadas neste estudo foram a First Fibra Super, comercializada pela indústria Ever Brasil. São de uso enológico e comercializadas para a utilização em filtração de vinhos, conforme anexo A. Estas fibras possuem um alto poder adsorvente e uma elevada superfície de filtração, devido à sua pureza e sua fragmentação em diversos tamanhos. Não são colmatantes e são totalmente inertes quanto ao sabor, odor e metais pesados.

2.6 TANINO GÁLICO

Taninos são polifenóis adstringentes e amargos provenientes do metabolismo secundário das uvas. Os taninos são identificados por sua capacidade de se ligar e precipitar proteínas. Esta propriedade chave foi usada por muitas décadas para o "curtimento" de couro (PICARIELLO, 2017).

Os taninos são encontrados em quase todas as plantas e em todos os climas do mundo. A porcentagem de taninos presentes nas plantas, no entanto, é variável. Taninos são geralmente encontrados em maiores quantidades em cascas de árvores onde atuam como uma barreira de defesa contra microrganismos (ASHOK e UPADHYAYA, 2012).

Nas uvas os taninos estão presentes nas cascas, sementes e engaços e são transferidos aos vinhos através da maceração no mosto em fermentação, provocando a sensação de ressecamento na boca após o consumo, principalmente de vinhos tintos (HERDERICH, e SMITH, 2015).

Distinguem-se segundo a natureza das moléculas os taninos hidrolisáveis ou gálicos e os taninos condensados ou catequicos (RIBÉREAU-GAYON et al, 2003).

Os taninos condensados, denominados proantocianidinas, são polímeros de alto peso molecular, derivados da polimerização das catequinas, que são as unidades flavanólicas básicas, ou seja, resultam da polimerização de moléculas elementares que contêm a função fenol (PICARIELLO, 2017). Os taninos gálicos também são denominados elagitaninos, com a função de liberarem ao meio maior quantidade de ácido gálico ou ácido elágico, após hidrólise ácida (GALIOTTI, 2007). Este tipo de tanino, embora não seja natural da uva, é autorizado e vendido comercialmente para vinhos.

O tanino para uso enológico está definido pelo CODEX Enológico da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV), através da resolução Oeno 12/2002 (OIV, 2007). Como parte das práticas enológicas, o uso do tanino está autorizado com o objetivo de facilitar a precipitação de matérias proteicas em excesso e auxiliar nos processos de clarificação. Outros usos têm sido descritos recentemente, dadas as suas propriedades antioxidantes, na melhoria do corpo, na eliminação de aromas e gostos atribuídos a fenômenos de redução, na estabilização da cor em vinhos tintos e na melhoria de aromas (PEÑA-NEIRA et al., 2000).

Os taninos gálicos mais utilizados em enologia provêm de diferentes espécies vegetais, notadamente de várias espécies de carvalho (*Quercus* sp.), de castanheira (*Castanea sativa* Mill.), de quebracho (*Schinopsis* sp.), de mirabolano (*Terminalia chebula*) e outras (VIVAS, 2001).

Existem atualmente disponíveis no mercado preparados de taninos gálico em solução que são recomendados para diminuir os defeitos da podridão.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de fibras de celulose e de tanino gálico para redução dos efeitos negativos causados pelo *Botrytis cinerea* em mostos e vinhos provenientes de uva Chardonnay e contribuir para desenvolvimento de uma nova tecnologia para melhorar a qualidade dos vinhos brancos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se os vinhos elaborados com uvas Chardonnay com e sem podridão, e após a adição de tanino gálico e fibras de celulose, atendem aos Padrões de Identidade e Qualidade do MAPA e Mercosul nas características físico-químicas, os compostos voláteis (álcoois superiores, etanal e metanol acetatos, ésteres e ácidos graxos) e não voláteis (tirosol, ácido caféico, ácido ferrúlico, ácido glucônico e os compostos fenólicos totais)
- Avaliar o impacto sensorial nos vinhos elaborados com uvas Chardonnay, com e sem podridão, após a adição de tanino gálico e de fibras de celulose;
- Comparar a eficiência da ação das fibras de celulose em mostos e vinhos com *Botrytis cinerea*, com um produto comercial à base de taninos recomendado para o mesmo fim;

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo estão apresentados sob a forma de publicação e está estruturado de acordo com as normas da revista científica “Food Chemistry” para a qual será submetido.

RESUMO

A Serra Gaúcha apresenta uma excelente capacidade enológica para produzir vinhos brancos tranquilos de qualidade. Porém, devido à ocorrência de fenômenos naturais, no Rio Grande do Sul, o excesso de precipitações e de umidade favorece o surgimento de doenças diretamente nos cachos, resultando em queda da produção, deficiência sanitária da uva e perda de qualidade da uva e do vinho. O *Botrytis cinerea* é um fungo causador da podridão cinzenta da uva e está presente em todos os vinhedos do mundo. Este estudo teve como objetivo avaliar a utilização de fibras de celulose para a redução dos efeitos negativos causados pelo *Botrytis cinerea* em mostos e vinhos provenientes de uva Chardonnay (*Vitis vinifera* L.) e contribuir para desenvolvimento de uma nova tecnologia para melhorar a qualidade dos vinhos brancos. Foi comparado os efeitos das fibras de celulose com um tanino gálico comercial recomendado para o mesmo fim. Este tanino gálico comercial tem valor de aquisição consideravelmente mais elevado que a celulose, em torno de 65% mais caro. O experimento consistiu de oito tratamentos e três repetições com diferentes doses de cada produto. Os mostos e vinhos obtidos foram analisados quanto à composição básica, compostos voláteis, índice de cor e compostos fenólicos, conforme a metodologia oficial brasileira, e os vinhos resultantes avaliados sensorialmente por uma equipe de doze degustadores qualificados. A presença de podridão causada pelo *Botrytis cinerea* alterou a composição dos mostos e a qualidade dos vinhos obtidos. Os mostos obtidos de uvas com podridão (T2) apresentaram os maiores níveis de acidez volátil e ácido glucônico devido à ação das enzimas oxidativas presentes no fungo. Tanto a utilização de tanino gálico como a de fibra de celulose foram eficientes para a redução dos níveis de acidez volátil do mosto, apresentando valores inferiores ao mosto com podridão sem tratamento (T2). A adição com 1,5 g.Kg⁻¹ de fibras de celulose (T8) resultou nas menores concentrações de ácidos

cumárico e epicatequina nos vinhos. Poucas variações foram encontradas entre os vinhos obtidos quanto às análises dos ácidos graxos. Entretanto, quanto às características sensoriais, os vinhos obtidos de uvas sadias sem tratamento (T1), exibiram uma tendência geral de maior intensidade positiva, nitidez e qualidade, fato que se justifica pela qualidade da uva estar ligada à melhor aceitação do produto final. Porém a utilização de fibras de celulose (T6, T7 e T8) favoreceu os resultados da vinificação de uvas brancas Chardonnay com *Botrytis cinerea*, amenizando seus efeitos negativos, e demonstra-se mais eficaz que o uso de tanino gálico comercial, aproximando-se dos valores obtidos de uvas sãs na avaliação global da análise sensorial.

Palavras-chave: *Botrytis cinerea*, podridão, uva, vinho, fibras de celulose, tanino gálico.

ABSTRACT

Serra Gaúcha has an excellent oenological capacity to produce quality still white wines. However, due to the occurrence of natural phenomena in Rio Grande do Sul, excess precipitation and humidity favors the emergence of diseases directly in the bunches, resulting in a drop in production, poor health in the grapes and loss of quality of the grapes and wine. *Botrytis cinerea* is a fungus that causes gray rot in grapes and is present in all vineyards around the world. This study aimed to evaluate the use of cellulose fibers to reduce the negative effects caused by *Botrytis cinerea* in musts and wines from Chardonnay grapes (*Vitis vinifera* L.) and contribute to the development of a new technology to improve the quality of wines. whites. The effects of cellulose fibers were compared with a commercial gallic tannin recommended for the same purpose. This commercial gallic tannin has a considerably higher purchase price than cellulose, around 65% more expensive. The experiment consisted of eight treatments and three replications with different doses of each product. The musts and wines obtained were analyzed for basic composition, volatile compounds, color index and phenolic compounds, according to the official Brazilian methodology, and the resulting wines were sensorially evaluated by a team of twelve qualified tasters. The presence of rot caused by *Botrytis cinerea* altered the composition of the musts and the quality of the wines obtained. The musts obtained from rotten grapes (T2) showed the highest levels of volatile acidity and gluconic acid due to the action of oxidative enzymes present in the fungus. Both the use of gallic tannin and cellulose fiber were efficient in reducing the volatile acidity levels of the must, presenting lower values ??than the must with untreated rot (T2). The addition of 1.5 g.Kg⁻¹ of cellulose fibers (T8) resulted in the lowest concentrations of acids coumaric and epicatechin in wines. Few variations were found between the wines obtained in terms of fatty acid analysis. However, regarding sensory characteristics, wines obtained from healthy untreated grapes (T1) exhibited a general trend of greater positive intensity, clarity and quality, a fact that is justified by the quality of the grape being linked to better acceptance of the final product. However, the use of cellulose fibers (T6, T7 and T8) favored the results of the vinification of white Chardonnay grapes with *Botrytis cinerea*, mitigating its negative effects, and

proved to be more effective than the use of commercial gallic tannin, approaching the values obtained from healthy grapes in the global assessment of sensory analysis.

Keywords: Botrytis cinerea, rot, grape, wine, cellulose fiber, gallic tannin.

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Botrytis cinerea*, acarreta danos tanto à produtividade como à qualidade da uva. Afeta diretamente a qualidade do vinho pela degradação de compostos indesejáveis para o vinho, afetando desde a vinificação, conservação e qualidade gustativa do produto final, pois diminui o teor de açúcar do mosto, aumenta a acidez volátil e torna o vinho mais susceptível à oxidação (MENEGUZZO et. al., 2006; SÔNEGO et. al. 2005; LORRAIN et al. 2013).

O controle da podridão necessita de uma série de medidas preventivas, tais como: pulverização com fungicidas, proporcionar uma boa aeração e insolação dos cachos através da exposição adequada; aplicação de tratamentos culturais como a desfolha, poda verde e adubação nitrogenada adequada, remover restos de poda e tecidos vegetais das videiras dos vinhedos (WILCOX, 2014).

Assim que a película do bago de uva é rompida, o suco da uva fica exposto ao ar e as enzimas começam a atuar. A lacase é produto da infecção do fungo *Botrytis cinerea*, que torna a uva imprópria para a elaboração de vinho, pois diminui o teor de açúcar do mosto, aumenta a acidez volátil, degrada compostos fenólicos prejudicando a cor, o aroma e o sabor dos vinhos. A alta incidência de podridão e a grande quantidade produzida de enzima lacase tem conseqüências econômicas nefastas na viticultura (FERNÁNDEZ M, et al 2012).

Existem atualmente disponíveis no mercado preparados de taninos gálico em solução que são recomendados para diminuir os defeitos da podridão. Um preparado comercial de tanino gálico, com propriedades físico-químicas particulares, destinado à vinificação de mostos brancos e rosados. É recomendado pelo seu fabricante por apresentar grande eficiência na redução da atividade de enzimas oxidativas (lacase e tirosinase), precipitando parte das proteínas instáveis, com melhoria da clarificação dos mostos de safras com problemas de *Botrytis* (LAFFORT, 2013).

Segundo Sathishkumar et al. (2014) a celulose é o suporte mais adequado para imobilização enzimática da lacase, além de ter baixo custo de obtenção. Estes autores imobilizaram lacases para tratamento de efluentes com suporte celulósico. Durán et al. (2002) verificaram que as lacases interagem com as fibras de celulose e em pH baixo a adsorção é maior.

A imobilização da lacase pode ocorrer por adsorção devido a atração das cargas opostas entre a celulose e a lacase (DURÁN et al. 2002). As partículas agrupam-se formando pequenos flocos que decantam até o fundo do recipiente (FERNÁNDEZ et al. 2012).

A variedade Chardonnay foi escolhida para ser utilizada neste experimento devido sua grande representatividade entre as variedades mais utilizadas para a elaboração de espumantes e vinhos brancos na região da Serra Gaúcha e no mundo e por características que favorecem o desenvolvimento da podridão. As variedades brancas em geral, são mais sensíveis do que as tintas, ao ataque do fungo devido a menor espessura de sua película (CAMARGO, 2003; ZANUS, 2005; GIOVANNINI e MANFROI, 2009).

Por esta razão, o objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de fibras de celulose para redução dos efeitos negativos causados pelo *Botrytis cinerea* em mostos e vinhos provenientes de uva Chardonnay e contribuir para desenvolvimento de uma nova tecnologia para melhorar a qualidade dos vinhos brancos. Concomitante ao uso de fibras de celulose, foi testado o emprego de um tanino gálico enológico comercial, proposto para o mesmo fim.

2 METODOLOGIA

2.1 AMOSTRAS

O experimento foi realizado na safra de 2017 com uvas da cultivar Chardonnay, enxertada em porta-enxerto ‘Paulsem 1103’ e com espaçamento de 2,7 m entre filas e 1,5 m entre plantas, provenientes de um vinhedo implantado em 2009 no distrito do Vale dos Vinhedos, Bento Gonçalves (latitude -29.20073396 e longitude -51.55826545). As plantas são conduzidas em sistema latada descontínua com fileiras de 55 metros na direção leste-oeste, com poda mista.

Para elaboração do vinho foram colhidos 130 Kg de uva branca vinífera Chardonnay com e sem a presença do fungo *Botrytis cinerea*.

2.2 DESENHO EXPERIMENTAL

As uvas foram monitoradas ao longo da maturação através da medição do grau glucométrico (teor de açúcar) e incidência da infecção da *Botrytis cinerea*. O monitoramento ocorreu uma vez por semana, analisando aleatoriamente os cachos de uva ao longo da parcela.

A incidência e a severidade da *Botrytis cinerea* foram avaliadas no momento da colheita descrita por Martins et al. (2009). Para obter a incidência da doença foi observado a presença ou ausência do patógeno em pelo menos uma baga em relação ao total de bagas do cacho. A severidade foi obtida através da porcentagem de bagas colonizadas pelo fungo em relação ao total de bagas do cacho.

As uvas colhidas foram separadas em dois grupos: um grupo menor formado apenas por uvas sadias, sem incidência visível de infecção fúngica (0% da área do cacho afetados), ou seja, uvas com características ideais para vinificação. O segundo grupo, maior, composto por uvas com bagas visivelmente afetadas pelo *Botrytis cinerea*, onde a severidade da infecção das bagas representou 25% a 40% da área do cacho.

A colheita das uvas ocorreu de forma manual no dia 29 de janeiro de 2017 a partir das sete horas da manhã. Os procedimentos adotados na colheita levaram em

consideração a preservação da integridade física das uvas, evitando as temperaturas altas do dia, e com o cuidado de evitar trepidações ou sacolejos demasiados.

As doses utilizadas de tanino gálico foram a máxima (20g.hL^{-1}), mínima (5g.hL^{-1}) e média (10g.hL^{-1}) informadas e sugeridas pelo fornecedor Laffort.

No caso da fibra de celulose empregada, como se trata de uma técnica inovadora na área enológica, foi utilizado uma dose na qual a quantidade de $0,5\text{ g.Kg}^{-1}$ de celulose pudesse cobrir 33,3% da área total do cacho, outra com 1 g.Kg^{-1} de celulose cobrisse aproximadamente 66,6% da área e dose máxima de $1,5\text{ g.Kg}^{-1}$ de celulose cobrisse totalmente a área.

Oito experimentos foram realizados, em triplicata, conforme segue abaixo e representado no anexo A:

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de $0,05\text{ g.L}^{-1}$ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de $0,1\text{ g.L}^{-1}$ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de $0,2\text{ g.L}^{-1}$ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de $0,5\text{ g.Kg}^{-1}$ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg^{-1} de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de $1,5\text{ g.Kg}^{-1}$ de celulose;

Realizada a colheita das uvas, foi determinado o grau glucométrico pelo mostímetro °Babo. Em seguida as uvas foram pesadas e separadas em seus grupos. As uvas que não receberam o tratamento com celulose (T1, T2, T3, T4 e T5) seguiram diretamente para a prensagem em sistema mecânico. O mosto resultante foi acondicionado em garrações de capacidade de 4,6 L e adicionado metabissulfito de potássio na dose de 70 mg.L^{-1} .

Nos tratamentos T3, T4 e T5 foram adicionados a quantidade estabelecida de tanino gálico na forma líquida, dissolvida no próprio mosto.

As uvas que receberam a adição de celulose foram distribuídas imediatamente, ainda inteiras, em um recipiente de aço-inox com capacidade de 200 L de forma que todas as uvas ficassem expostas para receber adição de celulose em forma de fibra.

Após a adição as uvas foram prensadas diretamente em sistema mecânico, o mosto proveniente foi acondicionado em garrações de capacidade de 4,6 L e adicionados de metabissulfito de potássio na dose de 70 mg.L⁻¹.

Uma alíquota de 300 mL de cada tratamento foi retirada para posterior realização das análises e congeladas em freezer a -18 °C.

Os mostos previamente preparados nos garrações foram destinados à clarificação e *debouirage*, sendo inicialmente resfriados a uma temperatura de 3° C por 24 horas e em seguida realizada a *trasfega* (sifonagem) para a separação das borras.

Finalizada a *trasfega*, adicionou-se a levedura seca ativa (*Saccharomyces cerevisiae* Zymaflore X16), na proporção de 0,2 g.L⁻¹ de mosto, dose recomendada pelo fabricante. Não foi realizada a *chaptalização* (adição de açúcar) dos mostos.

Os garrações (4,6L) foram fechados com válvulas de Müller, de maneira que a fermentação dos mostos ocorresse em condições anaeróbias. Estes recipientes foram colocados em ambiente com temperatura entre 18-20°C. A fermentação teve seu término constatado pela parada de desprendimento de CO₂, pela densidade e também através de análise de açúcar residual pelo método de Fehling. Neste estudo a fermentação alcóolica durou 15 dias.

A fermentação malolactica (FML) foi evitada, pois é o principal meio para reduzir a acidez total, através da descarboxilação do ácido L-málico e neste caso devido este ser branco e jovem, buscamos a característica de frescor proveniente do ácido málico.

Uma vez finalizada a fermentação alcoólica, o vinho foi separado novamente das borras por sifonagem e colocado em câmara fria a 2 °C por 20 dias, para realizar a estabilização tartárica e clarificação.

Após esta etapa o vinho *trasfegado*, por sifonagem, foi engarrafado com prévia correção de SO₂ com 40 mg.L⁻¹.

2.3 MATERIAIS

A fibra de celulose utilizada neste experimento foi a First Fibra Super, da Ever Brasil. Estas fibras possuem um altíssimo poder adsorvente e uma elevada superfície de filtração devido a sua alta pureza e sua fragmentação em diversos tamanhos. Não são colmatantes e são totalmente inertes quanto ao sabor, odor e metais pesados.

O Tanino utilizado foi o Tanino Galalcool, tanino gálico de dissolução instantânea, destinados à vinificação de mostos brancos e rosados, da marca Laffort. Segundo o fabricante, trata-se de um extrato de tanino gálico, com propriedades físico-químicas adequadas para reduzir e inibir a atividade de enzimas naturais de oxidação como a lacase e tirosinase.

A levedura utilizada neste trabalho foi a *Saccharomyces cerevisiae* Zymaflore X16 da marca Laffort. segundo o fabricante é uma estirpe proveniente de cruzamento, recomendada para vinhos brancos aromáticos com forte produção de aromas fermentativos mesmo em condições difíceis.

2.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas do mosto e do vinho foram realizadas nos laboratórios: Lavin, Enolab, Laboratório de Referência Enológica (LAREN) e na Vinícola Michele Carraro.

2.4.1 Análises Clássicas

Os vinhos foram submetidos às análises de álcool, densidade, acidez total, acidez volátil, açúcares redutores e pH segundo a legislação vigente do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2005).

Para a determinação do índice de cor, utilizou-se um Espectrofotômetro com a leitura da absorbância nos comprimentos de onda de 420 nm (amarelo), 520 nm (vermelho) e 620 nm (azul) através de uma cubetas de quartzo de 1 mm de caminho ótico. Esta foi preenchida com a amostra de vinho sem diluição, conforme descrito por Riberéau-Gayon et al (2003).

2.4.2 Determinação de álcoois superiores, etanal e metanol

As determinações do conteúdo de etanal, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, hexanol, cis-3-hexan-1-ol, Trans-3-hean-1-ol e 2-fenil etanol foram realizadas simultaneamente por cromatografia

em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), conforme descrito em Bertrand (1981).

2.4.3 Determinação de acetatos, ésteres e ácidos graxos

A determinação do conteúdo de acetatos, ésteres e ácidos graxos foi realizada por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), conforme procedimentos de Bertrand (1981).

2.4.4 Determinação de tirosol, ácido caféico, e ácido ferrúlico

A determinação dos ácidos fenólicos foi realizada em cromatografia líquida de alta performance com uso de equipamento da Agilent Technologies Série 1100 com detector UV, conforme metodologia adaptada de Archier & Roggero (1990).

2.4.5 Determinação de ácido glucônico

A determinação do ácido glucônico foi realizada por método enzimático com leitura em espectrofotômetro a 340 nm, utilizando cubetas de 1cm, conforme metodologia de Zoecklein (1990).

2.4.6 Determinação dos compostos fenólicos totais em vinhos

Para a determinação dos compostos fenólicos totais, utilizou-se um espectrofotômetro no comprimento de onda de 280 nm e cubeta de quartzo de 10 mm. Esta foi preenchida com a amostra de vinho com diluição de 10 vezes, conforme descrito por Riberéau-Gayon et al (2003).

2.5 ANÁLISE SENSORIAL

Os vinhos foram avaliados através da análise sensorial às cegas, em cabine individual, por um grupo de doze enólogos e/ou técnicos em enologia com mais de 5 anos de experiência na área enológica. As amostras foram servidas à temperatura de

12±1°C em taças ISO. Os vinhos foram avaliados imediatamente após a abertura das garrafas.

A ficha de degustação utilizada foi a recomendada pela OIV (2009), sendo que os degustadores tinham conhecimento e experiência.

2.6 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico através do programa SPSS 23.0 for Windows pelo teste paramétrico ANOVA e comparadas as médias pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISES DO MOSTO PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS

Os resultados das análises do mosto para os diferentes tratamentos estão representados na tabela 1.

A concentração de açúcares no mosto (°Babo) não apresentou diferença estatística significativa entre a maioria dos tratamentos. Entretanto, o tratamento T2, que corresponde às uvas com podridão, apresentou diferença estatística em relação aos tratamentos T4 (uvas com *Botrytis cinerea* e adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico), T6 (uvas com *Botrytis* adicionas de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose) e T8 (uvas com *Botrytis* adicionas de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose).

Estes valores encontram-se entre 14 e 17° Babo, resultados semelhantes aos citados por Giovaninni e Manfroi (2009), para a variedade Chardonnay na região da Serra Gaúcha.

O pH é uma das características mais importantes do vinho, delimita a força dos ácidos quantificáveis do mosto ou do vinho e é essencial na estabilidade dos mesmos, sendo que os mostos apresentam um pH ácido entre 2,9 e 3,6 (GIOVANINNI e MAFROI, 2009). Com base nas análises, pode-se observar que o pH em todos os tratamentos apresentaram valores considerados normais para a vinificação. Observou-se também uma diferença significativa entre os tratamentos T1 (uvas sadias), que apresentou menor valor de pH que nos tratamentos T3, T4 (com tanino gálico), T6 e T7 (com fibras de celulose).

Tabela1: Características físico-químicas dos mostos da uva Chardonnay, safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.

VARIAVEIS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
°Babo	16,1±0,47 ^{a,b}	16,0±0,20 ^b	16,2±0,06 ^{a,b}	16,4±0,26 ^a	16,3±0,12 ^{a,b}	16,5±0,06 ^a	16,2±0,15 ^{a,b}	16,4±0,21 ^a
Açúcares Redutores (g.L⁻¹)	175,7±6,0 ^a	173,4±2,35 ^a	172,9±0,68 ^a	175,4±1,14 ^a	175,8±3,16 ^a	173,1±1,03 ^a	172,0±2,29 ^a	175,8±1,39 ^a
pH Mosto	3,19±0,06 ^b	3,29±0,05 ^{a,b}	3,31±0,01 ^a	3,31±0,01 ^a	3,26±0,04 ^{a,b}	3,30±0,02 ^a	3,36±0,05 ^a	3,29±0,04 ^{a,b}
Acidez Volátil (meq.L⁻¹)	2,11±0,12 ^f	4,94±0,22 ^a	4,07±0,11 ^b	3,69±0,20 ^{c,d}	3,66±0,15 ^{c,d}	3,81±0,20 ^{b,c,d}	3,33±0,15 ^e	3,30±0,10 ^e
Glicerol (g.L⁻¹)	1,69±0,07 ^c	1,78 ±0,02 ^{b,c}	1,8±0,07 ^{b,c}	1,91±0,16 ^{b,c}	1,81±0,32 ^{b,c}	1,68±0,35 ^c	2,03±0,12 ^{a,b}	2,15±0,01 ^a
Ácido Glucônico	0,39±0,02 ^f	1,01±0,03 ^a	0,98±0,02 ^a	0,84±0,02 ^b	0,47±0,04 ^e	0,77±0,04 ^c	0,58±0,04 ^d	0,36±0,03 ^f

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

A acidez volátil do mosto, os teores de ácido glucônico e de glicerol, são indícios da qualidade sanitária da uva para vinificação, concentrações elevadas desses compostos são indicativos de uvas com ataque de *Botrytis cinerea* (MENEGUZZO et al., 2006). Neste estudo, foi demonstrado que as uvas sem podridão (T1) apresentaram o menor teor de acidez volátil em comparação às uvas com podridão sem tratamentos (T2). Tanto a adição de tanino gálico como a de fibras de celulose foram eficientes para a redução da acidez volátil, apresentando valores inferiores ao mosto com podridão sem tratamento (T2). Porém, a fibra de celulose demonstrou ser mais eficiente que o tanino nas duas concentrações, 1 e 1,5g.Kg⁻¹ (T7 e T8).

Uvas com podridão, especialmente devido ao *Botrytis cinerea*, originam vinhos com maiores teores de glicerol (AMERINE & ROESSLER, 1983). O uso de tanino gálico em diferentes concentrações (T3, T4 e T5) e o uso de fibras de celulose (T7 e T8) não foram eficientes para a redução do nível de glicerol. Entretanto, a aplicação de celulose na menor concentração de 0,5g.Kg⁻¹ (T6) permitiu uma redução dos níveis do mesmo a um valor igual ao mosto T1, proveniente de uvas sadias sem presença do *Botrytis cinerea*.

O teor de ácido glucônico é um índice muito utilizado para indicar ataques de *Botrytis cinerea* em mostos, sendo o produto da oxidação da glicose, presente nas bagas, pelo metabolismo do fungo (REBÉREAU-GAYON et al, 2006). A OIV recomenda que os valores de ácido glucônico nos vinhos fiquem abaixo de 0,2 - 0,3 g.L⁻¹ e salienta que valores acima de 1,0 g.L⁻¹ indicam um estágio de infestação fúngica, o que foi confirmado no presente trabalho. Houve diferença significativa em quase todos os tratamentos. As uvas sem podridão (T1) e após o tratamento com 1,5 g.Kg⁻¹ de fibras de celulose (T8) apresentaram os menores valores, comprovando a maior eficiência deste tratamento, pois permitiu a redução da concentração do ácido glucônico para níveis normais de uvas sãs. Os tratamentos T2 (uvas com podridão) e T3 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de tanino gálico) apresentaram as maiores quantidades, demonstrando que a concentração de tanino gálico não foi suficiente para a redução do ácido glucônico. Entretanto, as maiores concentrações tanto de tanino gálico (T4 e T5) como de celulose (T6, T7), também permitiram a redução deste composto embora em menores proporções que o tratamento T8 (com fibras de celulose).

3.2 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRAS DE CELULOSE NA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO VINHO

Os resultados das análises físico-químicas dos vinhos estão apresentados na tabela 2.

A concentração de etanol, principal composto da fermentação do mosto, depende do teor de açúcar presente na uva (safra, variedade, condições do solo, luminosidade e precipitação) e da chaptalização (RIBÉREAU-GAYON, 2006). Apesar de não ter sido realizada a chaptalização, a concentração média de álcool dos diferentes tratamentos foi de 9,98% (v/v). Houve diferença estatística no tratamento T2 (uvas com *Botrytis cinerea* sem nenhum tratamento), em relação a todos os demais, o mesmo apresentou o menor valor de etanol 9,76%v/v. O menor teor alcoólico do vinho foi devido, principalmente, ao menor teor de açúcar no mosto em função da podridão.

A densidade está relacionada com o teor alcoólico e os açúcares redutores do vinho. Não foi observada diferença estatística, mostrando que nenhum dos tratamentos alterou este parâmetro.

Durante a realização da fermentação alcóolica nos vinhos, existe a formação do glicerol. Este é o terceiro composto mais abundante nos vinhos e a sua quantidade no vinho depende de diversos fatores, como o teor inicial de açúcar no mosto, da espécie de levedura, de condições da fermentação (temperatura, aeração, sulfitagem, e outros) e, principalmente, está relacionado à presença de *Botrytis cinerea* nas uvas (MENEGUZZO et al, 2006). Segundo Alpuim (1997), uvas que apresentam *Botrytis cinerea* costumam ter maiores índices de glicerol. O que ficou bem demonstrado em nosso estudo que apresentou a maior concentração no tratamento T2 (uvas com podridão sem tratamento) sendo estatisticamente diferente de todos os outros tratamentos, comprovando que o emprego de tanino gálico e fibras de celulose reduziram as quantidades de glicerol. O tratamento mais eficiente foi a fibra de celulose na contração de 1,5g.Kg⁻¹ (T8), que permitiu a redução do glicerol ao nível de uvas sãs (T1).

Tabela 2: Características analíticas dos vinhos da uva Chardonnay, safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.

VARIAVEIS	TRATAMENTOS							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Etanol (%v/v)	10,1±0,10 ^a	9,76±0,08 ^b	10,01±0,05 ^a	10,1±0,04 ^a	10,0±0,03 ^a	9,98±0,07 ^a	9,99±0,02 ^a	10,0±0,02 ^a
Densidade	992,4±2,52 ^a	993,3±1,53 ^a	991,7±2,08 ^a	991,3±2,31 ^a	992,3±3,21 ^a	993,3±3,21 ^a	991,7±0,58 ^a	992,3±0,58 ^a
Glicerol (g.L⁻¹)	9,36±0,10 ^c	11,8±0,17 ^a	9,65±0,14 ^b	9,52±0,12 ^{b,c}	9,43±0,06 ^{b,c}	9,41±0,17 ^{b,c}	9,39±0,15 ^{b,c}	9,33±0,10 ^c
Acidez total (g.L⁻¹)	7,71±0,10 ^b	8,32±0,08 ^a	8,12±0,12 ^a	8,15±0,09 ^a	7,85±0,14 ^b	8,20±0,09 ^a	8,22±0,19 ^a	7,90±0,09 ^b
Acidez Volátil (meq.L⁻¹)	4,00±0,00 ^b	6,20±0,20 ^a	4,10±0,10 ^b	3,20±0,30 ^c	2,10±0,10 ^d	0,07±0,06 ^e	0,03±0,03 ^e	n.d. ^e
pH	3,03±0,01 ^d	3,19±0,02 ^a	3,1±0,02 ^{b,c}	3,02±0,02 ^d	3,02±0,02 ^d	3,12±0,02 ^b	3,07±0,02 ^c	3,12±0,02 ^b
Açúcares redutores (g.L⁻¹)	0,47±0,16 ^c	1,23±0,21 ^a	0,79±0,10 ^b	0,79±0,12 ^b	0,65±0,11 ^{b,c}	0,56±0,23 ^{b,c}	0,77±0,20 ^b	0,83±0,10 ^b
Índice de cor (420mn)	0,11±0,01 ^b	0,15±0,01 ^a	0,14±0,01 ^a	0,16±0,01 ^a	0,15±0,01 ^a	0,11±0,01 ^b	0,11±0,01 ^b	0,08±0,01 ^c
Turbidez (NTU)	3,51±0,09 ^b	4,46±0,13 ^a	2,82±0,01 ^d	2,77±0,07 ^{d,e}	2,67±0,03 ^e	2,94±0,03 ^c	2,59±0,05 ^e	1,97±0,03 ^f

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

n.d.: Não detectado.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

A acidez total dos vinhos é definida como a soma da concentração de ácidos orgânicos. Os principais ácidos do vinho são tartárico, málico, cítrico, provenientes da uva, e láctico, succínico e acético provenientes da fermentação (ZOECKLEIN et al., 2000). Esta acidez influencia a estabilidade e coloração do vinho, constituindo uma das características gustativas mais importantes (RIZZON et al., 1999). Segundo a legislação brasileira de acidez total no vinho é de 4 a 9 g.L⁻¹ (BRASIL,1998).

A acidez total diferenciou estatisticamente entre os tratamentos. Os maiores níveis foram observados nos tratamentos T2, T3, T4, T6 e T7. Uvas sadias sem tratamento (T1) e após o tratamento com as maiores doses de tanino gálico (T5) e fibras de celulose (T8) apresentaram os menores valores, demonstrando uma maior eficiência destes tratamentos.

A acidez volátil do vinho é constituída de ácidos voláteis, sendo o ácido acético o principal componente. Segundo a definição da OIV, a acidez volátil é constituída pelos ácidos que pertencem à série acética e que se encontram no vinho quer no estado livre quer sob a forma de sais.

O ácido acético representa mais de 90% dos ácidos voláteis (RIBÉREAU-GAYON et al, 2003; ZOECKLEIN et al, 1990). A legislação estabelece, para o vinho, um máximo de 20,0 meq.L⁻¹ de acidez volátil (BRASIL,1998).

De modo geral, observou-se baixos níveis de acidez volátil nos vinhos elaborados. O maior valor encontrado foi no tratamento T2, provavelmente em decorrência do grau de infecção do *Botrytis cinerea*, que facilita a reprodução de bactérias acéticas.

O uso de tanino gálico nos três tratamentos (T3, T4 e T5) foi eficiente, pois diminuiu os índices de acidez volátil progressivamente com as doses empregadas, devido à sua atividade natural antioxidante. Porém, o emprego de fibras de celulose nos três tratamentos (T6, T7 e T8) apresentou maior eficiência que o tanino gálico, devido provavelmente ao seu alto poder de adsorção da lacase que estimula a produção de ácido acético. Todos os tratamentos apresentaram menores concentrações que a encontrada no tratamento T1, proveniente de uvas sadias, com exceção do tratamento T3 (0,05 g.L⁻¹ de tanino gálico).

O pH ideal para vinhos situa-se entre 2,8 e 3,8 (AMERINE & OUGH, 1976). Os baixos valores de pH, resultantes da presença de ácidos livres no vinho têm um efeito antimicrobiano benéfico, pelo fato de a maioria das bactérias não crescerem

nessas condições, além de proporcionar, frescor e o aparecimento de descritores frutados e florais no vinho branco (RIZZON et al., 2000).

O pH situou-se entre 3,02 e 3,19, valores usualmente encontrados em vinhos da região da serra gaúcha (MENEGUZZO et. al., 2006). O tratamento T2, que corresponde às uvas com podridão sem tratamento, apresentou o maior valor. O emprego de tanino gálico nas doses 0,1 e 0,2 g.L⁻¹ (T4 e T5) apresentaram valores iguais aos pH do tratamento T1 (uvas sadias), comprovando sua eficácia.

Os açúcares redutores correspondem aos açúcares que não foram transformados em álcool durante a fermentação alcoólica, como pentoses (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Com base nas análises, pode-se observar que a quantidade de açúcares redutores no tratamento T2 foi maior e diferenciou-se estatisticamente de todos os outros tratamentos. Isto provavelmente foi devido à presença de *Botrytis cinerea*, que tem um efeito inibidor das leveduras de fermentação, o que dificulta a transformação da glicose e da frutose pelas leveduras e estimulando a formação de ácido acético (MENEGUZZO et. al., 2006).

A utilização de tanino gálico (T3, T4 e T5) e fibras de celulose (T6, T7 e T8) proporcionaram redução na quantidade de açúcar residual em comparação ao tratamento T2, favorecendo a fermentação alcoólica, devido à característica de precipitação de matérias proteicas e sólidos em suspensão.

A cor do vinho branco é determinada pelo índice de cor à 420nm. Valores elevados deste índice, acima de 0,12 indicam que os vinhos são de média a alta de intensidade, e estão relacionados com a oxidação dos mesmos (RIZZON et al., 1996). Mostos expostos às enzimas lacase e tirosinase podem transformar os ácidos cafeico e cumárico em quinonas, que tendem a polimerizar e formar componentes de coloração marrom (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006), conseqüentemente aumentando o índice de cor.

Neste experimento observamos que os maiores índices de cor ocorreram nos tratamentos T2 (com podridão) e T3, T4 e T5 (tratamento com tanino gálico). Já o tratamento com celulose (T6 e T7) apresentaram valores semelhantes ao vinho sem *Botrytis* (T1). O tratamento com maior dose de celulose (T8) apresentou o menor índice comprovando a ação da celulose. A partir desses resultados é possível afirmar que o aumento da concentração de fibras de celulose reduziu o efeito da oxidação provocado

pela enzima lacase, diminuindo a intensidade de cor e contribuindo para a clarificação do vinho.

A turbidez é provocada pelas partículas em suspensão, principalmente por células de leveduras, substâncias pécticas, proteicas, e outros colóides. A determinação da turbidez é realizada pela difusão da luz em contato com as partículas. Em vinhos brancos, considera-se brilhante se os valores forem menor que 1,1NTU e turvo se maior que 4,4 NTU (REBÉREAU-GAYON et al, 2006). Neste estudo, o tratamento T2, proveniente de uvas com podridão, apresentou a maior turbidez. Tanto os tratamentos com tanino gálico quanto com fibra de celulose permitiram a diminuição da turbidez, sendo que o tratamento com utilização de 1,5 g.Kg⁻¹ de fibras de celulose (T8) apresentou o menor valor (1,97 NTU).

3.3 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRAS DE CELULOSE NOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO VINHO

3.3.1 Etanal, metanol e álcoois superiores

A Tabela 3 apresenta os valores de etanal, metanol e álcoois superiores dos vinhos elaborados com os diferentes tratamentos.

O etanal é formado no decorrer da fermentação alcoólica, sendo um produto do metabolismo primário da fermentação, produzido a partir de aminoácidos presentes no meio fermentativo e pela oxidação do etanol. Os teores de etanal encontrados neste estudo estão dentro de padrões normais para vinhos, porém estão abaixo do limiar de percepção em vinhos, que oscila entre 100 e 125 mg.L⁻¹ (RIBÉREAU-GAYON, 2003). Não houve diferença significativa entre os vinhos sem podridão (T1) e com podridão (T2), entretanto os tratamentos com tanino gálico e com fibra de celulose, apresentaram teores mais elevados.

O metanol é um álcool proveniente das pectinas, que está sempre presente no vinho em pequenas quantidades. A sua presença no vinho branco está relacionada com a eventual maceração da parte sólida, que ocorre no processo de extração do mosto (BERTRAND, 1981). O metanol é um composto tóxico para o sistema nervoso central, que ingerido em altas concentrações, pode causar cegueira, coma e até levar a morte (RIBÉREAU-GAYON et al., 1998).

Nenhum vinho apresentou diferença significativa entre tratamentos ou teor superior a 350 mg.L^{-1} , máximo de metanol estabelecido pela Legislação Brasileira (BRASIL,1998). Os teores registrados estão bem abaixo do limite máximo estipulado, indicando que não houve influência do tipo de tratamento empregado.

São chamados de álcoois superiores os compostos com mais de dois átomos de carbono que, juntamente com seus ésteres, desempenham importante papel no perfil aromático dos vinhos, agregando complexidade desde que estejam presentes em baixas concentrações. São produzidos através do metabolismo de aminoácidos ou de açúcares. Sua formação é favorecida em pH elevado, altas temperaturas e aeração do mosto (AMERINE & ROESSLER, 1983; RIBÉREAU-GAYON, 2006).

Tabela 3: Características analíticas dos álcoois superiores dos vinhos da uva Chardonnay, safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.

VARIABLES (mg.L ⁻¹)	TRATAMENTOS							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Etanal	30,4±0,34 ^e	29,6±0,36 ^e	36,8±0,58 ^c	36,5±0,66 ^c	31,8±0,38 ^d	31,9±0,57 ^d	44,0±0,34 ^b	46,1±1,21 ^a
Metanol	55,4±17,2 ^a	63,1±2,61 ^a	63,3±2,00 ^a	65,9±0,93 ^a	65,3±0,76 ^a	64,1±2,89 ^a	62,3±1,17 ^a	64,5±0,97 ^a
1-propanol	24,4±0,35 ^{b,c}	26,1±0,30 ^b	27,8±0,29 ^a	27±0,65 ^{a,b}	24,2±0,22 ^c	23,6±0,64 ^c	25,7±0,91 ^b	26,2±0,29 ^b
2-metil-1-propanol	33,9±0,80 ^{c,d}	34,2±1,36 ^{b,c}	38,1±0,66 ^a	37,7±0,23 ^a	34,0±0,23 ^{c,d}	34,6±1,15 ^{b,c}	32,1±0,80 ^e	32,7±0,67 ^{d,e}
2- e 3-metil-1-butanol	163,3±6,88 ^{b,c}	160,1±3,13 ^{c,d}	156,0±0,54 ^d	156,6±0,38 ^d	168,4±0,08 ^a	165,7±2,64 ^{a,b}	157,7±0,63 ^d	159,7±0,56 ^{c,d}
Hexanol	n.d. ^c	1,13±0,27 ^a	0,98±0,13 ^a	0,96±0,12 ^{a,b}	0,94±0,14 ^{a,b}	0,89±0,15 ^{a,b}	0,57±0,27 ^b	0,78±0,21 ^{a,b}
2-fenil etanol	24,6±2,56 ^b	27,9±0,75 ^{a,b}	30,3±3,03 ^a	25,5±2,45 ^{a,b}	31,0±3,30 ^a	28,4±3,83 ^{a,b}	29,9±3,07 ^{a,b}	27,8±3,81 ^{a,b}

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

n.d.: Não detectado.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

O 1-propanol é um composto que pode causar um aroma prejudicial, lembrando mofo, e seu limiar de percepção olfativa é de 500 mg.L⁻¹, e está presente em todos os vinhos em concentrações entre 10 e 50 mg.L⁻¹ (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003; SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). Neste trabalho foram encontrados valores similares a outros estudos de vinhos brasileiros de variedade Chardonnay (RIZZON, et al. 2009). Os resultados de 1-propanol apresentaram diferenças significativas entre tratamentos. Os tratamentos T6 (0,5g.Kg⁻¹ de fibras de celulose) e T5 (0,2 g.L⁻¹ de tanino gálico) apresentam concentração semelhante ao T1 (uvas sem podridão) e diferenciaram-se significativamente dos outros tratamentos.

O 2-metil-1-propanol é precursor de aromas negativos para os vinhos e encontrado comumente com valores que variam de 50 à 150 mg.L⁻¹ (RIBÉREAU-GAYON et al, 2003), sendo que seu limiar de percepção é de 40 mg.L⁻¹ (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). Os teores de 2-metil¹-propanol não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos sem podridão (T1) e com podridão (T2). Entretanto, o tratamento T7, (uvas com presença de *Botrytis cinerea* com adição de 1 g.Kg⁻¹ de fibras de celulose) apresentou a menor concentração.

O hexanol é proveniente da uva e contribui para o aroma herbáceo dos vinhos, comumente encontrado em maiores quantidades em vinhos elaborados com uvas com baixo grau de maturação (MENEGUZZO et al. 2006). Em vinhos elaborados com uvas submetidas à técnica de prensagem direta dos cachos inteiros, a concentração destes componentes é menor devido ao pouco tempo de contato do mosto com as cascas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Os valores normais relatados de hexanol em vinhos variam de 0,3 à 12 mg.L⁻¹, sendo que seu limiar de percepção é de 4 mg.L⁻¹ (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). Neste trabalho os vinhos foram elaborados através da prensagem direta das uvas, justificando a baixa concentração do hexanol.

O 2-fenil etanol é um importante componente aromático que confere aromas de rosas e florais, produto do metabolismo dos açúcares, suas concentrações variam entre 10 e 180 mg.L⁻¹ em vinhos finos (RIBÉREAU-GAYON et al, 2003; LILLY et al., 2006). Seu limite de percepção em vinho é de 10 mg.L⁻¹ (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). Os valores encontrados neste trabalho estão dentro dos

níveis normais de concentração e são similares aos encontrados em vinhos brasileiros de variedade Chardonnay em outros estudos (RIZZON, et al. 2009).

Não houve diferença estatística entre as uvas sadias (T1) e uvas com podridão (T2) com relação a concentração do 2-fenil etanol, porém os tratamentos T3 (0,05 g.L⁻¹ de tanino gálico) e T5 (0,2g.L⁻¹ de tanino gálico) apresentaram maiores valores, quando comparados com o tratamento T1 (uvas sadias), demonstrando efeito positivo na utilização do tanino para qualidade aromática, resultado similar ao encontrado por Manfroi et al. (2009).

3.3.2 Ácidos graxos

Foram determinados sete ácidos graxos nos vinhos elaborados a partir de uvas brancas Chardonnay com e sem presença do patógeno *Botrytis cinerea*. A Tabela 4 apresenta os resultados encontrados.

Estes ácidos são formados em pequenas quantidades pelas leveduras e bactérias durante a fermentação alcoólica. Quando estão presentes em maiores concentrações, representam um indício de que ocorreram contaminações bacterianas. Apresentam descritores aromáticos indesejados, tais como manteiga, rançoso e queijo estragado. (RIBÉREAU- GAYON et al., 2006).

Os valores médios encontrados para os ácidos isobutírico, butírico, isovalérico, hexanóico, e dodecanóico não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos.

O ácido octanóico é um constituinte importante no aspecto fermentativo, está relacionado às paradas de fermentação nos vinhos e também é responsável pelos descritores de queijo e oleoso (PEINADO et al., 2004; GÓMEZ-MÍGUEZ et al., 2007). Em todos os experimentos os valores encontrados de ácido octanóico estão abaixo do limiar de percepção de 8,8 mg.L⁻¹ (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). Neste trabalho não houve diferença significativa entre os tratamentos T1 (uvas sadias) e o tratamento T2 (uvas com podridão). O tratamento T5 (uvas com podridão e 0,2g.L⁻¹ de tanino gálico) apresentou diferença significativa com a maioria dos tratamentos, porém não diferenciou-se dos tratamentos T3 (uvas com podridão e 0,05g.L⁻¹ de tanino gálico) e T8 (uvas com podridão e 1,5g.Kg⁻¹ de fibras de celulose).

O ácido decanóico apresentou valores semelhantes aos encontrados em vinho brasileiros da variedade Chardonnay (WEBBER et al, 2014). Este ácido possui limiar de percepção olfativa de 6 mg.L^{-1} (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005), com aromas de gordura e ranço (PEINADO et al., 2004). Este composto não apresentou diferença significativa entre os tratamentos T1 (uvas sadias) e o T2 (uvas com podridão), entretanto, o tratamento T6, proveniente do mosto de uvas com *Botrytis cinerea* e adição de $0,5 \text{ g.Kg}^{-1}$ de fibra de celulose, apresentou o menor teor e o tratamento T5 (adição de $0,2 \text{ g.L}^{-1}$ de tanino) apresentou o maior valor em relação ao vinho de uvas sadias (T1). Todos os valores encontrados estão abaixo do limiar de percepção.

Tabela 4: Características analíticas dos ácidos graxos dos vinhos da uva Chardonnay, safra 2017, do Vale dos Vinhedos – RS.

VARIÁVEIS (mg.L ⁻¹)	TRATAMENTOS							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Ácido Isobutírico	0,18±0,13 ^a	0,21±0,05 ^a	0,26±0,05 ^a	0,24±0,02 ^a	0,27±0,04 ^a	0,21±0,09 ^a	0,27±0,02 ^a	0,26±0,03 ^a
Ácido Butírico	0,81±0,08 ^a	1,02±0,06 ^a	1,04±0,15 ^a	0,97±0,03 ^a	1,05±0,25 ^a	0,64±0,50 ^a	0,93±0,30 ^a	0,82±0,28 ^a
Ácido Isovalérico	8,18±1,31 ^a	8,05±1,41 ^a	8,59±0,08 ^a	8,71±0,09 ^a	8,68±0,37 ^a	8,69±0,07 ^a	8,18±0,88 ^a	8,36±1,23 ^a
Ácido hexanóico	0,01±0,01 ^a	n.d. ^a	n.d. ^a	n.d. ^a	0,01±0,01 ^a	n.d. ^a	n.d. ^a	0,02±0,02 ^a
Ácido octanóico	5,67±0,03 ^{b,c,d}	5,41±0,72 ^{c,d,e}	6,12±0,18 ^{a,b}	5,8±0,38 ^{b,c,d}	6,69±0,33 ^a	5,30±0,17 ^{d,e}	5,54±0,15 ^{b,c,d}	6,06±0,63 ^{a,b,c}
Ácido decanóico	2,28±0,04 ^b	2,26±0,16 ^{a,b}	2,42±0,18 ^{a,b}	2,34±0,31 ^{a,b,c}	2,53±0,03 ^a	1,83±0,03 ^d	2,05±0,01 ^c	2,41±0,17 ^{a,b}
Ácido dodecanóico	0,15±0,05 ^a	0,13±0,01 ^a	0,12±0,02 ^a	0,12±0,02 ^a	0,12±0,01 ^a	0,14±0,03 ^a	0,15±0,03 ^a	0,15±0,03 ^a

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

n.d.: não detectado.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

3.3.3 Ésteres do ácido acético e ácidos graxos

Os resultados encontrados para a concentração de ésteres nos vinhos elaborados de uvas brancas Chardonnay com e sem presença do patógeno *Botrytis cinerea* podem ser observados na Tabela 5.

Os ésteres podem ser formados por duas vias: a esterificação enzimática, durante o processo fermentativo e a esterificação química, durante o envelhecimento (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Os ésteres, em geral, apresentam aromas agradáveis frutados e florais, sendo altamente desejados nos vinhos, com exceção do acetato de etila (PEINADO et al., 2004).

O acetato de etila contribui negativamente para a qualidade do vinho (MENEGUZZO et al., 2006). Segundo Rizzon (1987), valores elevados de acetato de etila proporcionam gosto acético nos vinhos, além de aromas que recordam o solvente, verniz e cola, prejudicial, portanto, à sua qualidade. O acetato de etila representa aproximadamente 80% dos ésteres voláteis dos vinhos. Sua concentração usual varia de 22,5 à 63,5 mg.L⁻¹, enquanto seu limiar de percepção olfativa de 7,5 mg.L⁻¹ (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005).

Não houve diferença estatística significativa entre os vinhos elaborados com uvas sadias (T1) e os vinhos de uvas com podridão (T2). Observou-se um aumento na concentração de acetato de etila nos vinhos dos tratamentos T3 e T4 (menores concentrações de tanino gálico), porém observou-se uma redução dos teores com o maior acréscimo de tanino gálico (T5) e para todos os tratamentos com fibras de celulose, demonstrando a eficiência do uso deste produto independente da dose.

O acetato de isoamila é um dos mais importantes ésteres do ácido acético, encontrados nos vinhos, sua característica olfativa lembra aroma de banana e sua origem é a esterificação dos álcoois isoamílicos (PEINADO et al., 2004). Os tratamentos T1 (uvas sadias), que obteve o maior teor (0,11mg.L⁻¹), apresentou diferença estatística entre todos os tratamentos, demonstrando que a sanidade da uva é importante para a qualidade aromática dos vinhos.

O acetato de hexila também apresenta características importantes para os aromas frutados encontrados nos vinhos, conferindo aroma de maçã verde e floral (PEINADO et al., 2004). Apresenta limiar de percepção de 0,7 mg.L⁻¹, sendo que os resultados

ficaram abaixo deste limiar (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). O acetato de hexila apresentou diferença estatística significativa entre os vinhos T1 (uvas sadias) e T2 (uvas com podridão). Com exceção do T3 (uvas podres e $0,05\text{g.L}^{-1}$ de tanino gálico), os tratamentos com tanino gálico (T4 e T5) e o tratamento com a menor concentração de fibras de celulose (T6) apresentaram valores menores, semelhantes ao T2 (uvas com podridão). Porém os tratamentos com maior concentração de celulose (T7 e T8) se mostraram eficientes para manter os teores de acetato de hexila, apresentando teores semelhantes com uvas sadias (T1).

Tabela 5: Características analíticas dos ésteres dos vinhos da uva Chardonnay, safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.

VARIÁVEIS (mg.L ⁻¹)	TRATAMENTOS							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Acetato de etila	30,6±0,30 ^c	30,37±0,47 ^c	33,8±0,94 ^a	31,6±0,66 ^b	29,57±0,26 ^d	29,2±0,20 ^d	29,2±0,46 ^d	29,3±0,51 ^d
Acetato de isoamila	0,11±0,01 ^a	0,01±0,01 ^b	0,02±0,01 ^b	0,01±0,01 ^b	0,02±0,01 ^b	0,01±0,01 ^b	0,01±0,01 ^b	0,01±0,01 ^b
Acetato de hexila	0,08±0,00 ^a	0,06±0,00 ^b	0,07±0,01 ^{a,b}	0,06±0,00 ^b	0,06±0,00 ^b	0,07±0,01 ^{a,b}	0,08±0,00 ^a	0,08±0,00 ^a
Octanoato de etila	0,10±0,01 ^c	1,14±0,31 ^a	1,18±0,14 ^a	1,11±0,01 ^a	0,35±0,35 ^{b,c}	1,01±0,09 ^a	0,78±0,55 ^{a,b}	1,13±0,10 ^a
Decanoato de Etila	0,52±0,01 ^a	0,43±0,02 ^b	0,58±0,07 ^a	0,55±0,02 ^a	0,50±0,03 ^a	0,43±0,02 ^b	0,51±0,01 ^a	0,59±0,09 ^a
Dodecanoato de etila	2,45±0,19 ^a	2,21±0,24 ^a	2,55±0,26 ^a	2,23±0,26 ^a	2,67±0,27 ^a	2,41±0,20 ^a	2,44±0,49 ^a	2,38±0,58 ^a
Acetato de feniletila	0,25±0,04 ^a	0,25±0,04 ^a	0,27±0,03 ^a	0,25±0,04 ^a	0,25±0,03 ^a	0,24±0,02 ^a	0,23±0,30 ^a	0,24±0,01 ^a

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

O octanoato de etila lembra aromas frutados (pera, abacaxi, banana, morango), frescos e adocicados, contribuindo positivamente para o aroma dos vinhos brancos (PEINADO et al., 2004). Seu limiar de percepção é de $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ (SWIEGERS et al., 2005; FRANCIS & NEWTON, 2005). Este éster apresentou diferença significativa entre os tratamentos T1 (uvas saudas) e T2 (uvas com podridão). Os tratamentos T2, T3, T4, T6, T7 e T8 não apresentaram diferenças significativas, porém o tratamento T5 que foi a maior concentração de tanino gálico ($0,2 \text{ g.L}^{-1}$) provocou uma redução no teor de octanoato de etila, indicando uma diminuição na qualidade aromática e ficando semelhante ao T1 (uvas saudas).

O decanoato de etila apresenta aromas de uva, óleo, pêra e vinoso, possui limiar de detecção na ordem de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ (RIBÉREAU-GAYON et al, 2003). Todos os resultados deste experimento se mostram acima deste limiar. Os resultados de decanoato de etila apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Tanto os tratamentos com adição de tanino gálico como a de fibras de celulose apresentaram valores superiores ao vinho com podridão sem tratamento (T2), evidenciando mais uma vez o benefício de seu emprego. Entretanto, apenas o tratamento T6, com a menor dose de celulose ($0,5 \text{ g.Kg}^{-1}$) não favoreceu a produção deste composto.

O dodecanoato de etila e o acetato de feniletila não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos.

3.4 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRAS DE CELULOSE NOS COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS DO VINHO

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos encontradas no reino vegetal. Estes compostos ajudam na avaliação da autenticidade de produtos regionais, na complementação de propriedades sensoriais dos vinhos e na avaliação a estabilidade oxidativa de vinhos (PEINADO et al., 2004). Os compostos fenólicos também são usados como marcadores do processamento tecnológico de vinificação e da idade de vinhos (RIBÉREAU-GAYON et al, 1998). Além disso, devido às suas propriedades antioxidantes, são considerados benéficos para a saúde (LORRAIN, 2013).

Os compostos fenólicos analisados nos vinhos elaborados são apresentados na Tabela 6.

Para os valores encontrados de compostos fenólicos totais à 280nm, não houve diferença estatística entre os vinhos provenientes de uvas sadias (T1) e os vinhos de uvas com podridão (T2), que apresentaram os menores teores em relação a todos os outros tratamentos. Ainda que os sintomas externos da *Botrytis* nos cachos não sejam evidentes, no caso do T1, pode haver presença da enzima lacase que oxida os compostos fenólicos. Porém, a adição de tanino gálico na dose de $0,2\text{g.L}^{-1}$ (T5) provocou um aumento da concentração dos compostos fenólicos totais, que obteve a maior concentração, visto que os taninos gálicos também são contabilizados como compostos fenólicos (GALIOTTI, 2007). Os três tratamentos com fibras de celulose também causaram um aumento nos níveis de compostos fenólicos totais, independente da dose acrescentada. Possivelmente foi devido à adsorção da lacase pelas fibras de celulose, não houve oxidação dos compostos fenólicos presentes.

As catequinas e epicatequinas, presentes principalmente em sementes de uvas, são os principais compostos fenólicos responsáveis pelo sabor e adstringência de vinhos (ABE et al, 2007; SILVA et al., 2005). Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos T1 (uvas sadias) e o T2 (uvas com podridão). Porém, a adição de taninos gálicos (T3, T4 e T5) resultou num aumento dos teores de catequina, o que era de se esperar, uma vez que a catequina juntamente com a epicatequina, são as unidades básicas dos taninos (VIVAS, 2001).

O uso de fibra de celulose (T6, T7 e T8) também favoreceu o aumento das concentrações de catequinas. Porém, à medida que se aumentou a concentração de celulose, houve uma redução nos teores, sendo que o tratamento T8 (maior concentração de fibra de celulose) apresentou teor semelhante aos tratamentos T1 e T2.

Tabela 6: Compostos fenólicos dos vinhos da uva Chardonnay safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.

VARIAVEIS (mg.L ⁻¹)	TRATAMENTOS							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Compostos fenólicos totais à 280 nm	4,39±0,04 ^c	4,33±0,14 ^c	4,92±0,04 ^b	4,94±0,02 ^b	5,08±0,05 ^a	4,92±0,06 ^b	4,90±0,01 ^b	4,87±0,01 ^b
Catequina	3,46±0,17 ^c	3,30±0,11 ^c	4,05±0,02 ^b	4,21±0,16 ^{a,b}	4,32±0,10 ^a	4,40±0,10 ^a	4,10±0,07 ^b	3,46±0,06 ^c
Epicatequina	1,49±0,02 ^b	1,34±0,01 ^c	1,82±0,03 ^a	1,86±0,03 ^a	1,80±0,10 ^a	1,87±0,06 ^a	1,43±0,05 ^b	1,15±0,10 ^d
Ácido cafeico	4,37±0,23 ^c	3,76±0,09 ^d	4,87±0,27 ^{b,c}	4,92±0,10 ^b	5,33±0,11 ^a	5,48±0,07 ^a	4,59±0,25 ^c	3,92±0,09 ^d
Ácido ferrúlico	0,26±0,01 ^a	0,26±0,01 ^a	0,28±0,02 ^a	0,27±0,03 ^a	0,27±0,04 ^a	0,28±0,03 ^a	0,26±0,02 ^a	0,24±0,03 ^a
Ácido cumárico	1,83±0,05 ^b	1,73±0,05 ^b	2,16±0,10 ^a	2,10±0,21 ^a	1,77±0,08 ^b	2,03±0,05 ^a	1,78±0,08 ^b	1,40±0,04 ^c
Tirosol	30,4±0,83 ^d	30,2±2,86 ^d	41,7±2,23 ^{b,c}	40,3±1,46 ^c	44,4±2,32 ^b	47,1±0,10 ^a	44,6±1,00 ^b	41,4±0,52 ^{b,c}

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

Já a concentração de epicatequina apresentou diferença significativa entre os vinhos de uvas sadias (T1) e uva com *Botrytis* (T2), ocorrendo uma diminuição do nível de epicatequina nas uvas com podridão (T2).

Quanto aos tratamentos com taninos gálicos (T3, T4 e T5) e com as fibras de celulose (T6, T7 e T8), a concentração de epicatequina apresentou o mesmo perfil que a concentração de catequina, resultando em um aumento na sua concentração após a adição dos taninos e uma diminuição progressiva nos teores com o aumento dos níveis de fibra de celulose. Este resultado era esperado, pois a epicatequina, juntamente com a catequina são as unidades básicas das moléculas dos taninos (VIVAS, 2001).

Entretanto concentração de catequina apresentou-se mais susceptível que a epicatequina com o acréscimo nas doses de fibra de celulose, uma vez que no tratamento T8 (1,5 g.Kg⁻¹ de fibra de celulose) obteve a menor concentração de todos os experimentos (1,15mg.L⁻¹) inclusive ao tratamento T1 (uvas sadias). Este fato pode ser explicado devido à capacidade de atração de cargas envolvendo a fibra de celulose, carga positiva e a epicatequina, carga negativa (ARAÚJO, 2015).

O ácido cumárico, o ácido cafeico e o ácido ferrúlico são a principal classe de ácidos fenólicos em vinhos brancos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003; GUERRA, 2001).

Os valores médios de ácido ferrúlico não se diferenciaram estatisticamente entre tratamentos.

A concentração de ácido cafeico apresentou diferença entre os vinhos com uvas sadias (T1) e uvas com podridão (T2), sendo que os valores mais baixos para os vinhos com podridão.

A adição de taninos gálicos favoreceu o aumento dos níveis de ácido cafeico (T3, T4 e T5), cujos teores aumentaram com o aumento da concentração do tanino gálico. Já em relação à adição de fibras de celulose o efeito é oposto, a medida que a concentração de celulose aumenta os níveis de ácido cafeico diminuirão.

Em relação ao ácido cumárico, não houve diferença entre os vinhos de uvas sadias (T1) e uvas com podridão (T2), já a adição de tanino gálico nas doses menores (T3 e T4) provocou um aumento no teor deste ácido.

O aumento da concentração das fibras de celulose provocou uma diminuição proporcional dos teores deste ácido, sendo que o tratamento T8 (1,5g.L⁻¹ de fibras de celulose) apresentou o menor nível de ácido cumárico.

O tirosol (2-(4-hidroxifenil)etil álcool) é um composto produzido a partir da tirosina (4-hidroxifenil)-L-fenilalanina) pelas leveduras durante a fermentação do mosto, sendo o único composto fenólico produzido em quantidades significativas a partir de precursores não fenólicos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Esse composto influencia o *flavour*, contribuindo no *bouquet* de mel de alguns vinhos (JACKSON, 2000; COVAS et al., 2003). A concentração de tirosol não apresentou diferença significativa entre os vinhos de uvas sadias (T1) e uvas com podridão (T2), que apresentaram os menores concentrações. A adição de taninos provocou um aumento nos teores de tirosol em relação aos tratamentos T1 e T2, independente da dose empregada. No caso da fibra de celulose (T6, T7 e T8), à medida que se aumentou a dose, houve uma diminuição de tirosol.

3.5 INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TANINO GÁLICO E FIBRAS DE CELULOSE NA AVALIAÇÃO SENSORIAL DO VINHO

Os resultados da avaliação sensorial encontram-se na Tabela 7.

No aspecto visual foram avaliados a limpidez e a intensidade da coloração, que não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, exceto para a limpidez, onde o tratamento com a maior concentração de celulose, 1,5 g.Kg⁻¹ de fibras de celulose (T8) apresentou-se mais límpido que os vinhos sem (T1) e com podridão (T2).

Este resultado está de acordo com os encontrados na análise da turbidez (tabela 2) em que o tratamento T8 apresentou o menor valor.

Em relação à análise olfativa, foram avaliados os parâmetros nitidez, intensidade positiva, e qualidade olfativa. Para a intensidade positiva, os vinhos obtidos com uvas sadias (T1) não apresentaram diferenças significativas com o tratamento de uva botrytizada (T2). Do mesmo modo, os vinhos provenientes da menor concentração, tanto de tanino gálico (T3), quanto de fibra de celulose (T6), não se diferenciaram dos tratamentos T1 e T2. Entretanto, à medida que aumentou-se as concentrações de tanino gálico (T4 e T5) e de celulose (T7 e T8), houve uma redução na percepção da intensidade olfativa, esses

tratamento apresentaram diferenças significativas com o tratamento T1 (uvas sem podridão).

Tabela 7: Resultado das características organolépticas dos vinhos da uva Chardonnay, safra 2017, do Vale dos Vinhedos –RS.

ANÁLISE ORGANOLÉPTICA	TRATAMENTOS							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Intensidade	7,84±0,55 ^a	7,28±1,86 ^{a,b}	6,53±0,41 ^b	6,76±1,74 ^{a,b}	7,06±1,67 ^{a,b}	6,92±1,32 ^{a,b}	7,00±1,04 ^{a,b}	7,14±1,29 ^{a,b}
Limpidez	3,53±0,38 ^b	3,43±0,47 ^b	3,86±0,64 ^{a,b}	4,00±0,58 ^{a,b}	4,06±0,70 ^{a,b}	4,07±0,64 ^{a,b}	4,07±0,83 ^{a,b}	4,21±0,20 ^a
Intensidade Positiva	6,92±0,36 ^a	6,50±0,76 ^{a,b,c}	6,53±0,22 ^{a,b,c}	6,08±0,06 ^c	6,07±0,03 ^c	6,77±0,33 ^{a,b}	6,21±0,12 ^c	6,07±0,12 ^c
Intensidade Olfativa	5,15±0,38 ^{a,b}	4,79±0,28 ^{b,c}	4,67±0,12 ^c	4,54±0,28 ^c	4,87±0,52 ^{a,b,c}	5,31±0,18 ^a	5,29±0,13 ^a	4,71±0,11 ^{b,c}
Nitidez	14,3±0,31 ^a	11,7±0,54 ^c	13,1±0,67 ^b	14,2±0,28 ^{a,b}	13,7±0,75 ^b	14,6±0,26 ^a	14,6±0,32 ^a	13,3±0,49 ^b
Qualidade Olfativa	4,08±0,19 ^a	3,86±0,10 ^{a,b}	3,47±0,99 ^{a,b,c}	3,54±0,88 ^{a,b,c}	3,80±1,15 ^{a,b,c}	3,38±0,65 ^{a,b,c}	3,36±0,43 ^{b,c}	3,14±0,36 ^c
Nitidez	7,23±0,30 ^a	6,36±0,50 ^{b,c}	6,27±0,20 ^c	6,62±0,96 ^{a,b,c}	6,40±0,51 ^{b,c}	6,85±0,80 ^{a,b,c}	6,86±0,86 ^{a,b,c}	6,43±0,45 ^{b,c}
Intensidade Positiva	19,7±1,08 ^a	17,5±0,99 ^b	18,2±0,75 ^{a,b}	18,3±0,80 ^{a,b}	18,6±0,92 ^{a,b}	19,5±0,66 ^a	19,4±0,85 ^a	17,5±0,56 ^b
Qualidade Gustativa	7,00±0,71 ^a	6,57±0,94 ^a	6,80±0,68 ^a	6,92±0,86 ^a	6,53±0,74 ^a	7,00±0,58 ^a	6,64±0,63 ^a	6,50±1,09 ^a
Persistência harmonica	10,3±0,15 ^a	9,71±0,21 ^{b,c,d}	9,53±0,22 ^d	9,62±0,18 ^{c,d}	9,67±0,22 ^{c,d}	10,2±0,30 ^{a,b}	10,1±0,36 ^{a,b}	10,1±0,27 ^{a,b,c}
Avaliação Global								

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

T1 - Uvas visualmente sadia, sem presença de enfermidades, sem tratamento;

T2 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, sem tratamento;

T3 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,05 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T4 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,1 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T5 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,2 g.L⁻¹ de Tanino gálico;

T6 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

T7 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1 g.Kg⁻¹ de celulose;

T8 - Uvas visualmente com *Botrytis cinerea*, adição de 1,5 g.Kg⁻¹ de celulose;

A nitidez olfativa não apresentou diferença estatística significativa entre os vinhos sem podridão (T1) e com podridão (T2). Entretanto, os tratamentos T3 (0,05 g.L⁻¹ de tanino gálico), e T4 (0,1 g.L⁻¹ de tanino gálico), apresentaram diferenças significativas com o T1 (sem podridão). Já os tratamentos T6 (0,5 g.Kg⁻¹ de celulose) e T7 (1 g.Kg⁻¹ de celulose) se diferenciaram do T2 (vinho com podridão).

Para a qualidade olfativa, houve diferença significativa entre os vinhos sem podridão (T1) e com podridão (T2), e tanto os tratamentos com tanino gálico (T3, T4 e T5) quanto os com fibra de celulose (T6, T7 e T8) apresentaram um resultado positivo, diferenciando-se dos vinhos com podridão (T2), que apresentou a menor qualidade olfativa. As aplicações de 1g.Kg⁻¹ (T7) e 1,5g.Kg⁻¹ de fibras de celulose, obtiveram a mesma qualidade olfativa que os vinhos sem podridão (T1) e apresentaram diferenças significativas com os vinhos com podridão (T2), demonstrando que estas poderiam ser concentrações ideais para o tratamento dos vinhos com podridão. Além disso, apresentaram diferenças com os vinhos do tratamento T3 (0,05 g.L⁻¹ de tanino gálico).

Em relação à análise gustativa, foram avaliados quatro parâmetros: nitidez, intensidade, persistência e qualidade. Os valores de nitidez foram menores nos tratamentos com a fibra de celulose T7 e T8 (1g.Kg e 1,5g.Kg, respectivamente), apresentando diferenças significativas com os vinhos sem podridão (T1). O tratamento com a maior concentração de fibra de celulose (T8), apresentou também, diferença significativa com o vinho com podridão (T2), indicando que esta concentração de fibra de celulose é eficaz para diminuir as características da podridão, mas pode ser excessiva para o tratamento, prejudicando a nitidez dos vinhos.

A intensidade gustativa ficou maior nos vinhos dos tratamentos T1 (sem podridão), T4 (0,1 g.L⁻¹ de tanino gálico), T6 (de 0,5 g.Kg⁻¹ de celulose) e T7 (1 g.Kg⁻¹ de celulose).

A qualidade gustativa apresentou o menor valor nos vinhos com podridão (T2), que não apresentou diferença com os vinhos tratados com 1,5 g.Kg⁻¹ de fibra de celulose (T8), mais uma vez indicando que esta concentração pode ser excessiva.

Análise da persistência harmônica não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos.

Finalizando a análise organoléptica, a avaliação global demonstrou que os vinhos sem podridão (T1), não se diferenciaram estatisticamente dos vinhos tratados com a

fibra de celulose, nas três concentrações empregadas neste estudo (T6, T7 e T8). Os vinhos com podridão (T2) e todos os vinhos tratados com tanino gálico (T3, T4 e T5) não apresentaram diferenças entre si.

Os resultados confirmam que as condições sanitárias da uva durante o desenvolvimento e maturação da baga são fundamentais para determinar a sua qualidade e seu potencial para vinificação, favorecendo o desenvolvimento de precursores de aroma e sabor, que determinarão o grau de complexidade, perfil sensorial e qualidade final dos produtos (GIOVANINNI e MANFROI; 2009). Porém, o uso de fibras de celulose antes da vinificação pode contribuir para amenizar, nos vinhos resultantes, os efeitos negativos causados pela presença do fungo *Botrytis cinerea* e consequente podridão, nas uvas Chardonnay.

4 CONCLUSÃO

A presença de podridão causada pelo *Botrytis cinerea*, alterou a composição dos mostos e a qualidade dos vinhos obtidos. Os mostos obtidos de uvas com podridão sem tratamentos (T2) apresentaram os maiores níveis de acidez volátil e ácido glucônico devido a ação das enzimas oxidativas presentes no fungo. A utilização de fibra de celulose nas maiores concentrações foram mais eficientes que o tanino gálico para a redução dos níveis de acidez volátil tanto do mosto quanto dos vinhos. Os tratamentos realizados, apresentaram valores inferiores em relação ao mosto com podridão sem tratamento (T2). O ácido glucônico também apresentou uma diminuição significativa no mosto, sendo que a fibra de celulose apresentou maior desempenho para esta redução. Quanto aos compostos voláteis, os vinhos elaborados nos diversos tratamentos não apresentaram grandes variações das concentrações. De um modo geral, os vinhos elaborados com a adição de tanino gálico apresentaram tendência a aumentar a concentração de compostos fenólicos, o que é justificável, pois os taninos são compostos fenólicos. Na avaliação sensorial, os vinhos obtidos após o tratamento com as fibras de celulose apresentaram uma avaliação global semelhante aos vinhos provenientes de uvas sadias (T1). A utilização de fibras de celulose melhora os resultados da vinificação de uvas brancas Chardonnay com *Botrytis cinérea*, reduzindo seus efeitos negativos, e demonstra-se mais eficaz, que o uso de tanino gálico comercial. As fibras de celulose apresentam um custo 65 % inferior ao tanino gálico, o que favorece e viabiliza mais ainda a sua utilização para diminuir os efeitos negativos da podridão cinzenta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, LUCILE TIEMI; VIEIRA DA MOTA, RENATA; LAJOLO, FRANCO MARIA; GENOVESE, MARIA INÉS. (2007). **Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.27 no.2 Campinas.
- ALPUIM, J. P.(1997). **Aprendendo a química do vinho.** Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, Lisboa, n. 65, p. 13.
- AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. (1976). **Análisis de vinos y mostos.** Zaragoza: Acribia. 158p.
- AMERINE, M. A.; ROESSLER, E. B. (1983). **Wines: their sensory evolution.** São Francisco, USA: W. H. Freeman and Company.
- ARAÚJO, J. M. A.(2015) – **Química de alimentos: teoria e prática** – 6ª ed. – Viçosa MG: Ed. UFV.
- ARCHIER, P. ; ROGGERO, J.P. (1990). **Mise au point d'une méthode de dosage des phénols simples des vins. Application à des vins d'origines et ages différents.** Conn. Vigne Vin, v. 23, n. 1, p. 25-37.
- BERTRAND, A. (1981). **Formation des substances au cours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité des vins.** Colloque Soc. Fr. Microbiol., Reims, p. 251-267.
- BRASIL (1998). Ministerio da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento. **Portaria N. 283, de 18 de junho de 1998. Aprova normas e procedimentos para o registro de estabelecimento, bebidas e vinagres, inclusive vinhos e derivados da uva e do vinho e expedição dos respectivos certificados.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 jun. Secção 1, n.106.
- BRASIL (2005). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **IN nº 24 de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres.** Revoga

a portaria nº 77 de 27 de novembro de 1986. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em 04 de jun. 2018.

CAMARGO, Umberto Almeida. (2003) **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. EMBRAPA – Uva e Vinho. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/cultivar.htm>> Acesso em: junho 2016.

COVAS, M. I. (2003). **Bioavailability of tyrosol, an antioxidant phenolic compound present in wine and olive oil, in humans**. *Drugs under Experimental and Clinical Research*, v. 29, p. 203- 206.

DURÁN, N.; ROSA, M.A.; D'ANNIBALE, A.; GIANFREDA, L. (2002). **Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review**. *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 907-931.

EVER BRASIL (2010). **FIRST FIBRA SUPER**. Disponível em: http://www.everbrasil.com.br/admin/uploader/uploads/FT_PT_First_Fibra_Super.pdf Acesso em: junho 2016.

FERNÁNDEZ, MARIA; SANROMÁN, ÁNGELES; MOLDES, DIEGO. (2012) **Recent developments and applications of immobilized laccase**. *Biotechnology Advances*, 2012.

FRANCIS, I. L., NEWTON, J. L. (2005). **Determining wine aroma from compositional data**. *Aust J Grape Wine Res* 11:114–126

GIOVANINNI, E.; MANFROI, V. (2009) **Viticultura e Enologia: Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. 1ª Edição. Bento Gonçalves, RS: IFRS.

GÓMEZ-MÍGUEZ, M. J., et. al (2007). **Volatile components of Zalema white wines**. *Food Chemistry*, 100(4), 1464-1470.

GUERRA, C. C. (2001) **Maturação da uva e condução da vinificação para elaboração de vinhos finos**. Caldas: EPAMIG – FECD.

JACKSON, RON S. (2000). **Wine Science: principles, practice, perception**. 2° Ed. San Diego, Califórnia, EUA: Academic Press. Cap. 6, p.232-275.

JORDAN, M. J.; MARGARIA, C. A.; SHAW, P.E.; GOODNER, K.L. (2002) **Aroma active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC-GC-O**. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5386-5390.

LAFFORT (2013). **Tanino Galalcool**. Disponível em: https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FP_EN_Tanin_Galalcool.pdf Acesso em: Novembro 2016.

LILLY, M., et. al (2006). **The effect of increased yeast alcohol acetyltransferase and esterase activity on the flavour profile of wine and distillates**. *Yeast*, 23, 641–659

LORRAIN, B., KY, I., PECHAMAT, L., E TEISSEDE, P. L. (2013). **Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts**. *Molecules*, 18(1), 1076-1100.

MARTINS, M. I. F. M.; DIAS, D. O. A. R.; ANDRADE, M. A. A. (2009). **Combate a podridão cinzenta (*Botrytis cinérea* Pers.), comparando diferentes estratégias**. Escola Profissional de Viticultura e Enologia da Bairrada, Estação Vitivinícola da Bairrada, Anadia, Portugal. 4p.

MENEGUZZO, J.; RIZZON, L. A.; MIELE, A.; AYUB, M. A. Z. (2006) **Efeito de *Botrytis cinerea* na composição do vinho Gewürztraminer**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(3): 527-532, jul.-set.

OIV (2009) **Norme OIV des concours internationaux des vins et boissons spiritueuses d'origine vitiviniques**. Résolution OIV/concours 332.

PEINADO, R.A. et al (2004). **Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration.** Food Chemistry, v. 84, p. 585-590.

RIBÉRAU-GAYON, P. et al. (2003). **Tratado de enología: química Del vino estabilización y tratamientos.** 1º ed.Vol 2. Buenos Aires: Hemisferio Sur.

RIBÉRAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. (2006) **Hanbook of enology. Vol. 1. The microbiology of wine and vinification.** 2nd Edition. John Wiley and Sons, Ltda., Chichester, UK. 496p.

RIBÉRAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A.(1998). **Traité d'Oenologie 1. Microbiologie du vin, vinifications.** Paris: Dunod, v. 1. 617p.

RIZZON, L. A.; GATTO, N. M.(1987). **Características analíticas dos vinhos da Microrregião Homogênea Vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) – Análises clássicas.** EMBRAPA-CNPUV. Bento Gonçalves, 5p.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.(1996). **Influência da clarificação do mosto na composição e na qualidade do vinho branco.** Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v. 14, n. 2, p. 171-180.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J.; ZANUZ, M. (1999). **Efeito de três processos de vinificação sobre a composição química e a qualidade do vinho Cabernet franc.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, n.7, p.1285-1293.

RIZZON, L.; MENEGUZZO, J.; ABARZUA, C. E. (2000). **Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola.** Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, Documentos 29, 24 p.

RIZZON, L.; MIELE, A.; SCOPEL, G. (2009). **Características analíticas de vinhos Chardonnay da Serra Gaúcha**. Ciência Rural, Santa Maria –RS.

SATHISHKUMAR, P. et al. (2014) **Laccase immobilization on cellulose nanofiber: The catalytic efficiency and recyclic application for simulated dye effluent treatment**. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v. 100, p. 111–120.

SILVA, L. R.; ANDRADE, P- B.; VALENTÃO, P.; SEABRA, R. M.; TRUJILLO, M. E.; VELÁZQUEZ, E. (2005). **Analysis of non-coloured phenolics in red wine: Effect of Dekkera bruxellensis yeast**. Food Chemistry, v. 89, p. 185-189.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. da R. (2005); **Podridão Cinzenta da Uva: Epidemiologia, Sintomatologia e Controle**. Bento Gonçalves – RS. Dezembro, 2005.

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

VIVAS, N. (2001). **Les tanins oenologiques, d'hier à aujourd'hui: une révolution discrète que nous devons assimiler dans les pratiques de chais**. Revue des Oenologues, n. 98, p. 11-14.

WEBBER, V., DUTRA, S. V., SPINELLI, F. R., MARCON, Â. R., CARNIELI, G. J., & VANDERLINDE, R. (2014). **Effect of glutathione addition in sparkling wine**. Food Chemistry, 159, 391–398.

WILCOX, W.F.(2014). **Management of grape diseases in the United States**.In: **11º Seminário Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado**. Anais. Revista Agropecuária Catarinense, vol. 27, n2, Suplemento.

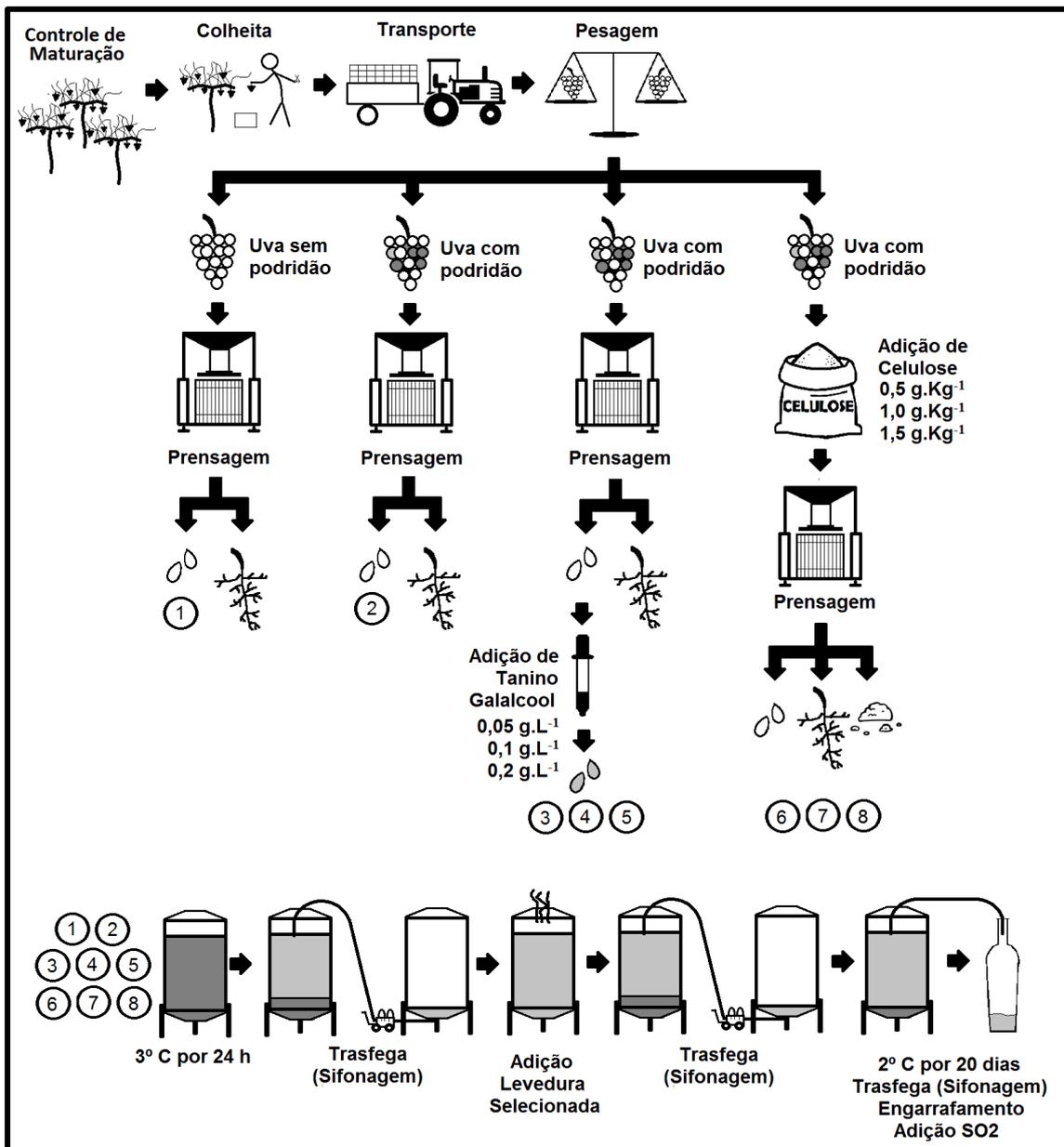
ZANUS, M. (2005) **Vinhos Chardonnay de qualidade excepcional**. EMPRAPA UVA E VINHO. Bento Gonçalves.

ZOECKLEIN BW, FUGELSANG KC, GUMP BH, NURY FS (1990). **Wine analysis and production.** Van Nostrand Reinhold; 1 edition (December 31).

ZOECKLEIN, B. W., WILLIAMS, J.M. E DUNCAN, S.E. (2000). **Effect of grape sour rot on the composition White Riesling (*Vitis vinifera* L.) grapes.** J. Small Fruits Review. 1: 63-77.

ANEXO

ANEXO A: ESQUEMA DE VINIFICAÇÃO REALIZADO NESTE ESTUDO.



5 CONCLUSÃO GERAL

Os vinhos elaborados neste trabalho através de uvas Chardonnay produzidas no estado do Rio Grande do Sul encontram-se dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para vinhos brancos finos secos (BRASIL, 1998) e nas normas do MERCOSUL (2002).

A presença de podridão causada pelo *Botrytis cinerea*, alterou a composição dos mostos e a qualidade dos vinhos obtidos. Os mostos obtidos de uvas com podridão sem tratamentos (T2) apresentaram os maiores níveis de acidez volátil e ácido glucônico, devido à ação das enzimas oxidativas presentes no fungo.

Tanto a utilização de tanino gálico como a de fibra de celulose foram eficientes para a redução dos níveis de acidez volátil do mosto, apresentando valores inferiores ao mosto com podridão sem tratamento (T2).

Diferenças estatísticas significativas foram encontradas nos oito mostos obtidos quanto às análises clássicas. Os mostos com tratamento de tanino gálico e fibras de celulose exibiram uma tendência geral de aproximarem-se das características do mosto proveniente de uvas sãs (T1).

Os vinhos obtidos com utilização de diferentes concentrações de fibras de celulose (T6, T7 e T8) apresentaram as menores concentrações de acidez volátil em comparação aos vinhos proveniente de uvas sadias (T1) e uvas botritizadas (T2).

Quanto aos compostos voláteis, os vinhos elaborados nos diversos tratamentos não apresentaram grandes variações das concentrações. Não houve diferença significativa entre os tratamentos T1 (uvas sadias) e o tratamento T2 (uvas com podridão) quanto às análises de ácidos graxos. A adição de tanino gálico na maior concentração (T5) e para todos os tratamentos com fibras de celulose (T6, T7 e T8), houve redução da concentração de acetato de etila, que contribui negativamente para a qualidade aromática do vinho.

De um modo geral, os vinhos elaborados com a adição de tanino gálico apresentaram tendência de aumentar a concentração de compostos fenólicos, o que é justificável, pois os mesmos são compostos fenólicos.

Na avaliação sensorial, os vinhos obtidos após o tratamento com as fibras de celulose apresentaram uma avaliação global semelhante aos vinhos provenientes de uvas sadias (T1).

A utilização de fibras de celulose favorece os resultados da vinificação de uvas brancas Chardonnay com *Botrytis cinerea*, reduzindo seus efeitos negativos, e demonstra-se mais eficaz que o uso de tanino gálico comercial, aproximando-se dos valores obtidos de uvas sãs. Além disso, economicamente, a relação do custo entre fibras de celulose e tanino gálico, representa uma discrepância de 65% entre valores, sendo as fibras de celulose mais baratas, o que favorece e viabiliza mais ainda seu emprego nesta área.

É importante salientar que foi possível elaborar vinhos, com uvas com podridão, equivalentes, do ponto de vista organoléptico, aos vinhos oriundos de uvas sãs. Porém, utilizar uvas sãs de boa qualidade proporcionam maior tipicidade e características organolépticas mais harmônicas e equilibradas

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

1. Avaliar o emprego de fibras de celulose em uvas atacadas pelo patógeno *Botrytis cinerea* em outras safras, pois quanto maior forem as diferenças climáticas e todos fatores que possam estar ligados à sanidade das uvas, mais aspectos poderão ser comparados.

2. Avaliar a quantidade de lacase adsorvida nas fibras de celulose.
3. Avaliar o emprego de outras doses de fibras de celulose.
4. Fazer e controlar a fermentação malolactica nos vinhos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- ABE, LUCILE TIEMI; VIEIRA DA MOTA, RENATA; LAJOLO, FRANCO MARIA; GENOVESE, MARIA INÉS. (2007). **Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.27 no.2 Campinas.
- ALPUIM, J. P.(1997). **Aprendendo a química do vinho.** Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, Lisboa, n. 65, p. 13.
- AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. (1976). **Análisis de vinos y mostos.** Zaragoza: Acribia. 158p.
- AMERINE, M. A.; ROESSLER, E. B. (1983). **Wines: their sensory evolution.** São Francisco, USA: W. H. Freeman and Company.
- ARAÚJO, J. M. A.(2015) – **Química de alimentos: teoria e prática** – 6ª ed. – Viçosa MG: Ed. UFV.
- ARCHIER, P. ; ROGGERO, J.P. (1990). **Mise au point d'une méthode de dosage des phénols simples des vins. Application à des vins d'origines et ages différents.** *Conn. Vigne Vin*, v. 23, n. 1, p. 25-37.
- ARORA DS; SHARMA RK (2010). **Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications.** *Appl Biochem Biotechnol*.
- ASHOK, PRAVEEN KUMAR; UPADHYAYA, KUMUD (2012). **Tannins are adstringent.** *Journal of Pharmacognosy and Phyto chemistry*. Volume 1 Issue 3.
- ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES DE VINHOS FINOS DO VALE DOS VINHEDOS – APROVALE(2012). **Denominação de Origem Vale Dos Vinhedos.**
- BERTRAND, A. (1981). **Formation des substances au cours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité des vins.** *Colloque Soc. Fr. Microbiol.*, Reims, p. 251-267.

BRASIL (1998). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria N. 283, de 18 de junho de 1998. Aprova normas e procedimentos para o registro de estabelecimento, bebidas e vinagres, inclusive vinhos e derivados da uva e do vinho e expedição dos respectivos certificados.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 jun. Secção 1, n.106.

BRASIL (2005). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **IN nº 24 de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres.** Revoga a portaria nº 77 de 27 de novembro de 1986. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em 04 de jun. 2018.

BRÍGIDA, A. I. S. (2010) **Imobilização de lipases utilizando fibra da casca de Coco Verde Como Suporte Para Aplicações Industriais.** Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

CAMARGO, Umberto Almeida. (2003) **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado.** EMBRAPA – Uva e Vinho. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/cultivar.htm>> Acesso em: junho 2016.

COVAS, M. I. (2003). **Bioavailability of tyrosol, an antioxidant phenolic compound present in wine and olive oil, in humans.** Drugs under Experimental and Clinical Research, v. 29, p. 203- 206.

DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M. DA G.; SOLDI, V (2004). **Aplicações Sintéticas de Lipases Imobilizadas em Polímeros.** Química Nova, v. 27, n. 4, p. 623–630.

DURÁN, N.; ROSA, M.A.; D’ANNIBALE, A.; GIANFREDA, L. (2002). **Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review.** Enzyme and Microbial Technology, 31: 907-931.

EMBRAPA Uva e Vinho. (2013). **Vitivinicultura brasileira: panorama 2012**. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/cot137.pdf>>. Acesso em 17 jun. 2016.

EMBRAPA Uva e Vinho (2003). **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/cultivar.htm>> Acessado em 18 jun. 2016.

EVER BRASIL (2010). **FIRST FIBRA SUPER**. Disponível em: http://www.everbrasil.com.br/admin/uploader/uploads/FT_PT_First_Fibra_Super.pdf Acesso em: junho 2016.

FERNÁNDEZ, MARIA; SANROMÁN, ÁNGELES; MOLDES, DIEGO. (2012) **Recent developments and applications of immobilized laccase**. *Biotechnology Advances*, 2012.

FRANCIS, I. L., NEWTON, J. L. (2005). **Determining wine aroma from compositional data**. *Aust J Grape Wine Res* 11:114–126

GALIOTTI, H. (2007) **Los taninos enológicos: revisión**. *Revista Enologia*, v. 3, n. 6.

GALLOTTI, G.J.M.; AANDRADE, E.R.; SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L.R.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. (2004) **Doenças da videira e seu controle**. EPAGRI, 90p.

GIARDINA P, FARACO V, PEZZELLA C, PISCITELLI A, VANHULLE S, SANNIA G. (2010) **Laccases: a neverending story**. *Cell Mol Life Sci* 67:369–85.

GIL, G.F. (2000). **Fruticultura: La producción de frutas de clima templado, subtropical y uva de vino**. 3a Edición, Colecciónen Agricultura Facultad de Agronomía e IngenieríaForestal,UniversidadCatolica de Chile, Santiago, Chile,583p.

GIOVANINNI, EDUARDO. (2014) **Manual de Viticultura**. Bookman Editora, janeiro- 259p.

GIOVANINNI, E.; MANFROI, V. (2009) **Viticultura e Enologia: Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. 1ª Edição. Bento Gonçalves, RS: IFRS.

GOMES, Fábio P. A.(2011). **Biossíntese de Celulose Bacteriana a partir de Resíduos Industriais**.. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Aveiro, Departamento de Química, Portugal. Disponível em: <<https://ria.ua.pt/bitstream/10773/8054/1/246712.pdf>> Acesso em: junho de 2017.

GÓMEZ-MÍGUEZ, M. J., et. al (2007). **Volatile components of Zalema white wines**. Food Chemistry, 100(4), 1464-1470.

GOCHEV VK, KRASTANOV AI (2007). **Fungal Laccases**. Bulg J Agric Sci. 2007;13:75–83.

GRASSIN, C., DUBOURDIEU, D., E BERNARD, J. L. (1987). **Prevision des consequences nefastes de la pourriture grise sur la qualite des vins : l'estimation des risques d'oxydation**. Phytoma, 389.

GUERRA, C. C. (2001) **Maturação da uva e condução da vinificação para elaboração de vinhos finos**. Caldas: EPAMIG – FECD.

HERDERICH, MJ, & SMITH, PA (2015). **Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges**. Australian Journal of Grape and Wine Research.

HUANG, S. et al.(2014). **Characteristics and vegetable oils degumming of recombinant phospholipase B**. Chemical Engineering Journal, v. 237, p. 23–28.

IBRAVIN (2013). **Produção de uva Serra Gaúcha**. [Bento Gonçalves].

IBRAVIN (2017). **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul**. [Bento Gonçalves].

IBRAVIN (2019) **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul**. [Bento Gonçalves].

IBRAVIN (2018). **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul**. [Bento Gonçalves].

JACKSON, RON S. (2000). **Wine Science: principles, practice, perception**. 2° Ed. San Diego, Califórnia, EUA: Academic Press. Cap. 6, p.232-275.

JORDAN, M. J.; MARGARIA, C. A.; SHAW, P.E.; GOODNER, K.L. (2002) **Aroma active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC-GC-O**. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5386-5390.

KIM, H. J. et al. (2015). **Biocompatible cellulose nanocrystals as supports to immobilize lipase**. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 122, p. 170–178.

KLEMM, D.H., B. FINK, H. P. BOHN, A. (2005). **Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material**. *Angewandte Chemie-International Edition*.

KUNAMNENI A, PLOU FJ, BALLESTEROS A, ALCALDE M. (2008). **Laccases and their applications: a patent review**. *Recent Pat Biotechnol.* 2:10–24.

LAFFORT (2013). **Tanino Galalcool**. Disponível em: https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FP_EN_Tanin_Galalcool.pdf Acesso em: Novembro 2016.

LILLY, M., et. al (2006). **The effect of increased yeast alcohol acetyltransferase and esterase activity on the flavour profile of wine and distillates**. *Yeast*, 23, 641–659

LIMA, M. F. et al.(2009) **Doenças e alternativas de controle**. In: SOARES, J. M.;

LOERA O, PÉREZ PÉREZ M, IRMA CRISTINA, BARBOSA RODRÍGUEZ JR, VILLASEÑOR ORTEGA F. (2006). **Laccases. Anonymous Advances in Agricultural and Food Biotechnology**. Research Signpost; p. 323–40.

LORRAIN, B., KY, I., PECHAMAT, L., E TEISSEDRE, P. L. (2013). **Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts**. *Molecules*, 18(1), 1076-1100.

LORRAIN, B., KY, I., PECHAMAT, L., E TEISSEDRE, P. L. (2013). **Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts**. *Molecules*, 18(1), 1076-1100.

MACNEIL, K. (2003). **A Bíblia do Vinho**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Ediouro.

MADHAVI V, LELE SS.(2009) **Laccase: properties and applications**. *BioResour*; 4:1694–717.

MARC, C.; CASTILHO, R. (2004). **Larousse do Vinho**. São Paulo.

MAYER A.M; STAPLES R.C. (2002) **Laccase: new functions for an old enzyme**. *Phytochemistry*. Jul;60(6):551–65.

MELLO, L. M. R (2009). **Vitivinicultura Brasileira: panorama 2009**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho.

MENEGUZZO, J.; RIZZON, L. A.; MIELE, A.; AYUB, M. A. Z. (2006) **Efeito de *Botrytis cinerea* na composição do vinho Gewürztraminer**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(3): 527-532, jul.-set.

MERCOSUL (2002). Resolução 45/1996 do GMC. Regulamento Vitivinícola do Mercosul. In: IBRAVIN. Legislação vitivinícola. Bento Gonçalves: Ibravin.

MORMINO, RICHARD; GOSTOMSKI, PETER; BUNGAY, HENRY. (2002) "**Plate and disk bioreactors for making bacterial cellulose**" in Biological Systems Engineering M. R. Marten, T. H. Park and T. Nagamune ACS Symposium Series 830.

NAVARRO, R. M. S. NAVARRO, F. M. A. TAMBOURGI, E. B (2007) **Estudo de diferentes processos de obtenção da pasta celulósica para fabricação de papel**. Revista Ciências e Tecnologia.

OIV (2007). **Prodotti utilizzati in enologia. Tannins**. Edizione 2007. Disponível em: <<http://www.oiv.int/it/search/tannins>> Acesso em: julho 2017.

OIV (2009) **Norme OIV des concours internationaux des vins et boissons spiritueuses d'origine vitivinicoles**. Résolution OIV/concours 332.

OIV (2016). **Prodotti utilizzati in enologia. Cellulosa**. Edizione 2016. Disponível em: <<http://www.oiv.int/it/search/cellulosa>> Acesso em: junho 2016.

OIV (2017) **Organização Internacional da Vinha e do Vinho. Arquivos e estatísticas**. Disponível em: <<http://www.oiv.int/en/databases-and-statistics/statistics>>. Acesso em: julho 2019.

OIV (2019) **Organização Internacional da Vinha e do Vinho. Arquivos e estatísticas**. Disponível em: <<http://www.oiv.int/en/databases-and-statistics/statistics>>. Acesso em: outubro 2019.

PACHECO, Aristides de Oliveira. **Iniciação à enologia**. São Paulo: SENAC, 2006.

PEINADO, R.A. et al (2004). **Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration**. Food Chemistry, v. 84, p. 585-590.

PEÑA-NEIRA, A. et al. (2000) **Caracterización de taninos enológicos disponibles en el mercado chileno, y sus efectos sobre un vino del cv. Merlot durante su crianza en barricas.** In: CONGRÈS MONDIAL DE LA VIGNE ET DU VIN, 24., 2000, Paris. Anais... Paris: OIV.

PHILLIPS, Rod. (2005). **Uma breve história do vinho.** Rio de Janeiro. Record.

PICARIELLO, L., GAMBUTI, A., PETRACCA, F., RINALDI, A., & MOIO, L.(2017) **Enological tannins affect acetaldehyde evolution, colour stability and tannin reactivity during forced oxidation of red wine.** International Journal of Food Science & Technology.

PROFFIT, E.; GENEVET, B. (2005). **Enologia, revista técnica para lá industria vitivinícola.** Edición Internacional, número 11, dezembro.

RIBÉRAU-GAYON, P. et al. (2003). **Tratado de enologia: química Del vino estabilización y tratamientos.** 1º ed.Vol 2. Buenos Aires: Hemisferio Sur.

RIBÉRAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. (2006) **Hanbook of enology. Vol. 1. The microbiology of wine and vinification.** 2nd Edition. John Wiley and Sons, Ltda., Chichester, UK. 496p.

RIBÉRAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A.(1998). **Traité d'Oenologie 1. Microbiologie du vin, vinifications.** Paris: Dunod, v. 1. 617p.

RIZZON, L. A.; GATTO, N. M.(1987). **Características analíticas dos vinhos da Microrregião Homogênea Vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) – Análises clássicas.** EMBRAPA-CNPUV. Bento Gonçalves, 5p.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. (1996). **Influência da clarificação do mosto na composição e na qualidade do vinho branco.** Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v. 14, n. 2, p. 171-180.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J.; ZANUZ, M. (1999). **Efeito de três processos de vinificação sobre a composição química e a qualidade do vinho Cabernet franc.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, n.7, p.1285-1293.

RIZZON, L.; MENEGUZZO, J.; ABARZUA, C. E. (2000). **Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola.** Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, Documentos 29, 24 p.

RIZZON, L.; MIELE, A.; SCOPEL, G. (2009). **Características analíticas de vinhos Chardonnay da Serra Gaúcha.** Ciência Rural, Santa Maria –RS.

SATHISHKUMAR, P. et al. (2014) **Laccase immobilization on cellulose nanofiber: The catalytic efficiency and recycle application for simulated dye effluent treatment.** Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v. 100, p. 111–120.

SILVA, L. R.; ANDRADE, P- B.; VALENTÃO, P.; SEABRA, R. M.; TRUJILLO, M. E.; VELÁZQUEZ, E. (2005). **Analysis of non-coloured phenolics in red wine: Effect of Dekkera bruxellensis yeast.** Food Chemistry, v. 89, p. 185-189.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. da R. (2005); **Podridão Cinzenta da Uva: Epidemiologia, Sintomatologia e Controle.** Bento Gonçalves – RS. Dezembro.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. (2005) **Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 25p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular técnica, 56).

SOUSA, Julio Seabra Inglês de. (1996). **Uvas para o Brasil.** São Paulo: FEALQ. 2ª edição. Volume 1.

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

VALDUGA, Vander (2007). **O processo de desenvolvimento do enoturismo no Vale dos Vinhedos**. 151 f. Dissertação (Mestrado em Turismo). Universidade de Caxias do Sul. (UCS). Caxias do Sul.

VIVAI RAUSCEDO. **Uva Chardonnay**. Disponível em: Fonte: www.vivairauscedo.com/en/catalogo.php. Acesso em: junho 2019.

VIVAS, N. (2001). **Les tanins oenologiques, d'hier à aujourd'hui: une révolution discrète que nous devons assimiler dans les pratiques de chais**. Revue des Oenologues, n. 98, p. 11-14.

WEBBER, V., DUTRA, S. V., SPINELLI, F. R., MARCON, Â. R., CARNIELI, G. J., & VANDERLINDE, R. (2014). **Effect of glutathione addition in sparkling wine**. Food Chemistry, 159, 391–398.

WILCOX, W.F. (2014). **Management of grape diseases in the United States**. In: **11º Seminário Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado**. Anais. Revista Agropecuária Catarinense, vol. 27, n2, Suplemento.

ZANUS, M. (2005) **Vinhos Chardonnay de qualidade excepcional**. EMPRAPA UVA E VINHO. Bento Gonçalves.

ZOECKLEIN BW, FUGELSANG KC, GUMP BH, NURY FS (1990). **Wine analysis and production**. Van Nostrand Reinhold; 1 edition (December 31).

ZOECKLEIN, B. W., WILLIAMS, J.M. E DUNCAN, S.E. (2000). **Effect of grape sour rot on the composition White Riesling (Vitis vinifera L.) grapes**. J. Small Fruits Review. 1: 63-77.

ANEXOS

ANEXO A: FICHA TÉCNICA DA FIBRA DE CELULOSE FIRST FIBRA SUPER.

<p>FIRST FIBRA Super</p>	
<p>CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS</p> <p>FIRST FIBRA SUPER é constituída de 100% de fibras de celulose puríssimas esmiuçadas em fibras de diversos tamanhos para atuar nas mais diversas tipologias de filtrações.</p> <p>Estas fibras possuem um altíssimo poder adsorvente e uma elevada superfície de filtração. Não são colmatantes e são totalmente inertes quanto ao sabor, odor e metais pesados. Com a utilização destas fibras ativadas com sistemas particulares, se obtém: um produto com baixa permeabilidade que permite maior retenção das partículas finas presentes, adsorção das impurezas e máximo ancoramento da pré-capa que se apresenta sem rachaduras mesmo se utilizado em situações limite</p>	
<p>APLICAÇÃO</p> <p>FIRST FIBRA SUPER deve ser utilizado para a formação da pré-capa em contato direto as telas e são indicadas para filtrações de produtos difíceis aonde vem utilizados também aluvionagem com doses variadas entre 5 e 10 g/hl.</p>	
<p>COMPOSIÇÃO</p> <p>Fibras de celulose puríssimas</p>	
<p>MODO DE USO</p> <p>Pode ser utilizado puro ou em associação com diatomitas para a formação da pré-capa</p>	
<p>DOSE DE EMPREGO</p> <p>De 200 a 600 g/m2 de superfície filtrante para a formação da pré-capa</p>	
<p>EMBALAGEM</p> <ul style="list-style-type: none">• Sacos de 15 kg	
<p>EVER BRASIL IND. E COM. LTDA. – Rua Eça de Queiroz, 150 – Bairro Garibaldi – Garibaldi – RS – 95720000 Tel. +55 54 3464 9300 – ever@everbrasil.com.br – www.everbrasil.com.br</p>	

FICHA TÉCNICA

ANEXO B: FICHA TÉCNICA DO TANINO GÁLICO.

TANINO

TANIN GALALCOOL®

Tanino gálico de disolución instantánea (proceso IDP), destinado a la vinificación de los mostos blancos y rosados.
Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo según empleo reglamentado enológico.
Conforme al Reglamento (CE) n°606/2009.

DESCRIPCIÓN Y APLICACIONES ENOLÓGICAS

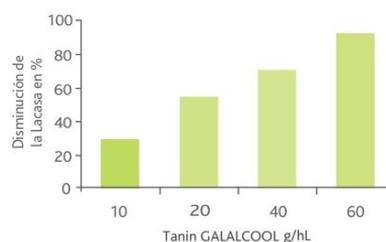
TANIN GALALCOOL® es un extracto de tanino gálico muy puro, con unas propiedades físico-químicas particularmente adecuadas para la vinificación de los mostos blancos y rosados para:

- Reducir la actividad de las enzimas naturales de oxidación (lacasa, tirosinasa), como complemento del SO₂.
- Precipitar una parte de las proteínas inestables, como complemento de la bentonita.
- Regular y limitar las acciones de SO₂ gracias a su excelente poder antioxidante.
- Mejora la clarificación.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

- Las especiales características químicas de TANIN GALALCOOL® le confieren una acción eficaz como inhibidor de la Lacasa.

Mosto no sulfitado - Actividad Lacasa: 4 U/mL.



CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Aspecto granulado
Color castaño

Solubilidad en agua completa
Densidad aparente 0,4 ± 0,1

ANÁLISIS QUÍMICOS

Fenoles totales > 65 %
Humedad < 7 %
Cenizas < 4 %
Sustancias insolubles < 2 %
Arsénico < 3 ppm

Hierro < 50 ppm
Plomo < 2 ppm
Mercurio < 1 ppm
Cadmio < 1 ppm


LAFFORT
l'œnologie par nature

ANEXO C: FICHA TÉCNICA DO TANINO GÁLICO.

PROTOCOLO DE EMPLEO

CONDICIONES ENOLÓGICAS

- Protección de los mostos contra la oxidación.
- Vendimias alteradas : actividad lacasa > 2U/lac.
- Vinos efervescentes : añadir **TANIN GALALCOOL®** en el tiraje.

MODO DE EMPLEO

El proceso IDP permite espolvorear **TANIN GALALCOOL®** directamente sobre el vino en el depósito, durante un remotado de homogeneización.

Sobre vendimias botritizadas, adicionar la solución de **TANIN GALALCOOL®** después del estrujado o poco a poco durante el bombeado en la prensa.

Para los vinos efervescentes adicionar la solución de **TANIN GALALCOOL®** en el licor de tiraje.

DOSIS DE EMPLEO

- Protección de la vendimia y de los mostos: 5 a 20 g/hL.
- Tiraje de los vinos espumosos: 2 a 4 g/hL.

CONSERVACIÓN

- Almacenar el producto en un lugar seco, fresco y exento de olores extraños, en embalaje cerrado y precintado de origen.
- DLUC: 4 años.
- Fecha de utilización envase abierto: 4 meses.

ENVASES

Bolsa de 1 kg - Caja de 10 kg.



LAFFORT España – Txirrita Maleo 12 - Aptdo. 246 – 20100 - RENTERÍA (Guipúzcoa) - Telf: (+34) 943 344 068 - Fax: (+34) 943 344 281 – www.laffort.com

AS - PC - 05.09.16 - La información que aquí figura corresponde al estado actual de nuestro conocimiento. Esta es proporcionada sin compromiso o garantía en la medida que las condiciones de empleo están fuera de nuestro control. Ello no libera al usuario de respetar la legislación y los datos de seguridad en vigor.