

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

CARACTERIZAÇÃO DOS VINHOS MERLOT E CABERNET  
SAUVIGNON DA SERRA GAÚCHA ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO  
DAS RAZÕES ISOTÓPICAS  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ .

**LAURIEN ADAMI**

CAXIAS DO SUL, 2006.

LAURIEN ADAMI

CARACTERIZAÇÃO DOS VINHOS MERLOT E CABERNET  
SAUVIGNON DA SERRA GAÚCHA ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO  
DAS RAZÕES ISOTÓPICAS  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ .

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia”, orientador(a): Profa. Dra. Regina Vanderlinde.

Caxias do Sul, 2006.

**LAURIEN ADAMI**

**CARACTERIZAÇÃO DOS VINHOS MERLOT E CABERNET  
SAUVIGNON DA SERRA GAÚCHA ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO  
DAS RAZÕES ISOTÓPICAS  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ .**

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia”, orientador(a):  
Profa. Dra. Regina Vanderlinde.

“DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19 DE DEZEMBRO DE 2006”

Orientador

Profa. Dra. Regina Vanderlinde

Prof. Dr. Marcelo Zacharias Moreira

Profa. Dra. Adriana Del Carmen Escalona Gower

Prof. Dr. Luiz Antenor Rizzon

À minha família, Terezinha, Genuino e Aline Adami; ao cunhadinho Germano e ao meu amor...

pelo carinho, dedicação e confiança.

## **AGRADECIMENTOS**

À profa. Dra. Regina Vanderlinde pela oportunidade e orientação deste trabalho.

Ao Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN), ao Laboratório de Referência Enológica (LAREN) da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado do Rio Grande do Sul (SAA-RS), pelo patrocínio das atividades de análises químicas e materiais necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos atuais ou ex-colegas de trabalho do LAREN: André M. Gasparin, Ângela R. Marcon, Alessandra Orlandin, Carlos Roani, Daiane Dal Alba, Elisangela Comerlato, Fernanda R. Spinelli, Graziela M. Boscato, Gilberto J. Carnieli, Israel Pedruzzi, Sandra V. Dutra, Susiane Leonardeli, Vanessa Webber, em especial, à Paula B. Balardin (“minha fiel escudeira”) pela amizade, companheirismo e auxílio na realização das microvinificações e análises.

Aos fiscais da SAA-RS: Isabel C. Aiolfi, Juliano Smiderle, Marilene Zílio, Plínio Manosso e Vera B. K. Marcon, pela amizade e ajuda na coleta das amostras.

Aos representantes das Associações de Produtores de Vinhos da Serra Gaúcha, em especial, ao Marco Salton, Valmor e Clóvis Boscato, e a todos produtores de uvas que cederam o fruto do seu trabalho, pois sem ele nada teria sido realizado.

Ao prof. Dr. Marcelo Zacharias Moreira pelo carinho e colaboração neste trabalho.

Aos amigos Eugene C. Chouene e Paulo César C. Olovate do DPV de Porto Alegre da SAA-RS, pela paciência “nas aulas” de GPS.

À Vânia Naomi Hirakata pelo grande auxílio na realização das análises estatísticas.

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE ANEXOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Vitivinicultura no Rio Grande do Sul e no Brasil	3
2.2 Indicação de procedência e denominação de origem	5
2.3 Associação de produtores	8
2.4 Abundâncias isotópicas	9
2.5 Análise isotópica em alimentos	11
2.6 Isótopos de carbono	12
2.7 Isótopos de oxigênio	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Coleta das amostras de uvas	17
3.2 Microvinificações e análises dos vinhos	18
3.3 Instrumentação	19
3.4 Padrões Internacionais	20
3.5 Metodologia	22
3.5.1 Determinação da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol em relação ao PDB	22

3.5.2 Determinação da razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água do vinho em relação ao V-SMOW	23
3.5.3 Determinação da razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ do etanol em relação a V-SMOW	24
3.6 Análise estatística	25
3.7 Dados climatológicos	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 Influência da origem geográfica nas razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos	27
4.2 Influência da variedade nas razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon, nas safras de 2005 e 2006	33
4.3 Influência da variedade e da safra nos valores das razões isotópicas $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos em diferentes sub-regiões de cultivo	36
4.4 Correlação entre as razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol e as características geográficas	44
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Abundância média de isótopos estáveis na natureza.	10
Tabela 2 -	Número de amostras de uvas das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon microvinificadas nas safras 2005 e 2006.	18
Tabela 3 -	Razões isotópicas de padrões internacionais.	21
Tabela 4 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.	27
Tabela 5 -	Valores de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água e do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.	28
Tabela 6 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol e $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2006.	30
Tabela 7 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol e $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.	33
Tabela 8 -	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol e $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2006.	35
Tabela 9 -	Valores de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água e do etanol do vinho das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon nas diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.	36
Tabela 10 -	Valores de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon nas diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2006.	38
Tabela 11 -	Número de horas de insolação, temperatura média do ar e intensidade de chuvas no período de maturação e colheita (dezembro a março) das regiões de Bento Gonçalves e Caxias do Sul, nas safras de 2005 e 2006.	44

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Em destaque estão os Estados brasileiros que se destacam na produção de uvas.	4
Figura 2 -	Principais regiões vitivinícolas do Rio Grande do Sul, em destaque a região da Serra Gaúcha com os principais pólos de produção vitícola.	5
Figura 3 -	Região da Serra Gaúcha com a identificação das sub-regiões de cultivo estudados neste trabalho.	17
Figura 4 -	Foto do espectrômetro de massas de razão isotópica modelo Delta <sup>plus</sup> XL, Finnigan, com os analisadores elementares e o cromatógrafo GC/TC.	20
Figura 5 -	Valores médios de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água versus $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol dos vinhos obtidos para as diferentes sub-regiões de cultivo da safra 2005.	29
Figura 6 -	Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol dos vinhos obtidos para as diferentes sub-regiões de cultivo da safra 2006.	31
Figura 7 -	Valores médios de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água obtidos para as diferentes sub-regiões de cultivo da safra 2006.	32
Figura 8 -	Valores médios de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Merlot de diferentes sub-regiões de cultivo nas safras 2005 e 2006.	40
Figura 9 -	Valores médios de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo nas safras 2005 e 2006.	41
Figura 10 -	Valores médios de $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água, independente da variedade de uva utilizada, nas diferentes sub-regiões de cultivo das safras 2005 e 2006.	41
Figura 11 -	Correlação entre os valores de $\delta^{18}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2005.	44
Figura 12 -	Correlação entre os valores de altitude e $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2005.	45
Figura 13 -	Correlação entre os valores de altitude e $\delta^{18}\text{O}$ (‰) do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2005.	45
Figura 14 -	Variação das altitudes nas diferentes sub-regiões de cultivo.	47
Figura 15 -	Correlação entre os valores de latitude e $\delta^{18}\text{O}$ (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2006.	48
Figura 16 -	Correlação entre os valores de latitude e $\delta^{13}\text{C}$ (‰) do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2006.	48
Figura 17 -	Variação das latitudes nas diferentes sub-regiões de cultivo.	49

## LISTA DE ANEXOS

Anexo A -	Dados climatológicos	A 1
Anexo B -	Resultados das análises básicas	10 A 4
Anexo C -	Dados de altitudes	A 9
Anexo D -	Dados de latitudes	A 11

## **RESUMO**

Neste trabalho foram estudados vinhos provenientes de microvinificações das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon das sub-regiões de Pinto Bandeira, Vale dos Vinhedos, Nova

Pádua e Monte Belo do Sul, nas safras de 2005 e 2006. Foram determinadas as razões isotópicas  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  do etanol e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  da água e do etanol, buscando possível diferenciação entre as variedades e safras de produção, e provável relação entre o local de origem e suas características geográficas (altitude e latitude) e climatológicas (temperatura, precipitação pluviométrica e umidade). Utilizou-se um espectrômetro de massas de razão isotópica (“IRMS”) acoplado a um analisador elementar, para análise de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  do etanol e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  da água e a um cromatógrafo gasoso, para análise de  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  do etanol. Em relação aos valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , observou-se que a diferenciação entre as sub-regiões amostrais são menos seletivas e não seguem mesma ordem estatística encontrada para as análises  $\delta^{18}\text{O}$ , porém a análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol pode servir para diferenciar sub-regiões que não são diferenciadas estatisticamente pelas análises de  $\delta^{18}\text{O}$ . O comportamento dos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol obedecem mesma ordem estatística de diferenciação. Independente da variedade de uva utilizada neste trabalho, foi possível diferenciar as sub-regiões através da análise isotópica de  $\delta^{18}\text{O}$ , nas duas safras de produção, com exceção do Vale dos Vinhedos e Monte Belo do Sul, safra 2005, que não apresentaram diferenças estatísticas. As latitudes das diferentes sub-regiões apresentaram diferença estatística e demonstraram influência principalmente nos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água. As análises de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol do vinho mostraram-se mais seletivas e eficientes na discriminação das sub-regiões de cultivo do que as análises de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol. Foi observada uma forte correlação entre os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol. A altitude e a latitude influenciam principalmente os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol. As influências climáticas são mais marcantes na distinção entre safras de produção do que sub-regiões de cultivo.

**Palavras-chave:** espectrômetro de massas de razão isotópica (“IRMS”); vinho; origem geográfica

AB CT

In this work, wines provided by micro-winemakings of the variety Merlot and Cabernet Sauvignon of the sub-regions of Pinto Bandeira, Vale dos Vinhedos, Nova Pádua and Monte

Belo do Sul in the 2005 and 2006 harvest have been studied. It has been established the isotopic ratios  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  of the ethanol and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  of the water and ethanol, seeking for a possible differentiation among the varieties and production harvests, and a possible relation between the place of origin and its geographic features (altitude and latitude) and climatological conditions (temperature, precipitation and humidity). It has been used a isotope ratio mass spectrometer (IRMS) coupled to an elemental analyzer for the analysis of the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  of the ethanol and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  of the water and to a gas chromatograph for the analysis of  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  of the ethanol. In relation to the values of  $\delta^{13}\text{C}$ , it is observed that the differentiation among the sampling sub-regions are less selective and do not follow the same statistical order found for the analysis of  $\delta^{18}\text{O}$ , however, the analysis of  $\delta^{13}\text{C}$  of the ethanol may be used to differentiate sub-regions that are not differentiated statistically by the analysis of  $\delta^{18}\text{O}$ . The value behaviors of  $\delta^{18}\text{O}$  of the water and the ethanol follow the same statistical order of differentiation. Regardless of the grape variety used in this work, it has been possible to differentiate the sub-regions through the isotopic analysis of the  $\delta^{18}\text{O}$ , in both production harvests, except for the Vale dos Vinhedos and Monte Belo do Sul, 2005 harvest, which did not present statistical differences. The latitudes of the different sub-regions presented statistical differences and demonstrated an influence mainly in the values of  $\delta^{18}\text{O}$  of the water. The analysis of  $\delta^{18}\text{O}$  of the water and the ethanol of the wine conveyed to be more selective and efficient in the discrimination of the cultivation sub-regions than the analysis of  $\delta^{13}\text{C}$  of the ethanol. It has been observed a strong correlation between the values of  $\delta^{18}\text{O}$  of the water and the ethanol. The altitude and latitude influence mainly the values of  $\delta^{18}\text{O}$  of the water and the ethanol. The climate influences are more noteworthy in distinguishing the production harvests than the cultivation sub-regions.

**Key-words:** isotope ratio mass spectrometer (IRMS); wine; geographical origin

## 1. INTRODUÇÃO

O panorama vitivinícola mundial revela que os países que desfrutam de maior prestígio (França, Itália, Espanha, Portugal) são os que se preocupam em produzir vinhos de melhor qualidade, identificados regionalmente e consolidados com indicação geográfica nas formas de indicação de procedência ou denominação de origem, amparadas por legislações específicas. Vinhos de diferentes regiões que utilizam a mesma tecnologia, conseguem obter produtos diferenciados, com características próprias, resultado de fatores naturais e humanos decorrentes dos processos de produção de uva, da elaboração e envelhecimento do vinho. Daí a importância de uma filosofia enológica que valoriza a origem, que permite utilizar as referências locais das áreas de produção de uvas e vinhos para diferenciá-los junto ao mercado consumidor agregando valor.

O conceito de “Denominação de Origem” nos vinhos brasileiros vem sendo utilizado como atributo qualitativo de identidade aos produtos assim registrados e, também, como parâmetro especial de aquisição, pelos consumidores. A composição química dos vinhos está sendo avaliada e utilizada como referência no controle de qualidade das regiões produtoras.

No Brasil, a produção de uvas e vinhos concentra-se principalmente na Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul, onde se destacam os municípios de Bento Gonçalves, Flores da Cunha, Caxias do Sul, São Marcos, Garibaldi, Farroupilha, Antônio Prado, Carlos Barbosa, Nova Roma do Sul, Monte Belo do Sul, Nua e Veranópolis. O cultivo da videira e a produção de vinhos, nessa região, tem repercussão sócio-econômica de considerável expressão.

Para beneficiar-se de uma Indicação de Procedência ou Apelação de Origem, o processo de produção do vinho deve seguir um controle rigoroso em todas as fases, desde a produção da uva até o consumo do vinho: as variedades utilizadas, os métodos de vinificação, as características organolépticas e as análises físico-químicas dos produtos finais.

Nota-se a importância das análises das razões isotópicas do  $^2\text{H}/^1\text{H}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  que estão centradas na capacidade de detectar possíveis diluições efetuadas nos vinhos, visto que o conteúdo de  $^2\text{H}$  (deutério) e  $^{18}\text{O}$  presente nos vegetais é significativamente maior do que o observado na água encontrada na natureza, bem como, a utilização de medidas das razões isotópicas do carbono e do oxigênio na caracterização da origem geográfica dos vinhos. Alguns isótopos estáveis são de especial interesse para a pesquisa em diversas áreas do conhecimento biológico, geológico, físico e químico, tais como o hidrogênio, oxigênio, carbono, nitrogênio e enxofre, sendo encontrados naturalmente na litosfera, hidrosfera, atmosfera e biosfera, e representam importante fonte de informações do histórico de cada elemento químico.

No presente trabalho foram estudados vinhos de microvinificações das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon, das safras de 2005 e 2006, das sub-regiões de Pinto Bandeira, Vale dos Vinhedos, Nova Pádua e Monte Belo do Sul. Foram determinadas as razões isotópicas  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  do etanol e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  da água e do etanol, objetivando diferenciá-los em relação as variedades e as safras e estudar prováveis relações entre o local de origem e suas características geográficas (altitude e latitude) e climatológicas (temperatura, precipitação pluviométrica e umidade).

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Vitivinicultura no Rio Grande do Sul e no Brasil**

Em 1875, os imigrantes italianos começaram a cultivar as primeiras variedades de uva na Serra Gaúcha. Eles adquiriram as primeiras mudas de videira dos imigrantes alemães que residiam no Vale do Rio Caí e no Vale do Rio dos Sinos. Foram os imigrantes italianos, por tradição e vocação, os responsáveis pela expansão e implantação efetiva da viticultura no Rio Grande do Sul (Página do vinho, 2002).

As três primeiras colônias (Dona Isabel, Conde D'Deu e Fundos de Nova Palmira, respectivamente Bento Gonçalves, Garibaldi e Caxias do Sul) eram divididas em léguas e subdivididas em Linhas e, algumas, em Travessões. Por sua vez, as linhas e travessões foram subdivididas em lotes, os quais foram vendidos aos imigrantes. Os lotes foram delimitados considerando a topografia, a qualidade dos solos e a disponibilidade de água, possuindo, normalmente, forma retangular alongada e, em média, 24 hectares. A partir de tal divisão territorial, as indicações geográficas atuais e potenciais da Serra Gaúcha, como no caso da Indicação Geográfica Vale dos Vinhedos, poderão regulamentar a utilização, nos rótulos dos vinhos, e de forma complementar ao nome da Indicação Geográfica, do qualitativo relativo ao número do Lote (Tonietto & Falcade, 2003).

A Serra Gaúcha é uma região montanhosa com altitudes de até 800 m, onde o cultivo da uva se faz nos pontos mais elevados, que variam de 400 a 800 m. O solo é argilo-arenoso, rico em matéria orgânica, com drenagem ineficiente, dificultando o desenvolvimento ideal dos parreirais (Azevedo *et al.*, 2004).

A história da vitivinicultura nacional confunde-se com o processo de colonização da região nordeste do Rio Grande do Sul (Serra Gaúcha), que é a maior produtora de vinho do país, especialmente nos municípios de Flores da Cunha, Bento Gonçalves, Caxias do Sul, São Marcos, Garibaldi, Farroupilha, Antônio Prado, Monte Belo do Sul, Nova Roma do Sul, Campestre da Serra, Veranópolis, São José do Ouro e Santa Tereza (Cone Leste Paulista, 2002).

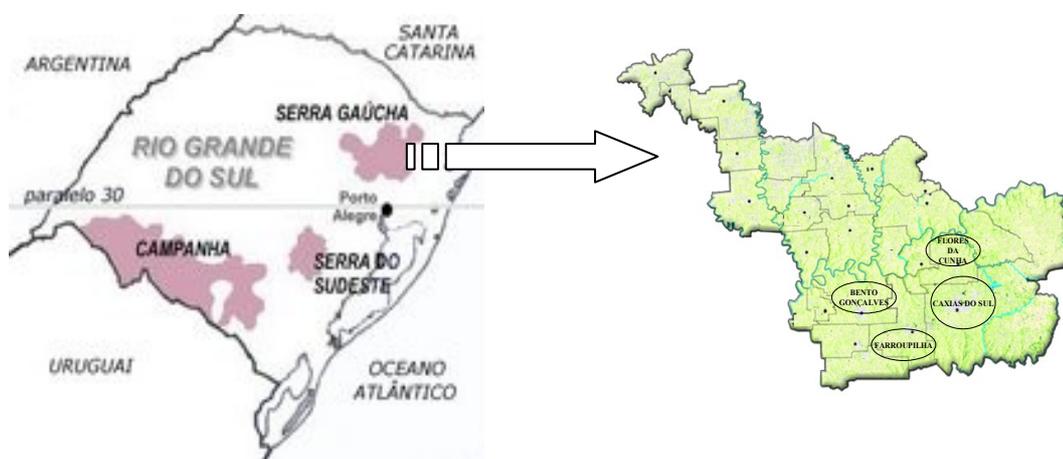
Embora o processamento da uva para a produção do vinho também ocorra em outros Estados, a maior concentração está no Rio Grande do Sul, onde são elaborados, em média, 330 milhões de litros/ano de vinhos. A vitivinicultura constitui-se em exploração agrícola fixadora do homem à terra, com a característica marcante de produção familiar que abrange um conjunto de empresas de pequeno, médio e grande porte em relação ao volume produzido (Cadastro Vinícola do Rio Grande do Sul, 2001/2002).



**Figura 1-** Em destaque estão os Estados brasileiros que se destacam na produção de uvas.

Nas Figuras 1 e 2, estão representadas as principais áreas de produção de uvas e vinhos do Brasil e do Rio Grande do Sul, bem como os principais pólos de produção do estado que compõem a Serra Gaúcha. O setor vinícola brasileiro está concentrado no Rio Grande do Sul, responsável por 90% da produção de vinhos nacionais onde encontra-se 620

estabelecimentos vinificadores. Os municípios de Bento Gonçalves, Caxias do Sul, Flores da Cunha e Farroupilha são os principais pólos de produção de vinho do estado. O restante da produção de vinhos brasileira é proveniente de regiões vitivinícolas menores, situadas nos estados de Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Santa Catarina e São Paulo (UVIBRA, 2004; BNDES, 2006). O Brasil aparece no cenário mundial vitivinícola, figurando como 16º produtor mundial (FAO, 2004).



**Figura 2-** Principais regiões vitivinícolas do Rio Grande do Sul, em destaque a região da Serra Gaúcha com os principais pólos de produção vitícola

## 2.2 Indicação de procedência e denominação de origem

Os vinhos antigos traduziam os ritos da religião católica. Por outro lado, fazia-se a seleção dos melhores locais (terrenos, clima) nos quais os vinhedos produziam as melhores uvas, e buscava-se o controle das práticas culturais e técnicas de vinificação. Por muito tempo este empenho de busca do progresso técnico baseou-se quase exclusivamente na observação empírica. O período contemporâneo tem sido marcado, particularmente na França mas também em todo o mundo, por um interesse cada vez maior pelo vinho. É certo que a melhora da qualidade do vinho deve-se principalmente aos benefícios que esse produto traz,

pelo lugar que ocupa nos mercados e pela função cultural que possui. Mais que qualquer outra, a viticultura francesa manteve-se fiel ao reconhecimento de terrenos e condições climáticas privilegiados, valorizados por uma tecnologia eficiente. Hoje, os vinhos europeus pertencentes a categoria dos “Vinhos de Qualidade Produzidos em Regiões Determinadas” são submetidos a regras de controle estabelecidas pelos próprios produtores, sob o controle do poder público, especificando a zona vitícola, os tipos de uva e os modos de cultivo da videira, os rendimentos da colheita, as técnicas de vinificação e os critérios analíticos. É também efetuada uma avaliação sensorial anual de aprovação individual, atestando que os vinhos dos produtores apresentam o nível qualitativo determinado. Os países de viticultura mais recente não tiveram tempo de efetuar um trabalho tão completo e aprofundado, preferindo identificar seu vinho apenas pelo tipo de uva (Ribéreau- Gayon, 2006).

A abertura do comércio internacional, a migração de capitais e a expansão tecnológica são forças incontroláveis que alteram os conceitos e os procedimentos tradicionalmente aceitos como universais. Esses aspectos têm intensificado a necessidade de as organizações regionais repensarem e reestruturarem seus recursos e relações com a finalidade de alcançar novos padrões de produtividade e competitividade. Algumas regiões conhecidas como “o novo mundo do vinho” – Nova Zelândia, África do Sul, Califórnia, Chile, Argentina, se destacam no mercado internacional por apresentarem estratégias e inovações, dentre as quais se apontam as indicações geográficas. Essa mudança no mercado tem estimulado os vitivinicultores brasileiros a agregarem novos elementos de qualidade aos vinhos nacionais. A principal iniciativa visa a implementação de indicações geográficas, com a produção de vinhos de qualidade produzidos em regiões determinadas, como uma alternativa para o aumento da competitividade do vinho brasileiro (Tonietto & Mello, 2001).

A qualificação gradativa do sistema de controle da produção é mais um atestado da evolução da vitivinicultura brasileira. Como garantia da qualidade do vinho

brasileiro, o Laboratório de Referência Enológica de Caxias do Sul tem colaborado no desenvolvimento e utilização de novas tecnologias, como por exemplo a realização das análises isotópicas do carbono e do oxigênio da água que permitem identificar a origem do álcool (ciclo fotossintético C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub>) e a procedência da água que compõe o vinho, contribuindo assim para a melhoria da qualidade do vinho brasileiro (IBRAVIN, 2006).

As características organolépticas são a expressão dos fatores naturais e dos fatores humanos que concorrem para a produção da uva e na elaboração e envelhecimento do vinho. Portanto, vinhos de diferentes regiões, elaborados com a mesma tecnologia, apresentam-se distintos, com características próprias. Assim, observa-se a importância do conceito de denominação de origem, que valoriza as peculiaridades das diferentes regiões de produção e a originalidade dos produtos (Aprovale, 2006).

Uma alternativa para a valorização do ecossistema e aumento da competitividade do vinho, no Brasil, está na possibilidade de sua elaboração em regiões demarcadas, através da implementação das indicações geográficas. Considera-se Indicação de Procedência (IP) o nome geográfico de país, cidade, região ou localidade de seu território, que tenha se tornado conhecido como centro de extração, produção ou fabricação de determinado produto ou de prestação de determinado serviço. Denominação de Origem (DO), por sua vez, caracteriza-se pelo nome geográfico de país, cidade, região ou localidade de seu território, que designe produto ou serviço cujas qualidades ou características se devam exclusiva ou essencialmente ao nome geográfico, incluído fatores naturais e humanos (Tonietto & Falcade, 2003).

Em 2002 o Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) concedeu ao Vale dos Vinhedos a Indicação de Procedência Vale dos Vinhedos (IPVV). O Conselho Regulador da Instituição zela pela aplicação das normas que regem o regulamento da IPVV, as quais se relacionam à comprovação da origem do produto e à aprovação das análises físico-

químicas e sensoriais dos vinhos. Sendo aprovado, o vinho é certificado pela IPVV com um selo de controle estampado nas garrafas. Os vinhos que estão de acordo com estas normas recebem em seu rótulo a inscrição “Vale dos Vinhedos – Indicação de Procedência” (Miele & Miolo, 2003).

### **2.3 Associação de produtores**

Mesmo não sendo considerado um país com tradição na produção de vinhos, mas já integrando o grupo de novos países vitivinícolas, o Brasil é produtor principalmente de vinhos originários de variedades *Vitis labrusca* (uvas americanas) e mais recentemente de vinhos finos, produzidos a partir de *Vitis vinifera*. No Rio Grande do Sul, especialmente na Serra Gaúcha, existem associações de produtores de vinhos localizadas em diferentes municípios, com alguns objetivos comuns e outros específicos para cada região de produção. Dentre elas, destacam-se a Aprovale, Apromontes e Asprovinho.

A Associação dos Produtores de Vinhos Finos do Vale dos Vinhedos (Aprovale) fundada em fevereiro de 1995, tem reconhecimento da indicação geográfica pelo INPI. As vinícolas desde o ano de 2002 têm a possibilidade de identificar a procedência de seu vinho, no rótulo da garrafa, a partir de uma série de critérios estabelecidos pelo Conselho Regulador da Indicação Geográfica do Vale dos Vinhedos. Os vinhos que estão de acordo com estas normas recebem em seu rótulo a inscrição “VALE DOS VINHEDOS – INDICAÇÃO DE PROCEDÊNCIA”. Pertencem ao Vale dos Vinhedos todas as terras cujo deságüe se dá no Arroio Pedrinho, numa conjunção da Região territorial que toma parte de três municípios do Nordeste do Rio Grande do Sul: Bento Gonçalves, Garibaldi e Monte Belo do Sul, totalizando 81 Km<sup>2</sup> (Aprovale, 2006).

A Associação de Produtores dos Vinhos dos Altos Montes (Apromontes), fundada em 23 de janeiro de 2002, é uma associação de doze vinícolas localizadas nos municípios de Flores da Cunha e Nova Pádua. Tem como missão, promover a organização de área geográfica determinada para a produção de vinhos finos, visando sua certificação de origem, divulgação e comercialização. Por isso, incentiva a pesquisa vitivinícola, bem como a qualificação dos vinhos e de seus derivados e, trabalha também para desenvolver o potencial turístico da região (Apromontes, 2006).

A Associação de Produtores de Vinhos de Pinto Bandeira (Asprovinho) localizada no distrito de Pinto Bandeira na cidade de Bento Gonçalves está em busca da obtenção da Indicação de Procedência. Esta região, por suas condições de solo e micro-clima, possibilita que espécies nobres sejam colhidas no final da vindima, atingindo excelente grau glucométrico. O método de cultivo vigente na região opta por produções menores, mas de melhor qualidade. Os cuidados e práticas artesanais são aliados a tecnologias modernas na elaboração dos vinhos (Asprovinho, 2006).

## **2.4 Abundâncias isotópicas**

A maioria dos elementos químicos encontrados na natureza é constituída por uma mistura de isótopos, ou seja, de vários átomos de um elemento químico com o mesmo número atômico mas com diferentes números de massa. A diferença no número de massa é proporcionada pela variação das quantidades de nêutrons existentes em cada isótopo. Isótopos de um elemento químico apresentam comportamento físico-químico similar, pois as reações químicas processam-se pelas ligações da eletrosfera. Entende-se com isto que as eventuais diferenças nas razões isotópicas serão inferiores daquelas observáveis entre elementos distintos, mesmo quando pertencentes ao mesmo grupo químico. Desta forma, a variação

isotópica presente nos átomos dos elementos químicos é mantida quando eles formam as diferentes substâncias existentes na natureza. Entretanto tais variações são normalmente muito pequenas e dependem da origem química da substância (Russel, 1982).

Alguns isótopos podem emitir radiação através da perda de partículas subatômicas ou de energia, sendo denominados radioativos. Na ausência de qualquer forma de radiação são denominados isótopos estáveis. Alguns isótopos estáveis são de especial interesse para a pesquisa em diversas áreas do conhecimento biológico, geológico, físico, químico, entre outros, tais como o hidrogênio, oxigênio, carbono, nitrogênio e enxofre. Eles são encontrados naturalmente na litosfera, hidrosfera, atmosfera e biosfera, sendo importante fonte de informações a respeito do histórico de cada elemento químico (Martin & Martin, 1991).

Os isótopos “leves”, que possuem massa atômica menor ( $^1\text{H}$ ,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$ ), são os mais abundantes, enquanto que os isótopos “pesados”, que possuem massa atômica maior ( $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{34}\text{S}$ ), estão presentes no ambiente em quantidades ínfimas, conforme Tabela 1 (Morrison & Boyd, 1990).

**Tabela 1-** Abundância média de isótopos estáveis na natureza.

<b>Isótopo</b>	<b>% de átomos</b>	<b>Isótopo</b>	<b>% de átomos</b>
$^1\text{H}$	99,985	$^2\text{H}$	0,015
$^{12}\text{C}$	98,892	$^{13}\text{C}$	1,108
$^{14}\text{N}$	99,633	$^{15}\text{N}$	0,366
$^{16}\text{O}$	99,759	$^{17}\text{O}$	0,037
$^{32}\text{S}$	95,018	$^{18}\text{O}$	0,203
		$^{34}\text{S}$	4,215

Fonte: Morrison & Boyd, 1990. Como a massa atômica de um elemento não são constantes devido a variações naturais que ocorrem nos diversos processos físico-químicos, os quais ocasionam processos de fracionamento isotópico. Destes processos resultam um suave enriquecimento ou decréscimo da forma isotópica mais pesada (Klein & Klein, 1982).

O fracionamento isotópico biológico proporciona uma distribuição desigual dos isótopos mais leves e mais pesados entre os reagentes e produtos da reação. Na maioria dos casos, os isótopos mais leves são preferencialmente utilizados e os mais pesados são enriquecidos na fração residual do substrato. Exemplos deste processo são o conhecido fenômeno de fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico durante a fotossíntese, a metanogênese e a oxidação do metano. Em estudos no campo da geociências a temperatura foi identificada como o principal parâmetro a influenciar o fracionamento isotópico (Morasch *et al.*, 2001). A magnitude do fracionamento isotópico na natureza também é afetada pelas diferenças regionais, ou seja, variações das condições meteorológicas como umidade, temperatura, ventos, entre outras (Brause *et al.*, 1984).

As razões dos isótopos estáveis do carbono, hidrogênio, e oxigênio dos compostos químicos orgânicos refletem aquelas dos compostos de origem. Sobre este conceito está baseado o controle da autenticidade de alimentos e bebidas alcoólicas. Em diferentes países da Europa, análises da razão isotópica <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C do etanol, bem como a determinação da razão <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O da água contida em vinhos, definem a origem geográfica das amostras analisadas (Bréas *et al.*, 1994).

## **2.5 Análise isotópica em alimentos**

A razão isotópica é utilizada na detecção de várias formas de adulteração em alimentos. O controle da origem dos materiais utilizados na produção dos alimentos é obrigatório a fim de garantir a qualidade dos produtos. Adulterações de sucos de frutas, mel, vinhos e derivados com produtos mais baratos podem ser facilmente detectados por apresentarem diferentes composições isotópicas. A adição de açúcar de beterraba (na Europa) ou de cana ou mosto concentrado (no Brasil) ao mosto de uva ou no vinho, antes ou durante a

fermentação, é uma prática enológica muito utilizada, com o objetivo de aumentar o conteúdo natural de etanol no vinho (Kosir *et al.*, 2001). Os isótopos estáveis  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^2\text{H}/^1\text{H}$  foram utilizados para identificar diferentes fontes de flavorizantes de baunilha, linalol e citral, bem como, caracterizar o etanol do vinho e detectar a adição de açúcares no suco de laranja e no mel (Culp & Noakes, 1992). Estes aditivos são derivados de plantas do ciclo fotossintético  $\text{C}_4$ , com valores de  $\delta^{13}\text{C}$  próximos a  $-12\text{‰}$  (Brand, 1996).

A avaliação dos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  é muito importante para saber a autenticidade dos sucos e concentrados de laranja, pois os mesmos apresentam valores positivos, porém quando são diluídos passam a apresentar valores negativos (Brause *et al.*, 1984). Medidas de  $\delta^{18}\text{O}$  têm como propósito a detecção da adição de água em vinhos e sucos (Bricout, 1982; Dunbar, 1982) e, particularmente, auxiliar na origem geográfica dos mesmos (Rossmann *et al.*, 1996).

## 2.6 Isótopos de carbono

Existem basicamente duas vias de fixação do  $\text{CO}_2$  pelas plantas durante a fotossíntese. Durante este processo, o carbono sofre uma discriminação isotópica, gerando uma redução na concentração de  $^{13}\text{C}$  e em consequência um aumento da concentração de  $^{12}\text{C}$ . Esta discriminação isotópica do  $^{13}\text{CO}_2$  pode ser utilizada para diferenciá-las. No ciclo  $\text{C}_3$  (ou Ciclo de Calvin), que utiliza a ribulose-1,5-bifosfato como molécula receptora de  $\text{CO}_2$  atmosférico, este gás é absorvido nas plantas por difusão através dos estômatos e passa ao interior das células a fim de produzir carboidratos, os quais fornecem massa e energia às plantas. Nesta rota bioquímica, o primeiro composto orgânico sintetizado contém três átomos de carbono. Existe um caminho alternativo chamado de ciclo  $\text{C}_4$  (ou Ciclo de Hatch-Slack), que utiliza o oxalacetato como molécula receptora de  $\text{CO}_2$ ; os primeiros açúcares formados

neste ciclo possuem quatro carbonos. As plantas que possuem ciclo fotossintético C<sub>3</sub> apresentam um maior fracionamento isotópico, enquanto que nas plantas C<sub>4</sub> o fracionamento é menor (Licatti, 1997; Bréas *et al.*, 1994). As primeiras são a maioria das plantas superiores de florestas e cultivadas de folhas largas, incluindo a videira, adaptadas às condições de disponibilidade hídrica e temperaturas amenas. O ciclo C<sub>4</sub> está presente numa minoria de plantas, principalmente forrageiras e gramíneas tropicais, como por exemplo milho e açúcar-de-cana (Dunbar, 1982). Plantas C<sub>3</sub> são predominantemente cultivadas em altas latitudes e plantas C<sub>4</sub> são mais comuns em regiões que apresentam clima quente e em baixas latitudes (nos trópicos), sob forte estresse hídrico, como nas savanas. Os valores da razão <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C diminuem em plantas cultivadas na região do equador em direção aos pólos, e esta informação é utilizada para a determinação da origem geográfica (Rossmann *et al.*, 1996; Kelly *et al.*, 2005).

As razões isotópicas podem ser medidas por espectrometria de massas em aparelhos especialmente construídos para isso, chamados de espectrômetros de massas para razões isotópicas (IRMS, em inglês), onde os compostos não são analisados diretamente, mas a partir dos gases produzidos por reações de combustão, pirólise ou de equilíbrio isotópico, por exigência do aparelho. Os gases geralmente utilizados nas análises isotópicas são o CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e SO<sub>2</sub>. Porém 70% das análises realizadas utilizam o CO<sub>2</sub>, o qual é empregado nas análises das razões <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C e <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O (Brand, 1996). Os espectrômetros de massas separam as formas isotópicas de um dado elemento por intermédio de um campo elétrico, seguido de outro magnético, após o gás passar por uma fonte de íons de impacto de elétrons. Pela dificuldade de medida absoluta, as variações isotópicas são normalmente expressas pela notação delta (δ), em partes por mil (‰), mostrando os desvios relativos aos padrões internacionais (Jamin, 2002), conforme a Equação 1.

O valor isotópico de carbono da amostra ( $\delta^{13}\text{C}$ ) é tomado comparativamente ao padrão internacional PDB, que é um fósil carbonatado do Cretáceo (*Bellemnitella americana*) da formação Pee Dee na Carolina do Sul, cujo valor numérico é considerado 0 ‰, através da seguinte equação:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{amostra, PDB}} (\text{‰}) = [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1] \cdot 10^3 \text{ (Equação 1)}$$

onde:

R é a razão isotópica  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  da amostra e do padrão internacional PDB (Bréas *et al.*, 1994; Harris, 1999; Cisneros *et al.*, 2002).

Através da mensuração da razão dos isótopos estáveis do carbono ( $^{12}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$ ), torna-se possível identificar quantitativamente a proporção da mistura isotópica de duas fontes distintas quaisquer, com erro analítico inferior a 0,2 ‰. Plantas  $\text{C}_3$  apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -32 e -25 ‰ em relação ao padrão internacional Pee Dee Belemnite (PDB). Plantas do ciclo fotossintético  $\text{C}_4$  mostram valores de  $\delta^{13}\text{C}$  próximos a -12‰ (Brand, 1996).

A uva é uma espécie vegetal do ciclo fotossintético  $\text{C}_3$ , que apresenta uma razão isotópica em torno de -28 ‰. Os subprodutos da uva (açúcar, álcool, vinho, entre outros) tendem a apresentar este mesmo valor. A cana-de-açúcar e o milho são espécies vegetais do ciclo fotossintético  $\text{C}_4$ , com valor isotópico próximo a -14 ‰. Através da técnica da diluição dos isótopos estáveis do carbono pode-se medir quantitativamente a proporção do álcool de cana adicionado ao vinho. Entretanto, a adição de outras substâncias exógenas provenientes de plantas pertencentes ao mesmo ciclo fotossintético da uva ( $\text{C}_3$ ), como álcool de arroz ou laranja e açúcar de beterraba, não podem ser detectadas por este método (Ducatti, 2000a).

Segundo Rossmann *et al.* (1996), embora a análise de  $\delta^{13}\text{C}$  possa ser utilizada para determinação de origem e da comprovação de adulteração dos vinhos, diversos fatores

podem influenciar o conteúdo de  $\delta^{13}\text{C}$  dos vinhos, como por exemplo, as condições de maturação da planta, o período de colheita, o solo e o clima da região.

## **2.7 Isótopos de oxigênio**

No ciclo da água o principal fator de fracionamento isotópico ocorre durante os processos de evaporação e condensação na atmosfera. As razões isotópicas de hidrogênio e oxigênio das águas terrestres dependem da região onde ocorre a precipitação. Moléculas mais leves da água ( $\text{H}_2^{16}\text{O}$ ) evaporam mais rapidamente ao nível do mar ou no equador que aquelas que contêm isótopos pesados. Quando esta água condensa-se parcialmente para formar as chuvas, em altas latitudes e altitudes, efeitos ligados à temperatura removem preferencialmente essas moléculas leves, causando uma diminuição nas moléculas mais pesadas ( $\text{H}_2^{18}\text{O}$ , HDO). Um mapeamento da precipitação permitiria identificar a origem regional das amostras de água. Medidas da razão isotópica do oxigênio são amplamente aplicáveis na caracterização da origem geográfica do arroz devido a influência da latitude no fracionamento desses isótopos na água do solo (Kelly et al., 2002). Avanços na discriminação entre diferentes origens geográficas, utilizando análise de diferentes elementos minerais e composição isotópica, foram propostas por diversos autores, como por exemplo Day et al. (1995) e Martin et al. (1999).

Durante o processo de absorção de água do solo, as plantas não causam nenhum fracionamento significativo nos isótopos de hidrogênio, nem nos de oxigênio da água. Porém, ao atingir o nível das folhas e outras partes expostas como os frutos, o intenso processo de evaporação causa um enriquecimento no conteúdo de  $^2\text{H}$  e  $^{18}\text{O}$  da água residual das células, onde vai ocorrer a formação dos compostos orgânicos da planta. Como, no caso da uva, a glicose e frutose serão os precursores do álcool (etanol) do vinho, também a água do processo

de fermentação preservará o enriquecimento isotópico da água da folha/fruto. Desta forma, a água do vinho refletirá o conteúdo isotópico da água das plantas que o originou, que por sua vez será distinta da água do ambiente. Assim, a análise de oxigênio pode ser utilizada para identificação da adição de água exógena em vinhos e sucos de frutas (Bréas *et al.*, 1994).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta das amostras de uvas

As variedades de uvas utilizadas neste trabalho pertencem à espécie *Vitis vinifera*, Merlot e Cabernet Sauvignon. Foram coletadas 43 amostras de uvas na safra de 2005 e 39 amostras na safra de 2006 nas sub-regiões de Pinto Bandeira, Vale dos Vinhedos, Nova Pádua e Monte Belo do Sul (Figura 3). Essas sub-regiões estão localizadas na região da Serra Gaúcha no Estado do Rio Grande do Sul. Devido ao pequeno número de amostras coletado em Monte Belo do Sul, foram realizados apenas alguns testes estatísticos para esta sub-região.



**Figura 3-** Região da Serra Gaúcha com a identificação das sub-regiões de cultivo estudadas neste trabalho.

Na Tabela 2 estão apresentados os locais de coleta, as variedades utilizadas e o número de amostras nas diferentes safras de produção.

**Tabela 2-** Número de amostras de uvas das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon microvinificadas nas safras 2005 e 2006.

Sub-região	Pinto Bandeira		Vale dos Vinhedos		Nova Pádua		Monte Belo do Sul	
Variedade/Safra	2005	2006	2005	30 2006	2005	2006	2005	2006
Merlot	7	6	5	4	3	4	1	1
Cabernet Sauvignon	9	8	6	9	9	6	3	1

### 3.2 Microvinificações e análises dos vinhos

As microvinificações foram realizadas sem adição de açúcar (chaptalização). Aos mostos das uvas foi adicionado leveduras *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* (PDM Maurivin), na concentração de  $0,3 \text{ g L}^{-1}$ , pré-ativadas em água Milli Q ( $28^{\circ}\text{C}$ ).

As amostras contendo  $1,5 \text{ kg}$  de mosto de uva com película e sementes previamente tratado com metabissulfito de potássio ( $20 \text{ mg L}^{-1}$ ), da safra 2005, foram microvinificadas, em duplicata, em frascos Erlenmeyer com capacidade para  $2 \text{ L}$ , fechados com rolhas contendo válvulas de Müller. Na safra de 2006, as amostras foram microvinificadas em tanques de aço inox com capacidade de  $10 \text{ L}$ , contendo entre  $2$  a  $4,5 \text{ Kg}$  de mosto com as películas. As uvas foram desengaçadas e esmagadas manualmente. Adicionou-se anidrido sulfuroso ao mosto, antes do início da fermentação alcoólica, na concentração de  $20 \text{ mg L}^{-1}$ , a fim de protegê-lo da oxidação e ação de microrganismos prejudiciais.

A temperatura de fermentação dos vinhos foi de  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , controlada com auxílio de um termômetro devidamente calibrado, durante aproximadamente  $15$  dias, na safra de 2005, e durante aproximadamente  $05$  dias na safra de 2006. Foram realizadas duas a três remontagens diárias. Após fermentação alcoólica, determinada pela análise da densidade à  $20^{\circ}\text{C}$ , os vinhos foram separados das películas e, em seguida, sofreram fermentação maloláctica espontânea, acompanhada por cromatografia de papel.

Posteriormente, todos os vinhos foram acondicionados em garrafas de  $750 \text{ mL}$ , identificadas, e acrescidas de anidrido sulfuroso ( $30 \text{ mg L}^{-1}$ ) para fins de conservação,

permanecendo armazenados em condições ideais de temperatura e umidade, para subseqüentes análises básicas e isotópicas.

As análises básicas corresponderam à determinação do grau alcoólico, do pH, da acidez volátil, da acidez total e dos açúcares redutores para verificar a qualidade das amostras. Em todas as amostras de vinho, foram realizadas análises isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol,  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol e da água.

As análises isotópicas e as análises básicas dos vinhos foram realizadas no Laboratório de Referência Enológica (LAREN) de Caxias do Sul da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do estado do Rio Grande do Sul (SAA-RS).

### 3.3 Instrumentação

As análises básicas foram realizadas em espectroscópio de infravermelho Wine Scan – FOSS, e as análises foram determinadas por leituras de infravermelho próximo.

Utilizou-se um espectrômetro de massas de razão isotópica Thermo Electron (ex-Finnigan MAT), modelo Delta<sup>plus</sup> XL acoplado “on-line” a um analisador elementar Flash EA 1112, constituído de fornos de oxidação e redução, dessecante (“trap” de perclorato de magnésio ( $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ ), e coluna de separação cromatográfica Porapack Q para análise das razões isotópicas do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) do álcool, e do oxigênio ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) da água (Figura 4).

Para análise da razão isotópica  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  do etanol utilizou-se o mesmo espectrômetro de massas de razão isotópica acoplado “on-line” ao cromatógrafo gasoso GC/TC (Hewlet Packard, modelo 6890 N), equipado com coluna cromatográfica Poraplot Q da Varian, designada para análise de compostos orgânicos voláteis polares e apolares, com injetor split/splitless. Uma vez separado, o etanol foi convertido a monóxido de carbono (CO) em um reator de cerâmica a 1240°C antes de ser medido no espectrômetro de massas (Figura 4).

As amostras de uvas recolhidas foram georeferenciadas no campo com auxílio de um GPS portátil (modelo 12 XL, Garmin).



**Figura 4-** Foto do espectrômetro de massas de razão isotópica modelo Delta<sup>plus</sup> XI, Finnigan, com os analisadores elementares e o cromatógrafo GC/TC.

### 3.4 Padrões Internacionais

Para as análises isotópicas foram utilizados os seguintes padrões internacionais:

- NBS – 22, óleo mineral calibrado pelo NIST (National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg) para valor isotópico de carbono em relação ao PDB, tendo valor de  $\delta^{13}\text{C} = -29,7 \text{ ‰}$ ;
- V-SMOW, água oceânica de Viena (Vienna Standard Mean Ocean Water) da IAEA (Agência Internacional de Energia Atômica), com valores definidos de  $\delta^2\text{H}$  e  $\delta^{18}\text{O} = 0 \text{ ‰}$ ;
- SLAP, água de precipitação da Antártica (Standard Light Antartic Precipitation) da IAEA, com valores de  $\delta^2\text{H} = -428 \text{ ‰}$  e  $\delta^{18}\text{O} = -55,5 \text{ ‰}$ .

- Padrões de trabalho: carvão mineral, calibrado em relação ao NBS 22, proveniente do Laboratório de Isótopos Estáveis da UNESP (Botucatu, São Paulo), com valor isotópico de carbono de  $-27,99 \pm 0,15 \text{ ‰}$ , e vinhos padrões comerciais (qualquer variedade e proveniência), utilizados como referência de trabalho.

- Solução hidroalcoólica de etanol Merck 12%.

- Água ultra-pura (Milli Q), calibrada em relação aos padrões internacionais V-SMOW e SLAP.

A Tabela 3 mostra os valores das razões isotópicas absolutas dos padrões, onde a água de referência Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW) é empregada como padrão para análises de  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  e  $^2\text{H}/^1\text{H}$ , e o PDB (Pee Dee Belemnite), como referência para análise de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . Para análise de  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  é recomendado o uso de CDT (Canon Diablo Troilite meteorite) e para análise de  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  utiliza-se como padrão o nitrogênio atmosférico (Slater *et al.*, 2001).

**Tabela 3-** Razões isotópicas de padrões internacionais.

Padrão	Razão Isotópica	Fração Atômica
Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW)	$^2\text{H}/^1\text{H}$	0,00015576
Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW)	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,00200520
Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW)	$^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,00037300
Standard Light Antartic Precipitation (SLAP)	$^2\text{H}/^1\text{H}$	0,00008909
Standard Light Antartic Precipitation (SLAP)	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	-
Pee Dee Belemnite (PDB)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	0,01123720
Pee Dee Belemnite (PDB)	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	-
Atmospheric nitrogen	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	0,00367650
Canyon Diablo Troilite meteorite	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	0,04500450

Fonte: Slater *et al.*, 2001.

### 3.5 Metodologia

#### 3.5.1 Determinação da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol em relação ao PDB

Os valores da razão isotópica  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  das amostras vinificadas foram obtidos em relação ao padrão internacional PDB ( $\delta^{13}\text{C}$ ) conforme metodologia do Ministério da

Agricultura através da Instrução Normativa N° 4 de 05/02/2001 (Brasil, 2001). Após destilar 1,5 mL da amostra, sob ação criogênica a  $-196^{\circ}\text{C}$  e sob vácuo ( $10^{-2}$  mbar), durante aproximadamente 25 min, 1 $\mu\text{L}$  do destilado foi empacotado em cápsula de estanho puro, juntamente com substância absorvente “Cromosorb W”, para evitar a volatilização da amostra. O carbono da amostra sofreu combustão no interior do analisador elementar em um tubo de quartzo vertical, contendo óxido de cobre e óxido de cobalto e prata a  $900^{\circ}\text{C}$ , sob fluxo contínuo de hélio ultra puro ( $90\text{ mL min}^{-1}$ ). Os gases gerados passaram por uma coluna de redução, contendo cobre reduzido a  $680^{\circ}\text{C}$  e, após retenção de água, foram separados por uma coluna cromatográfica Porapak Q a temperatura de  $43^{\circ}\text{C}$ , antes de chegar na fonte de íons do espectrômetro. O espectrômetro de massas contém um coletor triplo de íons com o objetivo de medir simultaneamente as relações massa/carga ( $m/z$ ), correspondentes às massas 44, 45 e 46 do  $\text{CO}_2$  formado pela combustão das amostras. As amostras foram analisadas em triplicata. O desvio padrão para a análise foi inferior ou igual a 0,2 %.

### 3.5.2 Determinação da razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água do vinho em relação ao V-SMOW

Os valores da razão isotópica  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  da água das amostras vinificadas foram obtidos em relação ao padrão internacional V-SMOW ( $\delta^{18}\text{O}$ ) conforme metodologia do Ministério da Agricultura através da Instrução Normativa N° 2 de 02/02/2006 (Brasil, 2006). A determinação da razão isotópica da água é feita indiretamente através do uso de gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) pois o espectrômetro de massas não admite água líquida diretamente. O preparo da amostra baseia-se no equilíbrio do  $\text{CO}_2$  obtido através da reação de troca isotópica entre o  $\text{CO}_2$  (g) e a água do vinho (l), em temperatura controlada, durante um período de 24h (Epstein & Mayeda, 1953), de acordo com a Equação:



Após o equilíbrio isotópico, o  $\delta^{18}\text{O}$  do  $\text{CO}_2$  (g) reflete o  $\delta^{18}\text{O}$  (l) da água contida no vinho.

Nesta análise utiliza-se a mesma configuração do que a utilizada para a medida de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  das amostras vinificadas, gás hélio como arraste a  $90 \text{ mL min}^{-1}$ , porém  $70 \mu\text{L}$  do  $\text{CO}_2$  equilibrados foram injetados no analisador elementar. Após a retenção da água, as espécies isotópicas de massa 44, 45 e 46 foram medidas no espectrômetro. O valor de  $\delta^{18}\text{O}$ , calculado pela equação 1, é tomado comparativamente ao padrão internacional V-SMOW (Bréas *et al.*, 1994; Cisneros *et al.*, 2002; Harris, 1999).

As amostras foram analisadas em triplicata. O erro instrumental analítico é menor do que  $0,05 \text{ ‰}$  e a precisão da análise é inferior ou igual a  $0,2 \text{ ‰}$ . Um padrão de trabalho (água Milli Q) foi calibrado através dos padrões V-SMOW e SLAP (Remaud *et al.*, 1992; Bréas *et al.*, 1994; Jamin *et al.*, 1997; Gucek *et al.*, 1998; Pupin *et al.*, 1998; Ducatti, 2000b).

### **3.5.3 Determinação da razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ do etanol em relação a V-SMOW**

Para a determinação da razão isotópica  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  do etanol em relação ao padrão internacional V-SMOW, utilizou-se método modificado a partir dos seguintes autores: Hener *et al.*, 1995, 1998; Ruff *et al.*, 2000, 2002; Hör *et al.*, 2001; Cisneros *et al.*, 2002, no qual a amostra de vinho ( $500 \mu\text{L}$ ) foi colocada em frascos de  $2 \text{ mL}$  contendo  $100 \text{ mg}$  de cloreto de sódio, tampado com tampa de rosca e septo de silicone com Teflon, deixado durante  $30 \text{ min}$  em repouso. O aumento da concentração de íons no vinho auxilia na liberação das substâncias voláteis durante a liberação de gases (*headspace*) que foi amostrada por SPME. A separação do etanol é efetuada, utilizando um cromatógrafo gasoso (Hewlett Packard, modelo 6890N), contendo uma coluna de sílica de  $30 \text{ m}$  (Poraplot Q,  $0,32 \text{ mm i.d.}$ ,  $0,25 \mu\text{m}$ ), com detector por

ionização de chama, injetor split/splitless (operando com uma razão de split de 10:1) e autosampler A200S. Gás hélio ultra puro é usado como gás de arraste, com uma vazão de 1,6 mL min<sup>-1</sup>. O programa de temperatura utilizado foi de 60 °C durante 2 min, com posterior aquecimento de 60 a 130 °C, com incremento de 10 °C min<sup>-1</sup> (Comerlatto *et al.*, 2005).

Nesta análise, o álcool do vinho foi separado na coluna cromatográfica e convertido a monóxido de carbono (CO) no reator de pirólise (tubo de cerâmica, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, com diâmetro interno de 0,5 mm; 1,5 mm de diâmetro externo e 320 mm de comprimento), contendo internamente dois filamentos (um de níquel e um de platina), mantidos a 1240 °C. Neste caso, o espectrômetro de massas mediu simultaneamente as relações massa/carga (m/z) correspondentes às massas 28, 29 e 30 do CO formado pela pirólise das amostras. Foram considerados desvios padrões máximos de 0,4 % (Henner *et al.*, 1995). As amostras foram analisadas em triplicata.

### **3.6 Análise estatística**

Os resultados obtidos foram avaliados com o programa SPSS 12.0 for Windows, através do teste *t* de Student e análise de variância por comparação de médias (ANOVA) com ajuste de Bonferroni.

### **3.7 Dados climatológicos**

Foram avaliados os dados climatológicos mensais, temperatura média do ar, precipitação pluviométrica total e total de insolação (Anexo A), fornecidos pelo 8º Distrito do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), obtidos pelas estações climatológicas localizadas nos municípios de Bento Gonçalves e Caxias do Sul. Alguns dados climatológicos foram obtidos a partir da estação de Caxias do Sul, pois foi a estação mais próxima da região de Nova Pádua, onde foram coletadas amostras.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises isotópicas dos vinhos foram apresentados, por uma questão didática, em quatro partes:

- Na primeira parte estão apresentados os valores das análises isotópicas, discriminando apenas a posição geográfica, nas safras 2005 e 2006, independentemente da variedade de uva utilizada.
- Na segunda parte, estão apresentados os valores das análises isotópicas das amostras de vinhos das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon das safras 2005 e 2006 sem fazer diferenciação da posição geográfica.
- Os resultados com discriminação das variedades, posição geográfica e das safras 2005 e 2006, estão apresentados na terceira parte.
- Para finalizar, a quarta parte correlaciona os resultados de isótopos de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol,  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol entre si e em relação às diferentes características geográficas (altitude e latitude). Esses resultados discriminam, também, as safras investigadas.

Os resultados das análises básicas dos vinhos elaborados, servem apenas para comprovar a qualidade alcançada e encontram-se em Anexo (Anexo B). Nos Anexos C e D estão apresentados os dados de altitude e latitude dos diferentes locais de cultivo. Os resultados das análises de  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol da safra de 2006, não serão apresentados, devido

terem apresentado mesma ordem estatística de diferenciação e forte correlação em relação à análise de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, observadas nas análises de 2005.

### **Influência da origem geográfica nas razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos**

Os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol dos vinhos da safra 2005 das diferentes sub-regiões, independente da variedade de uva utilizada, e seus respectivos desvios padrões, valores mínimo e máximo, estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4-** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.

Sub-região	$\delta^{13}\text{C}$ etanol (‰)			
	Mín	Máx	Média	Desvio Padrão
<b>Pinto Bandeira n=16</b>	-28,00	-26,47	-27,25 <sub>cd</sub>	0,39
<b>Vale dos Vinhedos n=11</b>	-28,34	-25,91	-27,38 <sub>c</sub>	0,57
<b>Nova Pádua n=12</b>	-29,58	-26,31	-28,18 <sub>a</sub>	1,00
<b>Monte Belo do Sul n=4</b>	-28,54	-27,18	-27,89 <sub>ab</sub>	0,46

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pela ANOVA seguida do teste de Dunett T3, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

Em relação aos valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , obtidos na safra de 2005, observa-se que a diferenciação entre as sub-regiões amostrais são menos seletivas e não seguem mesma ordem estatística encontrada para as análises de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol, porém a análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol pode servir para diferenciar sub-regiões que não são diferenciadas estatisticamente pelas análises de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol. Como observa-se nas Tabelas 4 e 5, as sub-regiões do Vale dos Vinhedos e de Monte Belo do Sul, não diferenciaram-se utilizando as análises de  $\delta^{18}\text{O}$ , porém foram diferenciadas pela análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol. As sub-regiões de Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos, assim como Nova Pádua e Monte Belo do Sul apresentaram

valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  muito próximos ( $-27,25 \pm 0,39 \text{ ‰}$  e  $-27,38 \pm 0,57 \text{ ‰}$ , e,  $-27,89 \pm 0,46 \text{ ‰}$  e  $-28,18 \pm 1,00 \text{ ‰}$ , respectivamente). Observa-se também que os menores valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol foram encontrados em Nova Pádua e Monte Belo do Sul ( $-28,18 \pm 1,00 \text{ ‰}$  e  $-27,89 \pm 0,46 \text{ ‰}$ , respectivamente), diferenciando significativamente das sub-regiões de Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos.

**Tabela 5-** Valores de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água e do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.

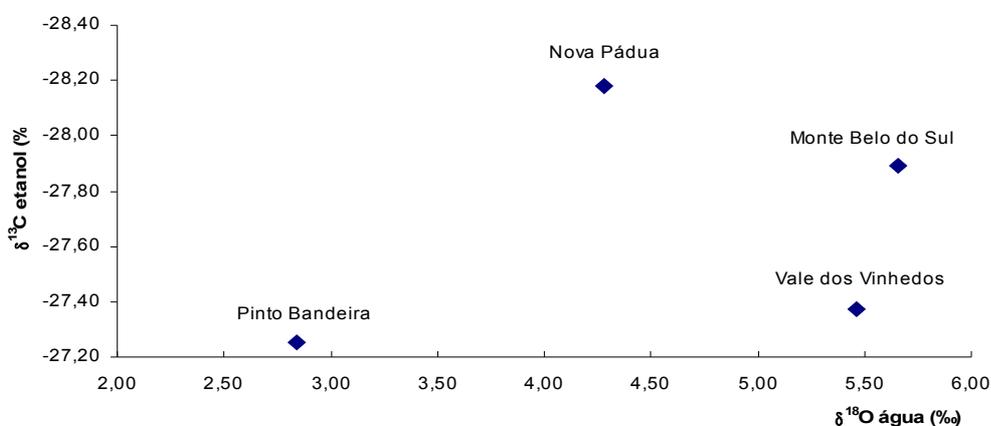
Sub-região	$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)				$\delta^{18}\text{O}$ etanol (‰)			
	Mín	Máx	Média	Desvio Padrão	Mín	Máx	Média	Desvio Padrão
<b>Pinto Bandeira n=16</b>	0,36	4,60	2,84 <sub>a</sub>	1,36	26,61	31,57	29,63 <sub>a</sub>	1,45
<b>Vale dos Vinhedos n=11</b>	4,52	6,45	5,47 <sub>c</sub>	0,58	30,26	33,13	31,63 <sub>c</sub>	0,77
<b>Nova Pádua n=12</b>	1,60	6,46	4,28 <sub>b</sub>	1,73	28,02	33,11	30,75 <sub>b</sub>	1,44
<b>Monte Belo do Sul n=4</b>	4,51	7,30	5,66 <sub>cd</sub>	1,09	31,23	33,98	32,20 <sub>cd</sub>	1,01

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pela ANOVA seguida do teste de Dunnett T3, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

O comportamento dos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol, independente a variedade de uva utilizada, apresentados na Tabela 5, são significativamente mais eficientes na discriminação das sub-regiões e obedecem mesma ordem estatística de diferenciação. Porém, observa-se que as amostras do Vale dos Vinhedos e Monte Belo do Sul (diferença média de 0,19 e 0,57 ‰, respectivamente), não apresentaram diferenças estatísticas, podendo ser justificado devido essas sub-regiões serem muito próximas. Observa-se também que para ambos parâmetros, os maiores valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol foram encontrados nestas duas sub-regiões. Em contrapartida, a sub-região de Pinto Bandeira apresentou os menores valores médios ( $2,84 \pm 1,36 \text{ ‰}$  e  $29,63 \pm 1,45 \text{ ‰}$ , respectivamente) dentre todos locais estudados. A média de  $3,8 \pm 1,4 \text{ ‰}$  obtida por Day *et al.* (1994), para mostos de uva, em cinco diferentes regiões da França, durante a safra de 1989, permaneceu entre os valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água encontrados neste trabalho durante a safra de 2005 (Tabela 5), porém esta média encontra-se acima dos valores médios encontrados na safra de 2006 (Tabela 6).

Os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol das diferentes sub-regiões de cultivo, apresentados na Tabela 5, com variação de 26,61 a 33,98 ‰, foram superiores aos obtidos por Cisneros *et al.* (2002), em destilados de vinhos, os quais apresentaram valores entre 22 a 26 ‰. Essas diferenças, mesmo dentro da mesma sub-região, podem ser explicadas por diferenças nas condições meteorológicas como umidade, temperatura, ventos (Brause *et al.*, 1984).

Conforme Figura 5, observa-se que através das análises de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol pode-se separar as amostras em dois grupos: Nova Pádua e Monte Belo do Sul de Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos, no entanto as análises de  $\delta^{18}\text{O}$  da água só não diferenciam as sub-regiões do Vale dos Vinhedos de Monte Belo do Sul.



**Figura 5-** Valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água versus  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol dos vinhos obtidos para as diferentes sub-regiões de cultivo da safra 2005.

Na Tabela 6, estão apresentados os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol e  $\delta^{18}\text{O}$  da água do vinho da safra 2006, independente da variedade de uva utilizada, com seus respectivos desvios padrões, valores mínimo e máximo.

**Tabela 6-** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol e  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2006.

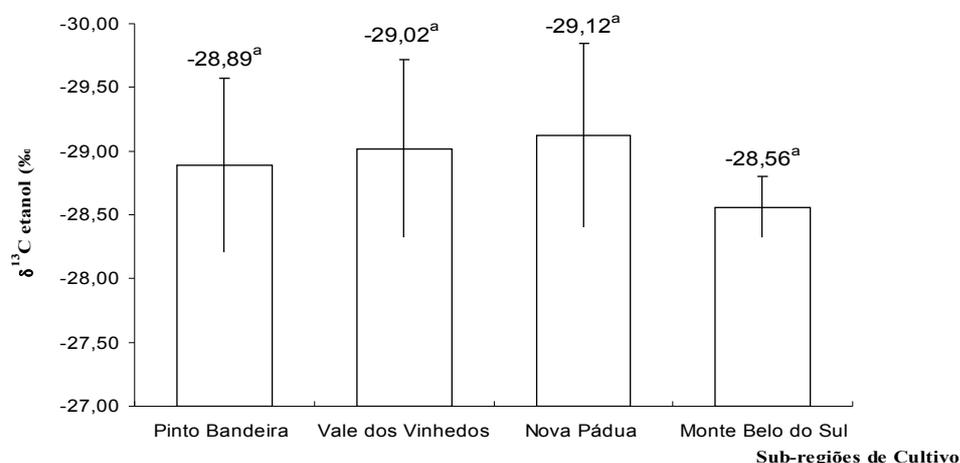
Sub-região	$\delta^{13}\text{C}$ etanol (‰)				$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)			
	Mín	Máx	Média	Desvio Padrão	Mín	Máx	Média	Desvio Padrão
<b>Pinto Bandeira n=14</b>	-30,00	-27,60	-28,89 <sub>a</sub>	0,68	-0,84	0,61	-0,30 <sub>a</sub>	0,41
<b>Vale dos Vinhedos n=13</b>	-30,21	-27,76	-29,02 <sub>a</sub>	0,70	-0,44	1,81	0,69 <sub>b</sub>	0,59
<b>Nova Pádua n=10</b>	-30,11	-27,75	-29,12 <sub>a</sub>	0,72	-0,37	4,00	1,79 <sub>c</sub>	1,29
<b>Monte Belo do Sul n=2</b>	-28,84	-28,21	-28,56 <sub>a</sub>	0,24	0,87	5,26	3,03 <sub>d</sub>	2,33

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pela ANOVA seguida do teste de Tukey, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

Os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  encontrados neste trabalho tanto para a safra de 2005 (variação de  $-27,25 \pm 0,39$  ‰ a  $-28,18 \pm 1,00$  ‰), quanto para a safra de 2006 (variação de  $-28,56 \pm 0,24$  ‰ a  $-29,12 \pm 0,72$  ‰), foram inferiores aos obtidos por Martin *et al.* (1999), num estudo com vinhos genuínos de diferentes regiões de Bordeaux (França), durante as safras de 1990 a 1993, que obtiveram valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  no intervalo de  $-25,8 \pm 1,3$  ‰ a  $-27,1 \pm 1,2$  ‰. Contrariamente ao que observa-se neste trabalho, esses autores observaram que os baixos níveis de precipitação foram os responsáveis pelos altos conteúdos de  $^{13}\text{C}$  nos vinhos provenientes de Médoc (aproximadamente  $-25,2$  ‰), efeito que não parece ter sido determinante neste trabalho. Em compensação, em relação aos valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, as sub-regiões do Vale dos Vinhedos e Monte Belo do Sul, na safra de 2005 (Tabela 4), apresentaram valores superiores aos encontrados para as regiões de Bordeaux, onde a variação foi de  $1,7 \pm 2,0$  ‰ a  $4,5 \pm 1,7$  ‰. Por outro lado, comparando-se os valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água encontrados na safra de 2006 (Tabela 6), observa-se que as sub-regiões de Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos apresentaram valores médios bem inferiores ( $-0,30 \pm 0,41$  ‰ e  $0,69 \pm 0,59$  ‰, respectivamente) aos valores encontrados em Bordeaux.

Conforme Tabelas 5 e 6, os valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água dos vinhos obtidos para diferentes sub-regiões de cultivo estudadas neste trabalho, durante as safras de 2005 e 2006, são bem superiores aos encontrados por Ogrinc *et al.* (2001), num estudo com vinhos de diferentes variedades de uvas, das safras 1997 e 1998, provenientes de três regiões da Slovenia (Sava, Drava e Coastal), que encontraram valores médios entre  $-6,05 \pm 1,26 \text{ ‰}$  a  $1,35 \pm 1,51 \text{ ‰}$ , exceto para as sub-regiões de Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos, onde os valores médios obtidos na safra de 2006, permaneceram dentro desse intervalo ( $-0,30 \pm 0,41 \text{ ‰}$  e  $0,69 \pm 0,59 \text{ ‰}$ , respectivamente).

Na safra de 2006, observa-se que a análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol, não conseguiu diferenciar nenhuma sub-região de cultivo. No entanto, a análise de  $\delta^{18}\text{O}$  da água apresentou diferença estatística para todas as sub-regiões de cultivo estudadas (Figuras 6 e 7), demonstrando novamente que a análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol foi menos seletiva na discriminação de sub-regiões de cultivo do que a análise de  $\delta^{18}\text{O}$ .



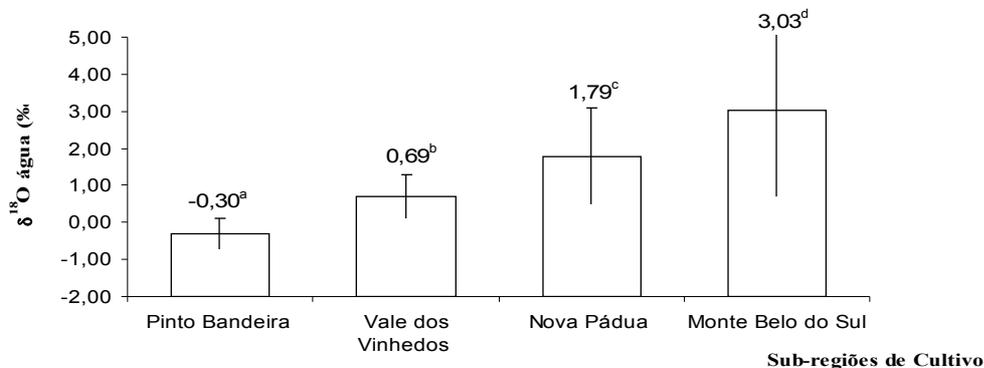
**Figura 6-** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol dos vinhos obtidos para as diferentes sub-regiões de cultivo da safra 2006.

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0,05$  pela ANOVA seguida do teste de Tukey, ordem alfabética com valores crescentes.

-se que,

diferentemente da safra de 2005, os maiores valores médios foram encontrados nas sub-regiões de Monte Belo do Sul e Nova Pádua ( $3,03 \pm 2,33 \text{ ‰}$  e  $1,79 \pm 1,29 \text{ ‰}$ ,

respectivamente). Em contrapartida, corroborando o resultado obtido na safra de 2005, a sub-região de Pinto Bandeira também apresentou o menor valor médio de  $-0,30 \pm 0,41$  ‰.



**Figura 7-** Valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos obtidos para as diferentes sub-regiões de cultivo da safra 2006.

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0,05$  pela ANOVA seguida do teste de Tukey, ordem alfabética com valores crescentes.

Rossmann *et al.* (1996), encontraram diferentes valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , mas não conseguiram correlacionar alguns países ou regiões estudadas. Os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol obtidos neste trabalho com variação de  $-27,25$  a  $-28,18$  ‰ (safra 2005) e de  $-28,56$  a  $-29,12$  ‰ (safra 2006), permaneceram dentro do intervalo encontrado em diversos países da Europa, como por exemplo, na Itália onde os maiores valores encontrados foram de  $-23$  ‰ e os menores  $-29$  ‰, na França (variação de  $-24$  a  $-29$  ‰) e na Alemanha entre  $-23$  a  $-30$  ‰. Porém, o conteúdo de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol do vinho foi estudado e avaliado por outros autores, como valiosa fonte de informação sobre a denominação de origem regional em amostras de vinhos provenientes principalmente da França e da Itália (Martin *et al.*, 1983; Monetti *et al.*, 1995). A discriminação isotópica dos diferentes elementos químicos presentes na natureza dá-se em função dos fenômenos naturais sobre a intensidade dos processos que fracionam os isótopos, como a fotossíntese e a evaporação da água, e sofre influência do solo,

peculiaridades climáticas, latitude e técnicas agrícolas (Brause *et al.*, 1984; Versini *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1999; Morasch *et al.*, 2001).

### **Influência da variedade nas razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon, nas safras de 2005 e 2006**

Em relação aos vinhos das variedades de uvas Merlot e Cabernet Sauvignon, a Tabela 7 apresenta os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol,  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol de todas as amostras da safra de 2005, juntamente com seus desvios padrões. Pode-se observar que as amostras de vinhos apresentaram diferenças significativas para os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol entre as variedades estudadas.

**Tabela 7-** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol e  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água e do etanol dos vinhos das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon, safra 2005.

Vinho	$\delta^{13}\text{C}$ etanol (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ etanol (‰)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<b>Merlot n=16</b>	-27,37 <sub>b</sub>	0,53	4,13 <sub>a</sub>	2,05	31,13 <sub>b</sub>	0,60
<b>Cabernet Sauvignon n=27</b>	-27,72 <sub>a</sub>	0,84	4,60 <sub>a</sub>	0,65	30,60 <sub>a</sub>	1,84

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pelo Teste t, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

Em relação aos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, observa-se na Tabela 7 que não há diferença significativa para as duas variedades estudadas (diferença média de 0,47 ‰). Quanto aos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol, as amostras de vinhos apresentaram diferenças significativas para todas as variáveis estudadas (variedade, local de cultivo, altitude e relação da interação entre a variedade e o local de cultivo).

Mesmo que os vinhos das duas variedades tenham apresentado valores semelhantes na safra de 2005 ( $-27,37 \pm 0,53$  ‰, para Merlot e  $-27,72 \pm 0,84$  ‰, para Cabernet

Sauvignon), a diferença é significativa devido ao baixo desvio padrão. Pode ser explicado pela influência da variabilidade genética em algumas reações bioquímicas que ocorrem nas plantas e provocam diferentes fracionamentos dos isótopos de carbono durante a fixação do CO<sub>2</sub> ou estar relacionado com a possível variação dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  em diferentes regiões devido a variedade da uva (Rossmann *et al.*, 1996). Entretanto, variações não significativas foram observadas para os parâmetros isotópicos do etanol (D/H e  $\delta^{13}\text{C}$ ) de diferentes vinhos provenientes da Slovenia, de diferentes variedades porém da mesma região (Kosir *et al.*, 2001).

Os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol obtidos para as variedades estudadas, na safra de 2005 (Tabela 7), estão de acordo com os valores encontrados por Rossmann *et al.* (1996), no estudo com diferentes variedades de uvas, provenientes das safras de 1991 a 1993 de vinhos da Alemanha, onde os valores oscilaram entre  $-25,57 \pm 1,70 \text{ ‰}$  a  $-28,16 \pm 0,90 \text{ ‰}$ , no entanto foram superiores aos valores obtidos na safra de 2006 (variação  $-28,73 \pm 0,60 \text{ ‰}$  a  $-29,15 \pm 0,70 \text{ ‰}$ ) (Tabela 8). Na safra de 2005, os valores também correspondem aos obtidos por Kosir *et al.* (2001), em vinhos de diferentes variedades de uvas de três regiões da Slovenia onde os valores variaram de  $-26,4 \text{ ‰}$  a  $-28,6 \text{ ‰}$ . Estes vinhos naturais das regiões de Sava e Drava (que apresentam clima frio e seco), diferem dos obtidos na região de Coastal (clima quente e úmido), os quais apresentaram valores que variaram de  $-24,7 \text{ ‰}$  a  $-26,9 \text{ ‰}$ . Os valores encontrados para a variedade Merlot nessas regiões, de  $-25,2 \text{ ‰}$  e  $-26,5 \text{ ‰}$ , e para Cabernet Sauvignon de  $-24,8 \text{ ‰}$  e  $-26,6 \text{ ‰}$ , foram superiores aos encontrados nos vinhos estudados da safra de 2005 (valores de  $-27,37 \text{ ‰}$  e  $-27,72 \text{ ‰}$ , respectivamente) e 2006 ( $-29,15 \text{ ‰}$  e  $-28,73 \text{ ‰}$ , respectivamente), para as duas variedades.

Os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol e  $\delta^{18}\text{O}$  da água de todas as amostras da safra de 2006, estão representados na Tabela 8, juntamente com seus desvios padrões, onde as

amostras de vinhos apresentaram diferenças significativas tanto para os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol quanto para os de  $\delta^{18}\text{O}$  da água entre as variedades estudadas.

**Tabela 8-** Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol e  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon, safra 2006.

Vinho	$\delta^{13}\text{C}$ etanol (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<b>Merlot n=15</b>	-29,15 <sub>b</sub>	0,70	0,44 <sub>a</sub>	0,58
<b>Cabernet Sauvignon n=24</b>	-28,73 <sub>a</sub>	0,60	0,99 <sub>b</sub>	1,62

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pelo Teste t, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

Rossmann *et al.* (1996) constataram valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  mais elevados para a variedade Merlot, que apresentou o maior índice de todas variedades estudadas (aproximadamente -26,75 ‰), os vinhos da variedade Merlot da Serra Gaúcha apresentaram valores médios inferiores (-27,37 ‰, safra 2005 e -29,15 ‰, safra 2006). Esses autores justificam que as condições de maturação da uva estão relacionadas ao solo, clima e safra os quais influenciam no  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol do vinho. Além disso, ao analisarem amostras da variedade Chardonnay de diferentes regiões de Trentino (Itália), e Yonne (França), os quais apresentaram distinções significativas, sendo respectivamente -26,73 ‰ e -28,62 ‰ (safra 1988); -27,85 ‰ e -26,50 ‰ (1989) e -26,87 ‰ e -27,35 ‰ (1990) observa-se que são valores próximos aos encontrados neste trabalho durante a safra de 2005 (-27,37 ‰ e -27,72 ‰) porém superiores aos obtidos na safra de 2006 (-28,73 ‰ e -29,15 ‰).

### **Influência da variedade e da safra nos valores das razões isotópicas $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol dos vinhos em diferentes sub-regiões de cultivo**

Os resultados médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol e os desvios padrões obtidos nos vinhos da safra de 2005 para as duas variedades estudadas nas diferentes sub-regiões de cultivo, levando-se em consideração a influência da altitude nos valores médios obtidos, estão representados na Tabela 9. Pode-se observar que ambos parâmetros apresentam o mesmo comportamento em relação aos resultados obtidos na análise estatística para as variedades estudadas.

**Tabela 9-** Valores de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água e do etanol do vinho das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon nas diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2005.

Sub-região/Vinho	Merlot					Cabernet Sauvignon				
	$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ etanol (‰)			$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ etanol (‰)		
	n	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	n	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<b>Pinto Bandeira</b>	7	4,00 <sub>a</sub>	0,12	30,75 <sub>a</sub>	0,16	9	2,95 <sub>a</sub>	0,29	29,26 <sub>a</sub>	0,31
<b>Vale dos Vinhedos</b>	5	5,28 <sub>c</sub>	0,14	31,66 <sub>c</sub>	0,19	6	3,96 <sub>ab</sub>	0,41	30,80 <sub>ab</sub>	0,45
<b>Nova Pádua</b>	3	4,33 <sub>ab</sub>	0,16	30,46 <sub>ab</sub>	0,22	9	4,80 <sub>b</sub>	0,27	31,24 <sub>b</sub>	0,29

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pela análise de covariância com ajuste de Bonferroni, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

A variedade Merlot na safra de 2005 apresentou diferenças significativas para os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água entre as sub-regiões de Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos (diferença média de 1,28 ‰), e entre Nova Pádua e Vale dos Vinhedos (diferença média de 0,95 ‰) (Tabela 9). Porém, as sub-regiões de Pinto Bandeira e Nova Pádua apresentaram valores médios bem próximos de  $4,00 \pm 0,12$  ‰ e  $4,33 \pm 0,16$  ‰, respectivamente, indicando que não há diferenças entre essas duas sub-regiões. No entanto, os vinhos Cabernet Sauvignon evidenciaram diferenças entre as sub-regiões de Pinto Bandeira e Nova Pádua (valores médios de  $2,95 \pm 0,29$  ‰ e  $4,80 \pm 0,27$  ‰, respectivamente). O valor médio mais elevado de  $\delta^{18}\text{O}$  da água desta safra foi observado nos vinhos da variedade Merlot do Vale dos Vinhedos ( $5,28 \pm 0,14$  ‰).

Os valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água encontrados neste estudo, na safra de 2005, para ambas variedades, foram superiores aos encontrados por Gremaud *et al.* (2004), que estudaram vinhos brancos e tintos as safras suíças de 2000 e 2001, cujos valores médios variaram de  $-3,74 \pm 0,6 \text{ ‰}$  a  $3,16 \pm 1,20 \text{ ‰}$ , somente os vinhos Cabernet Sauvignon da região de Pinto Bandeira, apresentaram valor médio mais baixo de  $2,95 \pm 0,29 \text{ ‰}$ . Porém, os valores médios encontrados no presente trabalho na safra de 2006, tanto para Merlot quanto para Cabernet Sauvignon, encontram-se dentro do intervalo encontrado nos vinhos suíços, durante a safra de 2000, que variou de  $-1,75 \pm 0,33 \text{ ‰}$  a  $3,16 \pm 1,20 \text{ ‰}$ . Isto pode ser justificado em função da mudança dos conteúdos isotópicos da água das uvas que dependem das condições climáticas durante o período de maturação das uvas (Martin *et al.*, 1999).

De forma análoga aos resultados obtidos para os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, observa-se na Tabela 9, que os vinhos da variedade Merlot na safra de 2005 apresentaram diferenças significativas para os valores  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol, entre Pinto Bandeira e Vale dos Vinhedos (diferença média de  $0,91 \text{ ‰}$ ), e entre Nova Pádua e Vale dos Vinhedos (diferença média de  $1,20 \text{ ‰}$ ). Esta diferença não foi observada entre as sub-regiões de Nova Pádua e Pinto Bandeira (valores médios de  $30,46 \pm 0,22 \text{ ‰}$  e  $30,75 \pm 0,16 \text{ ‰}$ , respectivamente). Diferentemente da variedade Merlot, os vinhos da variedade Cabernet Sauvignon apresentaram diferenças significativas somente entre as sub-regiões de Pinto Bandeira e Nova Pádua (diferença média de  $1,98 \text{ ‰}$ ). À semelhança do  $\delta^{18}\text{O}$  da água, o maior enriquecimento isotópico foi observado para os vinhos Merlot, da sub-região do Vale dos Vinhedos, que apresentaram valor médio de  $31,66 \pm 0,19 \text{ ‰}$ , do mesmo modo que para a variedade Cabernet Sauvignon, cujo valor médio encontrado não diferiu significativamente da sub-região de Nova Pádua.

Segundo Mandelli (2005), a safra de 2005 caracterizou-se pela forte estiagem que iniciou em meados de novembro e estendeu-se durante todo o período de maturação,

causando quebra de safra, especialmente nos vinhedos localizados em solos de pouca profundidade. Nestes locais, devido ao estresse hídrico, as videiras perderam as folhas, as bagas murcharam, sendo tal processo acelerado pela ação da radiação solar direta no solo, obrigando a uma colheita antecipada. Nos vinhedos localizados em solos mais profundos, as videiras resistiram melhor à estiagem e beneficiaram-se dela, sendo que a absorção de água pelas videiras com um nível de restrição maior que o normal produziu frutos mais concentrados em açúcares e em substâncias orgânicas e minerais.

Os resultados médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e os desvios padrões obtidos nos vinhos da safra de 2006 para as duas variedades estudadas nas diferentes sub-regiões de cultivo, considerando a influência da altitude nos valores médios obtidos, estão representados na Tabela 10.

**Tabela 10-** Valores de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon nas diferentes sub-regiões de cultivo, safra 2006.

Sub-região/Vinho	$\delta^{18}\text{O}$ água (‰)					
	Merlot			Cabernet Sauvignon		
	n	Média	Desvio Padrão	n	Média	Desvio Padrão
<b>Pinto Bandeira</b>	6	0,24 <sub>a</sub>	0,11	8	-0,36 <sub>a</sub>	0,14
<b>Vale dos Vinhedos</b>	4	0,09 <sub>ab</sub>	0,21	9	0,36 <sub>b</sub>	0,14
<b>Nova Pádua</b>	4	0,81 <sub>b</sub>	0,15	6	2,81 <sub>c</sub>	0,13

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pela análise de covariância com ajuste de Bonferroni, ordem alfabética com valores crescentes nas colunas.

Considerando-se influência da altitude nos valores médios obtidos, observa-se na Tabela 10 que os vinhos Merlot, safra 2006, apresentaram diferenças significativas somente entre Pinto Bandeira e Nova Pádua (diferença média de 0,57 ‰), analogamente às diferenças estatísticas encontradas para a variedade Cabernet Sauvignon na safra de 2005. O maior enriquecimento isotópico nesta variedade, para esta safra, foi observado na sub-região de Nova Pádua (valor médio de  $0,81 \pm 0,15$  ‰), porém esta sub-região não diferiu

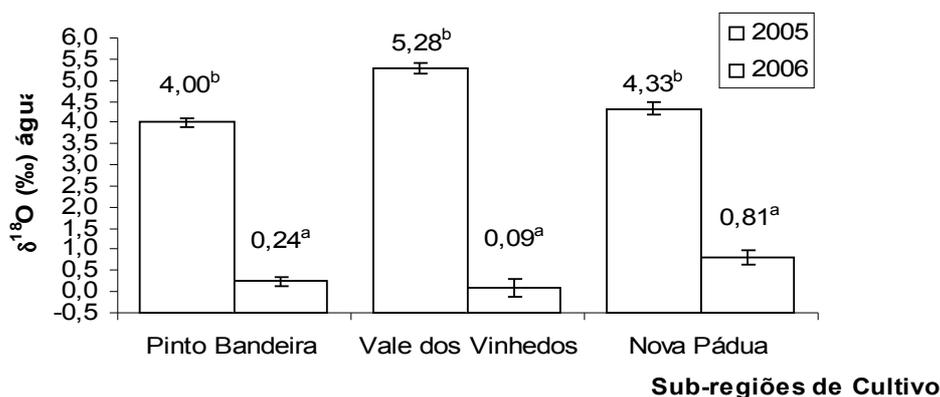
significativamente da sub-região do Vale dos Vinhedos, que apresentou valor médio de  $0,09 \pm 0,21$  ‰. Ao contrário da variedade Merlot, os vinhos da variedade Cabernet Sauvignon apresentaram diferenças significativas entre todas as sub-regiões estudadas e o valor médio mais elevado de todas as sub-regiões estudadas foi observado para esta variedade na sub-região de Nova Pádua ( $2,81 \pm 0,13$  ‰).

Segundo Mandelli (2006), a safra de 2006 se caracterizou pelo menor volume de precipitação pluviométrica, quando comparado a normal climatológica, que ocorreu desde o final de novembro até a segunda quinzena de março, contribuindo para a quebra de safra. Porém o volume de precipitação pluviométrica foi maior do que na safra de 2005. Nesta safra, a colheita iniciou-se em meados de janeiro e se estendeu até o início de abril.

Os valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água encontrados para a variedade Merlot por Gremaud *et al.* (2004), durante as safras de 2000 e 2001, na região de Tessin, foram de  $1,83 \pm 1,53$  ‰ e  $0,20 \pm 1,25$  ‰, respectivamente. Esta região, localizada próximo ao mar ao sul dos Alpes Suíços, caracteriza-se por apresentar clima quente e úmido. Esses valores são bem inferiores aos encontrados neste trabalho durante a safra de 2005 (variação de  $4,00 \pm 0,12$  ‰ a  $5,28 \pm 0,14$  ‰), porém próximos aos encontrados na safra de 2006 (variação de  $0,09 \pm 0,21$  ‰ a  $0,81 \pm 0,15$  ‰), para a mesma variedade. Isto pode ser justificado, em parte, pelo maior volume de precipitação pluviométrica da safra de 2006.

Em relação aos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água encontrados nas safras de 2005 e 2006 para os vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon separadamente, observa-se que na safra de 2006 detectou-se teores bem inferiores aos encontrados na safra de 2005 (Figuras 8 e 9). Essa diferença entre as safras confirma-se nos resultados obtidos nas diferentes sub-regiões de cultivo, independente da variedade de uva utilizada (Figura 10). Isto pode ser justificado devido o índice de precipitação pluviométrica da safra de 2006 ter sido quase o dobro do obtido na safra de 2005 (Tabela 11). Rossmann *et al.* (1996), justificam que as diferenças

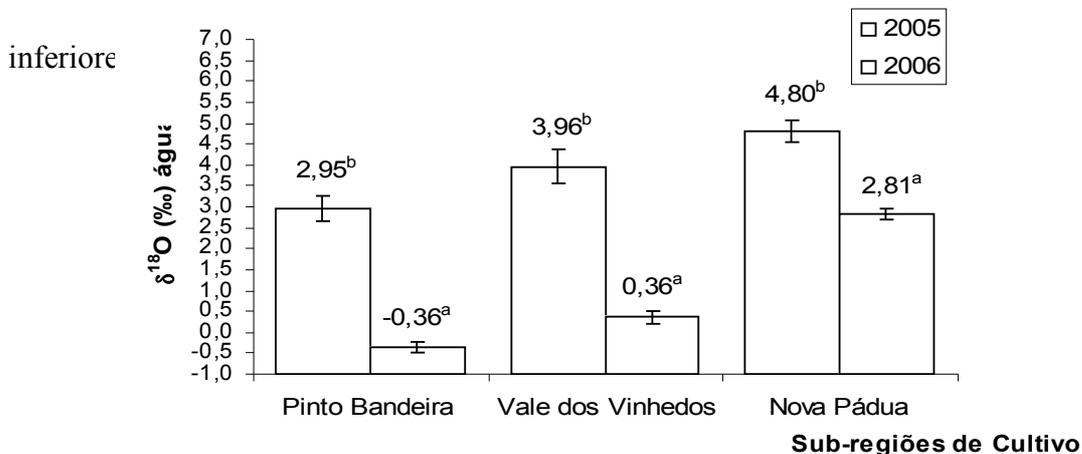
anuais podem estar relacionadas com a estabilidade climática da região, sendo que estas estão ligadas com as necessidades ecológicas da videira (nutrientes, solo, entre outras) e que as variações anuais são muito mais pronunciadas em regiões com alta variabilidade de clima, o que pode ocorrer em safras distintas ou na mesma safra de produção.



**Figura 8-** Valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos Merlot de diferentes sub-regiões de cultivo nas safras 2005 e 2006.

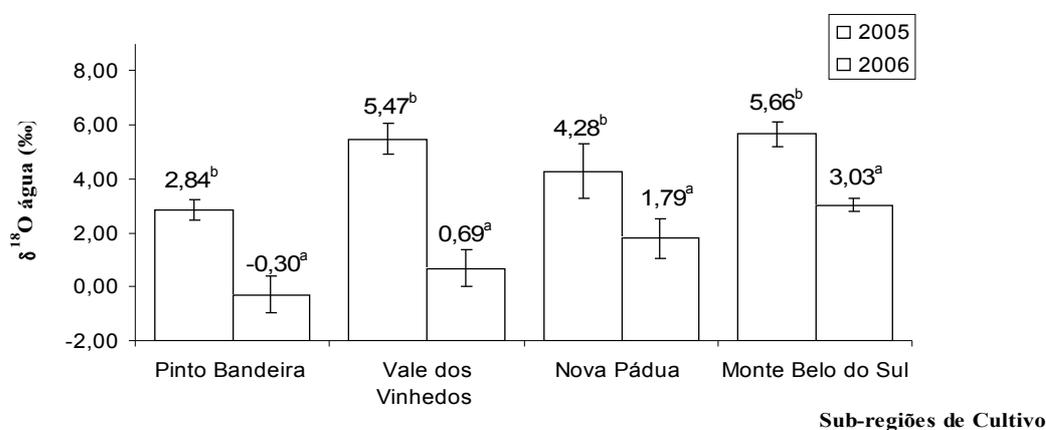
Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0,05$  pelo Teste t, ordem alfabética com valores crescentes.

Valores muito baixos de  $\delta^{18}\text{O}$  da água dos vinhos podem indicar a adição de água com valores negativos típicos de águas superficiais, porém em vinhos genuínos, são o resultado de condições climáticas de regiões frias e úmidas durante o período de colheita das uvas e do alto índice de precipitação pluviométrica (Rossmann *et al.*, 1999). Isto pode justificar em parte, por que os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da safra de 2006, foram bem



**Figura 9-** Valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos Cabernet Sauvignon de diferentes sub-regiões de cultivo nas safras 2005 e 2006.

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0,05$  pelo Teste t, ordem alfabética com valores crescentes.



**Figura 10-** Valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água independente da variedade de uva utilizada nas diferentes sub-regiões de cultivo das safras 2005 e 2006.

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0,05$  pelo Teste t, ordem alfabética com valores crescentes.

Para as regiões de Sava e Drava caracterizadas por apresentar clima quente e seco, Ogrinc *et al.* (2001) compararam os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água na safra de 1997 com a safra de 1998. Valores mais positivos de  $\delta^{18}\text{O}$  da água foram observados em 1997 (-3,91 a 0,84 ‰ vs. -8,24 a -4,33 ‰), devido às diferenças no período de insolação (> 10,2 %), e precipitação pluviométrica (< 47,0 %). Para a região de Coastal, com clima mais quente (17,5 °C) e úmido, enquanto em 1997 os valores permaneceram entre -0,41 a 4,31 ‰ (744,5 mm), em 1998 a variação foi de -5,10 a -0,26 ‰ (1484,0 mm). Apesar desses valores serem inferiores aos encontrados nos vinhos estudados neste trabalho durante a safra de 2005

(variação de 2,95 a 5,28 ‰), os vinhos da safra de 2006 (variação de -0,36 a 2,81 ‰) permaneceram dentro do intervalo encontrado na região de Coastal durante a safra de 1997, exceto para a variedade Cabernet Sauvignon da sub-região de Pinto Bandeira (-0,36 ± 0,14 ‰), confirmando a hipótese de que a menor precipitação leva a um enriquecimento no conteúdo de  $\delta^{18}\text{O}$  da água dos vinhos.

As diferenças nas condições climáticas de Bento Gonçalves e Caxias do Sul durante nas safras de 2005 e 2006, conforme dados do 8º Distrito Nacional de Meteorologia, estão expressas na Tabela 11.

**Tabela 11-** Número de horas de insolação, temperatura média do ar e intensidade de chuvas no período de maturação e colheita (dezembro a março) das regiões de Bento Gonçalves e Caxias do Sul, nas safras de 2005 e 2006.

Ano	2005		2006	
	Bento Gonçalves	Caxias do Sul	Bento Gonçalves	Caxias do Sul
<b>Temperatura média do ar (°C)</b>	21,83	20,85	21,35	20,48
<b>Precipitação total (mm)</b>	285,00	279,10	401,50	553,80
<b>Insolação total (h)</b>	988,40	951,80	916,90	895,30

Como pode-se observar na Tabela 11, os dados climatológicos das duas safras de produção estudadas são próximos, porém a grande diferença foi observada durante a safra de 2006, onde o índice de chuvas apresentou-se quase o dobro do encontrado na safra de 2005, em ambas sub-regiões. Os dados da literatura apresentam evidências que o período da colheita é um fator importante para a variação dos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  (Dunbar, 1982; Versini *et al.*, 1997; Rossmann *et al.*, 1999). Uma peculiar fonte de variação de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, é a quantidade de chuva durante o amadurecimento da uva, provocando conseqüentemente um efeito de diluição na fruta (Dunbar, 1982).

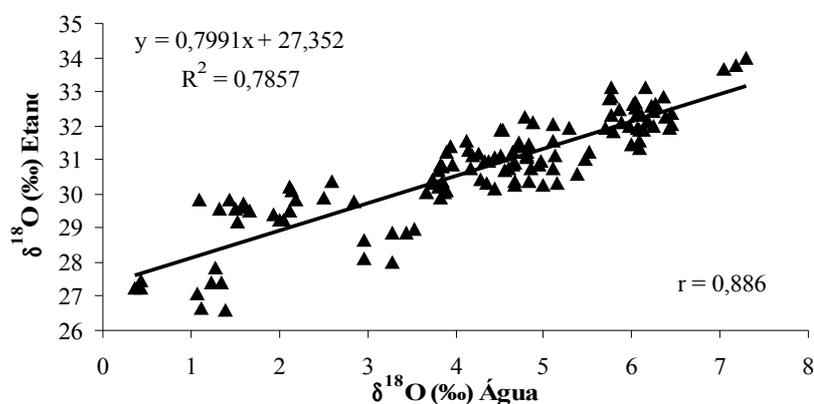
Martin *et al.* (1999), constataram que as concentrações dos isótopos  $^{18}\text{O}$  e  $^2\text{H}$  da água dos vinhos, provenientes de Sauternes e Médoc (Bordeaux, França), foram maiores na

safra de 1990 (valores de  $\delta^{18}\text{O}$  entre 5,0 e 6,0 ‰), a qual apresentou clima quente e seco (temperatura média de 19,5 °C, precipitação média de 64,4 mm e insolação média de 257,9 h, durante o período de colheita). Estes valores permaneceram um pouco acima dos encontrados neste estudo, exceto para a variedade Merlot da sub-região do Vale dos Vinhedos (valor médio de 5,28 ‰), durante a safra de 2005, a qual também apresentou clima quente e seco (temperatura média de 21,3 °C, precipitação média de 70,5 mm e insolação média de 242,5 h, durante o período de colheita). Entretanto aqueles valores ficaram bem acima dos obtidos na safra de 2006 (variação de  $\delta^{18}\text{O}$  entre -0,36 a 2,81 ‰), que apresentou clima quente e úmido (temperatura média de 20,8 °C, precipitação média de 119,4 mm e insolação média de 226,5 h, durante o período de colheita). Porém o índice médio de precipitação pluviométrica de ambas safras na região de Bento Gonçalves por exemplo, permaneceu abaixo da normal climatológica (1961/1990) que encontra-se ao redor de 150,0 mm para esta região (Mandelli, 2005; Mandelli, 2006). O enriquecimento no conteúdo de  $^{18}\text{O}$  em regiões quentes é esperado, devido ao efeito da temperatura e quantidade de precipitação (Bréas *et al.*, 1994; Rossmann *et al.*, 1999).

Nossos dados corroboram com os obtidos por Martin *et al.* (1999), para a região de Bordeaux, onde constataram que as análises dos isótopos estáveis  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol,  $\delta^{18}\text{O}$  e  $\delta^2\text{H}$  da água dos vinhos são mais eficientes na distinção entre amostras de diferentes safras de produção do que para caracterizar diferentes sub-regiões, e justificam que influências climáticas são mais marcantes na distinção entre safras de produção do que regiões de cultivo.

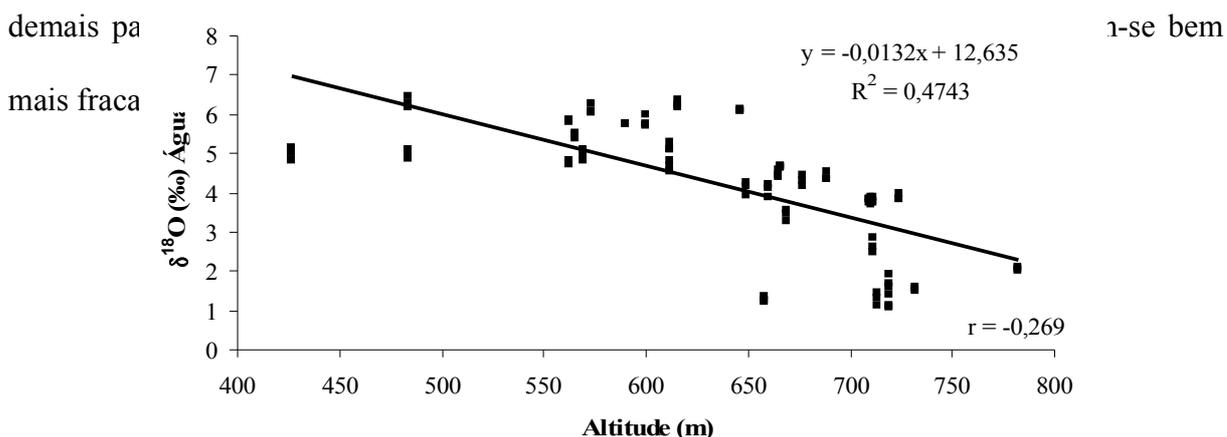
## Correlação entre as razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do etanol, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da água e do etanol e as características geográficas

Comprovando alguns resultados obtidos e discutidos no capítulo 4.1, a análise de correlação entre os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol e da água mostra que há uma forte correlação entre esses dois parâmetros ( $r = 0,886$ ), onde 78,57 % das variáveis estão associadas (Figura 11).

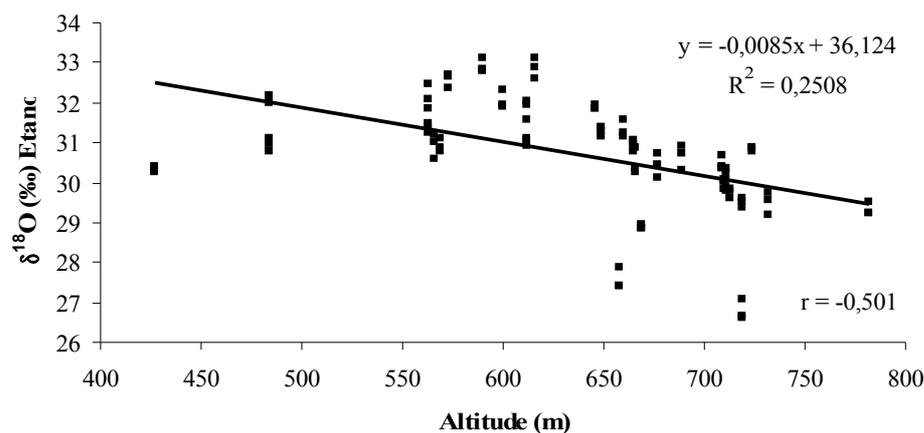


**Figura 11-** Correlação entre os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2005.

A análise de correlação entre a altitude e os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol (Figuras 12 e 13) demonstram que há uma fraca correlação negativa de -0,269 entre a altitude e  $\delta^{18}\text{O}$  da água, e de -0,501 entre a altitude e  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol. Porém, apesar da correlação ter sido maior em relação aos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  do etanol, observa-se que a associação das variáveis foi maior para os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água ( $R^2 = 0,4743$ ) em relação à altitude. Para os



**Figura 12-** Correlação entre os valores de altitude e  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2005.



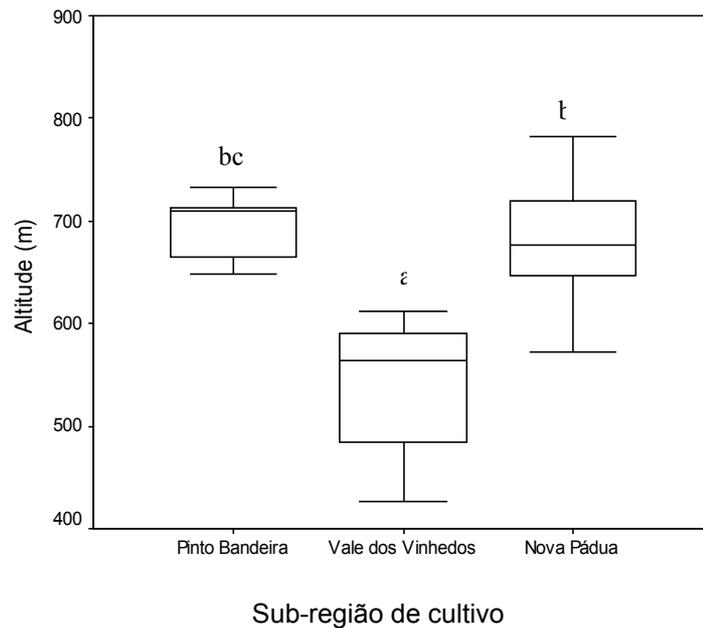
**Figura 13-** Correlação entre os valores de altitude e  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2005.

A altitude também pode afetar o valor das razões isotópicas, sendo que regiões montanhosas apresentam concentrações menores de isótopos mais pesados quando comparadas às planícies (Gremaud *et al.*, 2004). As Figuras 12 e 13 corroboram os dados da literatura onde observa-se que apesar de não haver uma forte correlação entre os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  e altitude, os menores valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol são encontrados em sub-regiões mais elevadas. Isto pode ser porque a sub-região de Pinto Bandeira, que apresentou o maior valor médio em relação à altitude ( $695 \pm 28$  m), também apresentou os menores valores em relação aos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol de  $2,84 \pm 1,36\text{‰}$  e  $29,63 \pm 1,45\text{‰}$ , respectivamente (safra 2005), e de  $-0,30 \pm 0,41 \text{‰}$  para a análise de  $\delta^{18}\text{O}$  da água (safra 2006), independente da variedade de uva utilizada, diferenciando-se estatisticamente das demais sub-regiões de cultivo, inclusive da sub-região de Nova Pádua com altitude semelhante à sub-

região de Pinto Bandeira. Isto pode estar relacionado com a grande variabilidade de altitudes encontrada na mesma sub-região.

Na análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol, qualquer que seja a variedade de uva utilizada, os menores valores médios foram encontrados na sub-região de Nova Pádua ( $-28,18 \pm 1,00 \text{ ‰}$ ), porém esta sub-região diferiu-se da sub-região de Pinto Bandeira. Analogamente, na safra de 2006, apesar do menor valor médio também ter sido para a sub-região de Nova Pádua ( $-29,12 \pm 0,72 \text{ ‰}$ ), esta sub-região não diferenciou-se das demais sub-regiões estudadas. Os resultados corroboram os encontrados na literatura, para a região italiana de Trentino-Alto Adige, onde as variedades de uvas brancas apresentaram conteúdos menores de  $^{13}\text{C}$  quando comparados com os obtidos para vinhos tintos da mesma região. Neste caso, o efeito da altitude está relacionado ao fato de que as variedades de uvas tintas estão localizadas em regiões planas, enquanto que as variedades brancas estão localizadas nas colinas, em regiões mais montanhosas (Rossmann *et al.*, 1996).

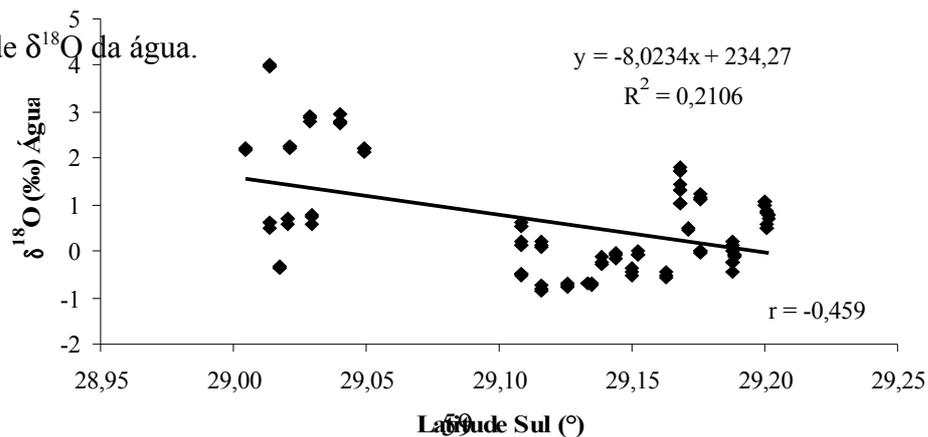
As uvas das sub-regiões de Pinto Bandeira, Vale dos Vinhedos e Nova Pádua são cultivadas em altitudes médias de 695, 548 e 677 m, respectivamente. Os resultados corroboram os dados da literatura, a qual informa que o cultivo da videira na Serra Gaúcha, se faz em altitudes que variam de 400 a 800 m (Azevedo *et al.*, 2004). Porém, observa-se que a sub-região do Vale dos Vinhedos apresentou o menor valor médio ( $548 \pm 56 \text{ m}$ ), distinguindo-se significativamente das demais sub-regiões. Apesar de Nova Pádua apresentar a maior variabilidade de altitude nas amostragens (209 m), esta sub-região não difere da sub-região de Pinto Bandeira, que apresentou o maior valor médio ( $695 \pm 28 \text{ m}$ ), e menor variabilidade (83 m). Estas observações são facilmente visualizadas na Figura 14, que apresenta o “box plot” dos resultados amostrais, exceto para a sub-região de Monte Belo do Sul, que em função do pequeno número de locais de cultivo coletados, não foi inserida no cálculo estatístico.



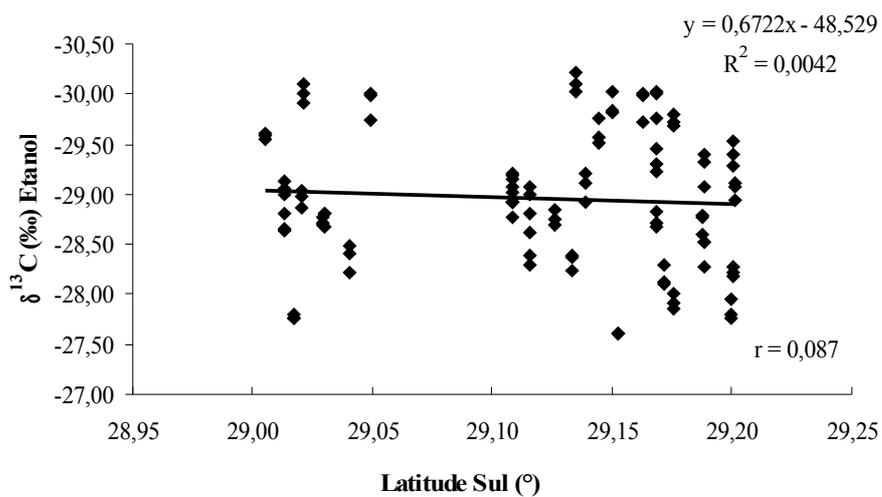
**Figura 14-** variação das altitudes nas diferentes sub-regiões de cultivo.

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0.05$  pela ANOVA seguida do teste de Tukey, ordem alfabética com valores crescentes.

A correlação dos valores de  $\delta^2\text{H}$  em relação à latitude, em vinhos de diferentes variedades da Itália, é aproximadamente linear para todos os anos de produção (1992 a 1994), enquanto que para os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, esta correlação nem sempre é observada (Versini *et al.*, 1997). Os resultados confirmam os encontrados na literatura, pois conforme Figura 15, na safra de 2006, observa-se uma correlação regular de -0,459 entre a latitude e os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água, não sendo observada correlação em relação à análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol ( $r = 0,087$ ) (Figura 16). Percebe-se também que quanto maior a latitude, menores são os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água.



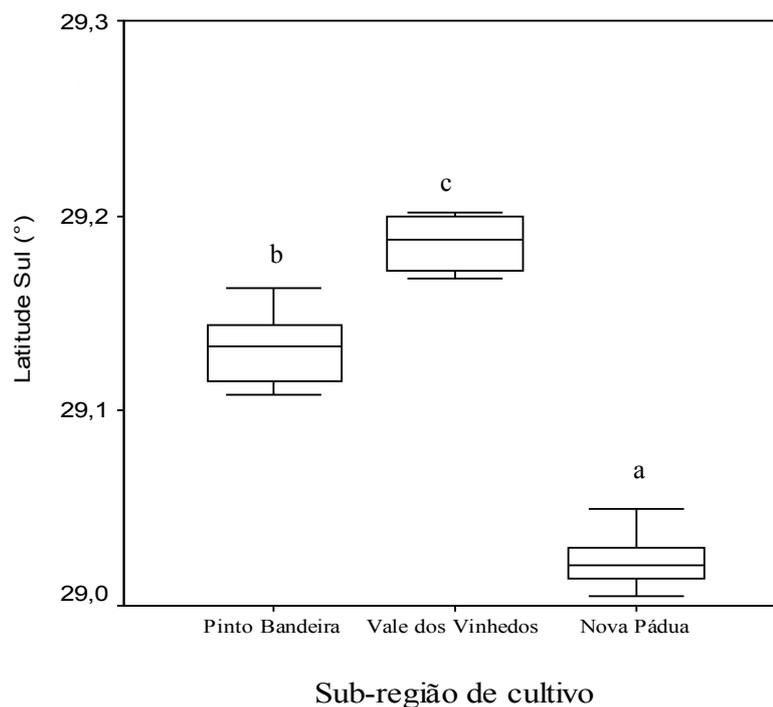
**Figura 15 -** Correlação entre os valores de latitude e  $\delta^{18}\text{O}$  (‰) da água dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2006.



**Figura 16** - Correlação entre os valores de latitude e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do etanol dos vinhos Merlot e Cabernet Sauvignon da safra 2006.

As diferentes sub-regiões de cultivo analisadas neste trabalho, situam-se a 29°

de latitude Sul  
apresentarem  
respectivament  
observações si  
resultados am  
pequeno núme



os Vinhedos  
e 29,18°,  
ativa. Estas  
x plot” dos  
1 função do  
ico.

**Figura 17**- Variação das latitudes nas diferentes sub-regiões de cultivo.

Valores médios com letras iguais não são significativamente diferentes para  $p < 0,05$  pela ANOVA seguida do teste de Tukey, ordem alfabética com valores crescentes.

Apesar das diferentes sub-regiões de cultivo estudadas neste trabalho estarem situadas numa única faixa de latitude (29°), os valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  da água da safra de 2005, para qualquer variedade de uva utilizada (variação de  $2,84 \pm 1,36 \text{ ‰}$  a  $5,66 \pm 1,09 \text{ ‰}$ ), permaneceram entre os valores médios obtidos por Versini *et al.* (1997), os quais observaram valores médios similares que variaram de  $3,34 \pm 1,48 \text{ ‰}$  a  $7,54 \pm 1,55 \text{ ‰}$ , com diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey, em algumas das diferentes sub-regiões do sul da Itália, durante as safras de 1992 a 1994, situadas entre 36° e 41° de latitude Norte. Porém, esses valores encontram-se acima dos valores médios encontrados na safra de 2006 ( $-0,30 \pm 0,41 \text{ ‰}$  a  $3,03 \pm 2,33 \text{ ‰}$ ). Isto pode ser justificado devido às razões isotópicas sofrerem influência da latitude ou por outras características referentes a cada área de crescimento, como por exemplo, às peculiaridades relativas ao solo e clima de cada região de cultivo (Versini *et al.*, 1997).

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- As análises de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol do vinho mostraram-se mais seletivas e eficientes na discriminação das sub-regiões de cultivo do que as análises de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol, embora observa-se que as sub-regiões do Vale dos Vinhedos e de Monte Belo do Sul, não diferenciaram-se através das análises de  $\delta^{18}\text{O}$ , porém foram diferenciadas pela análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol.
- Foi observada uma forte correlação entre os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol, essas análises apresentaram mesma ordem estatística de diferenciação.
- As análises das razões isotópicas  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  do etanol e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  da água e do etanol dos vinhos permitem caracterizar principalmente diferentes safras de produção.
- As influências climáticas são mais marcantes na distinção entre as safras de produção do que sub-regiões de cultivo estudadas. A alta precipitação pluviométrica da safra de 2006 em relação à de 2005, pode justificar os menores valores de razões isotópicas obtidos nesta safra.
- A altitude e a latitude influenciam principalmente nos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol dos vinhos, nas diferentes sub-regiões de cultivo estudadas.
- Para os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  da água e do etanol, as diferenças encontradas dependem da variedade de uva e da safra.
- Na safra de 2006, a análise de  $\delta^{18}\text{O}$  da água apresentou diferença estatística para todas as sub-regiões de cultivo estudadas, independente da variedade de uva utilizada. Em

compensação, a análise de  $\delta^{13}\text{C}$  do etanol, não diferenciou nenhuma sub-região de cultivo.

### **Como perspectivas de continuidade deste trabalho:**

- ✓ Vinificar um número maior de amostras de diferentes variedades em cada sub-região de cultivo, buscando maiores informações sobre a diferenciação da origem geográfica.
- ✓ Vinificar uvas em diferentes condições geográficas (horas de incidência solar e direção, temperatura do ar ao longo do dia, precipitação e distribuição das chuvas na época de maturação e colheita, declividade e profundidade do solo, ventos) para verificar se estes parâmetros realmente interferem nas análises das razões isotópicas.
- ✓ Testar outras regiões ou sub-regiões de cultivo com diferentes condições climáticas, a fim de comprovar a influência do clima durante o período de colheita.
- ✓ Vinificar em diferentes safras de produção, para aprofundar o conhecimento sobre a influência das diferentes safras de produção nas análises isotópicas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Associação de Produtores dos Vinhos dos Altos Montes (Apromontes). (2006). **Disponível (on line)**

<http://www.apromontes.com.br> (09 de novembro).

Associação dos Produtores de Vinhos Finos do Vale dos Vinhedos (Aprovale). (2006).

**Disponível (on line)**

<http://www.valedosvinhedos.com.br> (06 de novembro).

Associação de Produtores de Vinhos de Pinto Bandeira (Asprovinho) (2006). **Disponível (on line)**

<http://www.vinhosdemontanha.com.br> (01 de novembro).

Azevedo, A.; Cabral, C.; Santana, J. M.; Castilho, R.; Barelli, S. (2004). **Larousse do Vinho.**

Larousse do Brasil Participações Ltda. São Paulo, SP. 382p.

Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES). (2006). **Disponível (on line)**

<http://www.bndes.gov.br/>

Brand, W.A. (1996). High Precision Isotope Ratio Monitoring Techniques in Mass Spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**. 31: 225–235.

Brause, A. R.; Raterman, J. M.; Petrus, D.; Doner, L.W. (1984). Fruits and Fruits Products. Verification of Authenticity of Orange Juice. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**. 67 (3): 535-539.

- Breás, O.; Reniero, F.; Serrini, G. (1994). Isotope Ratio Mass Spectrometry: Analysis of Wines from Different European Countries. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**. 8: 967-970.
- Bricout, J. (1982). In: Schmidt, H. -L.; Förstel, H.; Keinziger, K. (Eds.) Stable Isotopes: Proceedings of the 4th International Conference, Julich, March 23-26, 1981 Elsevier: Amsterdam, **The Netherlands**. pp 483-493.
- Cadastro Vinícola do Rio Grande do Sul-2001/2002, Bento Gonçalves, Instituto Brasileiro do Vinho (**CD Rom**).
- Cisneros, B. O. A-; López, M. G.; Richling, E.; Heckel, F.; Schereier, P. (2002). Tequila Authenticity Assesment by Headspace SPME-HRGC-IRMS Analysis of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  Ratios of Ethanol. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 50: 7520–7523.
- Comerlatto, E. (2005). Estudo das Razões Isotópicas do Carbono, Oxigênio e Hidrogênio dos Vinhos das Principais Áreas de Cultivo do Rio Grande do Sul. **Dissertação de mestrado**. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, Brasil.
- Cone Leste Paulista (2002). Economia. **Disponível (on line)** <http://www.citybrazil.com.br/rs/economia.htm> (25 de novembro).
- Culp, R. A.; Noakes, J. E. (1992). Determination of Synthetic Components in Flavors by Deuterium/hydrogen Isotopic Ratios. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 40 (10): 1892-1897.
- Day, M. P.; Zhang, B.; Martin, G. J. (1994). The Use of Trace Element Data to Complement Stable Isotope Methods in the Characterization of Grape Musts. **American Journal Enology and Viticulture**. 45 (1): 79-85.
- Day, M. P.; Zhang, B.; Martin, G. J. (1995). Determination of the Geographical Origin of Wine Using Joint Analysis of Elemental and Isotopic Composition. II – Differentiation of

- the Principal Production Zones in France for the 1990 Vintage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 67: 113 – 123.
- Ducatti, C. (2000a). Isótopos Estáveis do Carbono. Detecção da adulteração do Álcool de Cana de açúcar e do Milho em Vinho, Vinagres e outros Fermentados. Instituto de Biociências. Universidade Estadual de São Paulo. São Paulo, SP. 28p.
- Ducatti, C. (2000b). Isótopos Estáveis Ambientais. **Curso de Pós Graduação**. Instituto de Biociências. Universidade Estadual de São Paulo. São Paulo, SP. 138p.
- Dunbar, J. (1982). Use of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios for studying the origin of  $\text{CO}_2$  in sparkling wines. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemistry**. 311: 578-580.
- Epstein, S., and T. Mayeda. (1953). Variation of  $^{18}\text{O}$  content of waters from natural sources. **Geochim. Cosmochim. Acta**. 4: 213-242.
- Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO). (2004). Essencial documents, statistics, maps and multimedia resources. **Disponível (on line)**  
**http:// www.fao.org** (10 de novembro).
- Gremaud, G.; Quaile, S.; Piantini, U.; Pfammatter, E.; Corvi, C. (2004). Characterization of Swiss Vineyards Using Isotopic Data in Combination with Trace Elements and Classic Parameters. **European Food Research and Technology**. 219: 97-104.
- Gucek, M.; Marsel, J.; Ogrinc, N.; Lojen, S. (1998). Stable Isotopes Determinations in Some Fruit Juices to Detect Added Sugar. **Acta Chimica Slovenica**. 45 (3): 217-228.
- Harris, D.C. (1999). **Análise Química Quantitativa**. LTC Editora, Rio de Janeiro, RJ. 862p.
- Henner, U. ; Mosandl, A.; Hagenauer-Hener, U.; Dietrich, H. (1995). Stable Isotope Ratio Analysis by Headspace - GC -IRMS – a Contribution for the Analysis of Alcoholic Beverages. **Wein-Wissenschaft (Viticulture Science)**. 50 (4): 113-117.
- Hener, U.; Mosandl, A.; Hilkert, A.; Bahrs-Windsberger, J.; Großmann, M.; Sponholz, W. R. (1998). Headspace-GC-IRMS for the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  Analysis of

- Ethanol from Alcoholic Beverages and Distillates. **Viticulture Enology Scienc.** 2:1-11.
- Hör, K.; Ruff, C.; Weckerle, B.; König, T.; Schreier, P. (2001). Flavor Authenticity Studies by  $2\text{H}/1\text{H}$  Ratio Determination Using On-Line Gas Chromatography Pyrolysis Isotope Ratio Mass Spectrometry. **Journal Agricultural and Food Chemistry.** 49: 21-25.
- Instituto Brasileiro do Vinho – IBRAVIN (2006). Laboratório de Referência. **Disponível (on line)**  
<http://www.ibravin.com.br> (21 de dezembro).
- Instituto Nacional de Meteorología – INMET. **Disponível (on line)**  
<http://www.inmet.gov.br> (9 de agosto).
- Jamin, E.; Gonzalez, J.; Reamud, G.; Naulet, N; Martín, G. G. (1997). Detection of Exogenous Sugars or Organic Acids Addition in Pineapple Juices and Concentrates by  $^{13}\text{C}$  IRMS Analysis. **Journal Agricultural and Food Chemistry.** 45: 3961-3967.
- Jamin, E. (2002). Isotopic Analysis of Wine and Wine Vinegar: New State of the Art. XXVII World Congress of Vine and Wine, Bratislava, Eslováquia. **Disponível (on line)**  
<http://www.eurofins.com> (23 de março).
- Kelly, S.; Baxter, M.; Chapman, S. Rhodes, C.; Dennis, J.; Brereton, P. (2002). The application of isotopic and elemental analysis to determine the geographical origin of premium long rice. **European Food Research and Technology.** 214: 72-78.
- Kelly, S.; Heaton, K.; Hoogewerff, J. (2005). Tracing the Geographical Origin of Food: The Application of Multi-element and Multi-isotope Analysis. **Trends in Food Science & Technology.** 16: 555-567.
- Klein, P. D.; Klein, E. R. (1982). Stable Isotopes in Biomedical Research. **Spectra.** 8 (4): 9–12.

- Kosir, I. J.; Kocjancic; Ogrinc, N.; Kidric, J. (2001). Use of SNIF-NMR and IRMS in Combination with Chemometric methods for the Determination of Chaptalisation and Geographical Origin of Wines (the example of Slovenian wines). **Analytica Chimica Acta**. 429: 195-206.
- Licatti, F. (1997). Isótopos Estáveis do Carbono ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) em Plantas dos Ciclos Bioquímicos C3 e C4. **Monografia**. Instituto de Biociência, Universidade Estadual de São Paulo. São Paulo, SP. 70p.
- Mandelli, F. (2005). Comportamento Meteorológico e sua Influência na Vindima de 2005 na Serra Gaúcha. **Comunicado Técnico**. Bento Gonçalves, RS. (58)
- Mandelli, F. (2006). Comportamento Meteorológico e sua Influência na Vindima de 2006 na Serra Gaúcha. **Comunicado Técnico**. Bento Gonçalves, RS. (67)
- Martin, G. J.; Martin, M. L.; Mabon, F.; Michon M. J. (1983). A New Method for the Identification of the Origin of Ethanol in Grain and Fruit Spirits: High-Field Quantitative Deuterium Nuclear Magnetic Resonance at the Natural Abundance Level. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 31: 311-315.
- Martin, M.L.; Martin, G.J. (1991). Deuterium NMR In: Study of Site-specific Natural Isotope Fraction (SNIF-NMR). **Université de Nantes**. França.
- Martin, G. J.; Mazure, M.; Jovitteau, C.; Martin, Y. L.; Aguilé, L.; Allain, P. (1999). Characterization of the Geographic Origin of Bordeaux Wines by a Combined Use of Isotopic and Trace Element Measurements. **American Journal of Enology and Viticulture**. 50: 409 – 417.
- Miele, A.; Miolo, A. (2003). **O Sabor do Vinho**. Editora São Miguel. Caxias do Sul, RS. 133p.

- Ministério da Agricultura e Abastecimento (2001). Metodologia de Análise da Razão Isotópica  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  em Produtos e Subprodutos das Plantas dos Ciclos Fotossintéticos C3 e C4. Instrução Normativa Nº 4 de 05 de fevereiro de 2001. **Disponível (on line)**  
<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/> (02 de outubro)
- Ministério da Agricultura e Abastecimento (2006). Determinação da Razão Isotópica  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  da Água dos Vinhos e Derivados. Instrução Normativa Nº 2 de 02 de fevereiro de 2006. **Disponível (on line)**  
<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/> (02 de outubro)
- Monetti, A.; Versini, G.; Reniero, F. (1995). Classification of Italian Wines on a Regional Scale by Means of a Multi-isotopic Analysis. In: Charalambous G (ed). **Food flavours: generation, analysis and process influence**. Elsevier, Amsterdam. pp 1723-1730.
- Morasch, B.; Richnow, H. H.; Schink, B.; Meckenstock, R. U. (2001). Stable Hydrogen and Carbon Isotope Fractionation During Microbial Toluene Degradation: Mechanistic and Environmental Aspects. **Applied and Environmental Microbiology**. 67 (10): 4842–4849.
- Morrison, R. T.; Boyd, R. N. (1990). **Química Orgânica**. 9ªed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1639p.
- Ogrinc, N.; Kosir, I. J.; Kocjancic, M.; Kidric, J. (2001). Determination of Authenticity, Regional Origin and Vintage of Slovenian Wines Using a Combination of IRMS and SNIF-NMR Analyses. **Journal Agricultural Food Chemistry**. 49: 1432 – 1440.
- Página do vinho (2002). Vinho, trajetória até a Serra Gaúcha. **Disponível (on line)**.  
<http://www.riograndedosul.org/economia/vinho/vinho2.htm> (21 de agosto).
- Pupin, A. M.; Dennis, I. P.; Kelly, S.; Bigwood, T.; Toledo, M. C. F. (1998). Use of Isotopic Analyses to Determine the Authenticity of Brazilian Orange Juice (*Citrus sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 1369-1373.

- Remaud, G; Guillou, C.; Vallet, C.; Martin, G. J. (1992). A Coupled NMR and MS Isotopic Method for the Authentication of Natural Vinegars. **Fresenius J. Anal. Chem.** 342: 457-461.
- Ribéreau-Gayon, P. (2006). Os vinhos da França. **Disponível (on-line)**  
<http://www.ambafrance.org.br/abr/imagesdelafrance/vinhos.htm#2> (22 de novembro)
- Rossmann, A.; Schmidt, H.-L.; Reniero, F.; Versini, G.; Moussa, I.; Merle, M. H. (1996). Stable Carbon Isotope Content in Ethanol of EC Data-Bank Wines from Italy, France and Germany. **Z Lebensm Unters Forsch.** 203: 293 – 301.
- Rossmann, A.; Reniero, F.; Moussa, I.; Schimidt, H.-L.; Versini, V.; Merle, M. H. (1999). Stable Oxygen Isotope Content of Water of EU Data-bank Wines from Italy, France and Germany. **Z Lebensm Hunters Forsch A.** 208: 400-407.
- Ruff, C.; Hör, K.; Weckerle, B.; Schreier, P.; König, T. (2000). 2H/1H Ratio Analysis of Flavor Compounds by on-line gas Chromatography-pyrolysis Isotope Ratio Mass Spectrometry (HRGC-PIRMS): Benzaldehyde. **Journal High Resolution Chromatography.** 23: 357-359.
- Ruff, C.; Hör, K.; Weckerle, B.; König, T.; Schreier, P. (2002). Authenticity Assessment of Estragole and Methyl Eugenol by On-Line Gas Chromatography-Isotope Ratio Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 50:1028-1031.
- Russel, J.B. (1982) **Química Geral.** McGraw-Hill, São Paulo, SP. 879p.
- Slater, C.; Preston, T. Weaver, L. T. (2001). Stable Isotopes and the International System Units. **Rapid Communications in Mass Spectrometry.** 15: 1270-1273.
- Tonietto, J.; Mello, L. M. R. (2001). La Quatrième Période Évolutive de la Vitiviniculture Brésilienne: changements dans le marché consommateur du pays. In: 26th world congress & 81st general assembly of the Office International de la Vigne et du Vin, **Congress Proceedings.** Adelaide: Office International de la Vigne et du Vin – OIV. 3: 272-280.

Tonietto, J.; Falcade, I. (2003). Vinhos Regionais: Regulamentação no Brasil. X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia. **Anais** pp 153–157. Bento Gonçalves.

União Brasileira de Vitivinicultura (UVIBRA). (2004). Dados estatísticos da viticultura.

**Disponível (on line)**

<http://www.uvibra.com.br> (12 de fevereiro).

Versini, G.; Monetti, A.; Reniero, F. (1997). Monitoring Authenticity and Regional Origin of Wines by Natural Stable Isotope Ratios Analysis. **Wine Acs Symposium Series**. 661: 113-130.

## **ANEXOS**

**ANEXO A**  
(Datos climatológicos)

**Tabela A1-** Dados de temperatura do ar, precipitação e insolação de estações climatológicas, safra 2005.

<b>Estação climatológica de Bento Gonçalves</b>			
<b>Meses</b>	<b>Temperatura média do ar (°C)</b>	<b>Precipitação total (mm)</b>	<b>Insolação total (h)</b>
<b>dez/04</b>	20,5	53,6	249,9
<b>jan/05</b>	23,1	51,9	281,2
<b>fev/05</b>	22,2	54,2	221,7
<b>mar/05</b>	21,5	125,3	235,6
<b>Estação climatológica de Caxias do Sul</b>			
<b>dez/04</b>	19,6	51,9	230,3
<b>jan/05</b>	22,3	45,5	280,4
<b>fev/05</b>	21,0	81,0	214,6
<b>mar/05</b>	20,5	100,7	226,5

**Tabela A2-** Dados de temperatura do ar, precipitação e insolação de estações climatológicas, safra 2006.

<b>Estação climatológica de Bento Gonçalves</b>			
<b>Meses</b>	<b>Temperatura média do ar (°C)</b>	<b>Precipitação total (mm)</b>	<b>Insolação total (h)</b>
<b>dez/05</b>	20,0	68,8	278,2
<b>jan/06</b>	22,8	112,6	221,3
<b>fev/06</b>	21,4	72,1	212,0
<b>mar/06</b>	21,2	148,0	205,4
<b>Estação climatológica de Caxias do Sul</b>			
<b>dez/05</b>	19,2	55,9	273,1
<b>jan/06</b>	21,9	144,1	214,6
<b>fev/06</b>	20,6	179,4	211,0
<b>mar/06</b>	20,2	174,4	196,6

**ANEXO B**  
(Resultados das análises básicas)

**Tabela B1-** Análises básicas dos vinhos Merlot - safra 2005.

Variedade/Localidade	°GL	Açúcares redutores g L <sup>-1</sup>	Acidez volátil g L <sup>-1</sup>	Acidez total g L <sup>-1</sup>	pH
Amostra 1	13,71	3,41	0,29	4,85	3,88
Amostra 2	12,36	2,94	0,34	4,93	3,78
Amostra 3	12,34	3,36	0,24	5,41	3,63
Amostra 4	13,26	3,26	0,34	4,69	3,90
Amostra 5	13,52	3,16	0,34	4,96	3,81
Amostra 6	13,56	3,76	0,40	5,09	3,80
Amostra 7	13,88	3,35	0,34	5,02	3,81
Amostra 8	16,01		0,43	5,29	4,00
Amostra 9	12,79		0,32	4,88	3,79
Amostra 10	14,18		0,38	4,67	4,10
Amostra 11	13,19	3,19	0,41	5,49	3,59
Amostra 12	13,98	3,50	0,38	4,96	3,87
Amostra 13	15,21	3,80	0,27	5,77	3,68
Amostra 14	12,49	3,26	0,68	5,09	3,62
Amostra 15	12,11	3,49	0,39	5,15	3,54
Amostra 16	11,89	2,93	0,37	4,70	3,74

**Tabela B2- Análises básicas dos vinhos Cabernet Sauvignon, safra 2005.**

<b>Amostra</b>	<b>°GL</b>	<b>Açúcares redutores g L<sup>-1</sup></b>	<b>Acidez volátil g L<sup>-1</sup></b>	<b>Acidez total g L<sup>-1</sup></b>	<b>pH</b>
Amostra 17	14,76	2,69	0,36	4,87	4,27
Amostra 18	13,89	2,35	0,38	4,82	4,30
Amostra 19	11,09	2,54	0,47	5,63	3,62
Amostra 20	13,72	2,87	0,42	5,17	3,95
Amostra 21	13,02	2,47	0,30	5,07	4,03
Amostra 22	12,73	4,92	0,73	5,15	4,10
Amostra 23	12,27	2,35	0,40	5,19	3,93
Amostra 24	12,33	2,98	0,43	5,03	3,74
Amostra 25	12,33	2,88	0,46	5,06	3,73
Amostra 26	11,96	2,71	0,40	5,93	3,49
Amostra 27	10,34	2,51	0,34	5,54	3,65
Amostra 28	11,80	3,27	0,55	5,09	3,96
Amostra 29	12,86	2,81	0,40	5,23	3,76
Amostra 30	11,95	3,32	0,32	6,07	3,71
Amostra 31	12,93	2,27	0,32	5,10	3,98
Amostra 32	13,16	2,17	0,35	5,09	4,03
Amostra 33	12,00	2,41	0,64	5,08	4,24
Amostra 34	13,77	2,54	0,26	5,40	3,93
Amostra 35	12,85	1,72	0,36	4,80	4,34
Amostra 36	14,12	2,52	0,41	5,11	4,06
Amostra 37	13,80	2,43	0,31	5,16	3,94
Amostra 38	13,72	1,85	0,32	5,07	4,12
Amostra 39	11,68	2,24	0,67	5,01	3,84
Amostra 40	13,30	2,60	0,48	5,12	3,92
Amostra 41	14,23	72,82	0,60	4,82	4,30
Amostra 42	12,04	1,77	0,44	5,13	3,93
Amostra 43	14,10	2,09	0,42	5,11	4,09

**Tabela B3-** Análises básicas dos vinhos Merlot - safra 2006.

<b>Amostra</b>	<b>°GL</b>	<b>Açúcares reduzidos g L<sup>-1</sup></b>	<b>Acidez volátil g L<sup>-1</sup></b>	<b>Acidez total g L<sup>-1</sup></b>	<b>pH</b>
Amostra 1	12,06	3,68	1,20	5,52	3,63
Amostra 2	11,04	2,47	0,56	6,19	3,46
Amostra 3	9,75	3,17	0,94	5,61	3,56
Amostra 4	11,92	2,50	0,86	5,44	3,66
Amostra 5	11,25	2,29	0,43	6,08	3,42
Amostra 6	10,68	3,35	0,96	6,15	3,35
Amostra 7	12,15	2,26	0,97	5,99	3,66
Amostra 8	13,12	2,68	0,73	4,93	3,64
Amostra 11	13,00	2,97	0,43	5,87	3,48
Amostra 13	14,00	3,07	0,69	5,31	3,76
Amostra 15	12,81	3,00	0,85	5,70	3,71
Amostra 44	12,77	3,15	0,79	5,36	3,65
Amostra 45	13,38	3,01	0,41	5,64	3,66
Amostra 46	11,30	2,76	0,58	5,67	3,57

**Tabela B4-** Análises básicas dos vinhos Cabernet Sauvignon - safra 2006.

Amostra	°GL	Açúcares reduzidos g L <sup>-1</sup>	Acidez volátil g L <sup>-1</sup>	Acidez total g L <sup>-1</sup>	pH
Amostra 17	11,57	2,68	0,56	5,31	3,75
Amostra 19	11,44	2,67	0,62	4,91	4,19
Amostra 20	12,47	2,95	0,59	5,25	3,70
Amostra 21	10,49	2,71	0,55	5,20	3,83
Amostra 23	11,49	3,19	1,20	5,70	3,71
Amostra 24	11,00	2,51	0,41	5,08	3,70
Amostra 25	8,48	3,57	1,11	4,73	3,81
Amostra 26	10,35	2,74	0,57	6,10	3,63
Amostra 27	8,83	2,77	0,65	5,71	3,62
Amostra 29	10,75	2,19	0,54	6,26	3,61
Amostra 30	9,62	2,63	0,36	6,64	3,57
Amostra 31	10,46	2,13	0,70	6,13	3,47
Amostra 32	11,27	1,94	0,86	5,40	3,73
Amostra 34	11,45	2,16	0,80	5,19	3,91
Amostra 35	12,67	2,33	0,92	5,34	3,95
Amostra 36	11,66	2,16	0,97	5,46	3,91
Amostra 37	12,72	2,27	0,95	5,47	3,82
Amostra 47	11,54	2,60	1,08	5,97	3,55
Amostra 48	11,99	4,06	0,87	5,77	3,59
Amostra 49	11,93	2,66	0,65	5,48	3,90
Amostra 50	10,19	2,69	0,74	4,95	3,93
Amostra 51	9,91	2,48	0,57	4,86	3,73
Amostra 52	12,02	2,52	0,64	5,11	3,91
Amostra 53	13,18	2,31	0,86	5,35	4,04
Amostra 54	13,44	2,23	0,75	5,31	4,01



**ANEXO C**  
(Dados de altitudes)

**Tabela C1-** Dados de altitude

<b>Amostra</b>	<b>Altitude (m)</b>	<b>Amostra</b>	<b>Altitude (m)</b>
Amostra 1	665	Amostra 35	711
Amostra 2	709	Amostra 36	660
Amostra 3	711	Amostra 37	649
Amostra 4	660	Amostra 38	724
Amostra 5	649	Amostra 39	484
Amostra 6	724	Amostra 40	600
Amostra 7	484	Amostra 41	569
Amostra 8	600	Amostra 42	555
Amostra 9	563	Amostra 43	677
Amostra 10	563	Amostra 44	689
Amostra 11	569	Amostra 45	764
Amostra 12	612	Amostra 46	658
Amostra 13	677	Amostra 47	719
Amostra 14	689	Amostra 48	732
Amostra 15	658	Amostra 49	710
Amostra 16	719	Amostra 50	711
Amostra 17	732	Amostra 51	669
Amostra 18	710	Amostra 52	713
Amostra 19	711	Amostra 53	590
Amostra 20	669	Amostra 54	427
Amostra 21	713	Amostra 55	612
Amostra 22	590	Amostra 56	484
Amostra 23	427	Amostra 57	566
Amostra 24	612	Amostra 58	578
Amostra 25	484	Amostra 59	484
Amostra 26	566	Amostra 60	563
Amostra 27	616	Amostra 61	563
Amostra 28	666	Amostra 62	616
Amostra 29	573	Amostra 63	666
Amostra 30	646	Amostra 64	573
Amostra 31	782	Amostra 65	646
Amostra 32	719	Amostra 66	782
Amostra 33	665	Amostra 67	686
Amostra 34	709		



**ANEXO D**  
(Dados de latitudes)

**Tabela D1-** Dados de latitude

<b>Amostra</b>	<b>Latitude Sul (°)</b>	<b>Amostra</b>	<b>Latitude Sul (°)</b>
<b>Amostra 1</b>	29.16315	<b>Amostra 35</b>	29.15243
<b>Amostra 2</b>	29.10866	<b>Amostra 36</b>	29.10810
<b>Amostra 3</b>	29.15243	<b>Amostra 37</b>	29.11571
<b>Amostra 4</b>	29.10810	<b>Amostra 38</b>	29.13890
<b>Amostra 5</b>	29.11571	<b>Amostra 39</b>	29.16811
<b>Amostra 6</b>	29.13890	<b>Amostra 40</b>	29.18800
<b>Amostra 7</b>	29.16811	<b>Amostra 41</b>	29.20077
<b>Amostra 8</b>	29.18800	<b>Amostra 42</b>	29.19978
<b>Amostra 9</b>	29.17583	<b>Amostra 43</b>	29.02972
<b>Amostra 10</b>	29.17583	<b>Amostra 44</b>	29.01356
<b>Amostra 11</b>	29.20077	<b>Amostra 45</b>	29.02016
<b>Amostra 12</b>	29.18761	<b>Amostra 46</b>	29.11558
<b>Amostra 13</b>	29.02972	<b>Amostra 47</b>	29.12596
<b>Amostra 14</b>	29.01356	<b>Amostra 48</b>	29.13315
<b>Amostra 15</b>	29.11558	<b>Amostra 49</b>	29.15004
<b>Amostra 16</b>	29.12596	<b>Amostra 50</b>	29.10814
<b>Amostra 17</b>	29.13315	<b>Amostra 51</b>	29.14415
<b>Amostra 18</b>	29.15004	<b>Amostra 52</b>	29.13463
<b>Amostra 19</b>	29.10814	<b>Amostra 53</b>	29.18874
<b>Amostra 20</b>	29.14415	<b>Amostra 54</b>	29.17149
<b>Amostra 21</b>	29.13463	<b>Amostra 55</b>	29.18761
<b>Amostra 22</b>	29.18874	<b>Amostra 56</b>	29.16811
<b>Amostra 23</b>	29.17149	<b>Amostra 57</b>	29.20145
<b>Amostra 24</b>	29.18761	<b>Amostra 58</b>	29.20145
<b>Amostra 25</b>	29.16811	<b>Amostra 59</b>	29.16811
<b>Amostra 26</b>	29.20145	<b>Amostra 60</b>	29.17546
<b>Amostra 27</b>	29.00489	<b>Amostra 61</b>	29.17583
<b>Amostra 28</b>	29.02904	<b>Amostra 62</b>	29.00489
<b>Amostra 29</b>	29.04029	<b>Amostra 63</b>	29.02904
<b>Amostra 30</b>	29.04924	<b>Amostra 64</b>	29.04029
<b>Amostra 31</b>	29.02107	<b>Amostra 65</b>	29.04924
<b>Amostra 32</b>	29.01728	<b>Amostra 66</b>	29.02107
<b>Amostra 33</b>	29.16315	<b>Amostra 67</b>	29.01340
<b>Amostra 34</b>	29.10866		