



**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E GESTÃO**  
**VITIVINÍCOLA**

**BRUNO CISILOTTO**

**UTILIZAÇÃO DE RESINA DE TROCA IÔNICA PRÉ-FERMENTATIVA PARA**  
**ELABORAR VINHOS BASE DE ESPUMANTES**

**CAXIAS DO SUL**

**2017**

**BRUNO CISILOTTO**

**UTILIZAÇÃO DE RESINA DE TROCA IÔNICA PRÉ-FERMENTATIVA PARA  
ELABORAR VINHOS BASE DE ESPUMANTES**

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

Orientador professor: Dr. Sergio Echeverrigaray

**CAXIAS DO SUL**

**2017**

C579u Cisilotto, Bruno

Utilização de resina de troca iônica pré-fermentativa para elaborar  
vinhos base de espumantes / Bruno Cisilotto. – 2017.

128 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa  
de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2017.

Orientação: Sergio Echeverrigaray.

1. Enologia. 2. Vinho base de espumante. 3. Resina de troca iônica.

I. Echeverrigaray, Sergio, orient. II. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UCS com os dados  
fornecidos pelo(a) autor(a).

**BRUNO CISILOTTO**

**UTILIZAÇÃO DE RESINA DE TROCA IÔNICA PRÉ-FERMENTATIVA PARA  
ELABORAR VINHOS BASE DE ESPUMANTES**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia e Gestão Vitivinícola da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia e Gestão Vitivinícola.

Orientador professor: Dr. Sergio Echeverrigaray

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28 DE JUNHO DE 2017.

---

Dr. Sergio Echeverrigaray laguna  
Orientador

---

Dra. Simone Bertazzo Rossato

---

Dr. Evandro Ficagna

---

Dra. Ana Paula Longaray Delamare

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Sergio Echeverrigaray por dividir seu tempo e conhecimentos sobre ciência e, principalmente, sobre a vida. Também tenho que estender meus agradecimentos aos professores do Instituto Federal do Rio Grande do Sul (IFRS) - campus Bento Gonçalves, especialmente à Simone Rossato que vem me ajudando e apoiando desde a Graduação e ao professor Evandro Ficagna que também sempre se mostrou disposto a me auxiliar sempre que necessário. Agradeço ainda aos professores do programa de Mestrado da UCS pela oportunidade a mim concedida de aprimorar meus conhecimentos e trocar experiências. À Ângela Rossi Marcon pela importante colaboração e ao enólogo Ben-hur Rigoni da AEB-group, pelo fornecimento de amostras e apoio técnico.

Faço agradecimentos especiais também aos bolsistas de enologia do IFRS - campus Bento Gonçalves: à Luísa Carolina Wetzstein por ter abraçado o projeto e se dedicado constantemente em aprender, contribuindo, dessa maneira, para o desenvolvimento do mesmo, e ao Ângelo Gava que esteve sempre disponível e disposto para ajudar.

Ao meu colega de trabalho Marcos Dalmolin agradeço pelo suporte fornecido nas decisões e escolhas referentes ao experimento. Aos ex-diretores e diretores atuais do IFRS - campus Bento Gonçalves: Luciano Manfroí, Marcus Almança, Soeni Bellé, Elisângela Batista Maciel e demais colegas agradeço por incentivarem a formação acadêmica dos servidores.

Transmito meus agradecimentos também à minha amiga e colega de trabalho Gisele Mion Gugel, por toda a ajuda e apoio concedido no desenvolver da pesquisa. Aos estagiários da safra 2016 da Vinícola-Escola: Roberta Gabbardo, Julia Trivilin, Taina Alice Benvegnú de Souza, Rafael Deitos Scomazzon, Kévin Sganzerla e João Victor Antoniulli (vocês foram realmente incríveis!). Deixo meu muito obrigado também à Caroline Poletto pela contribuição na última etapa de revisão do texto e ao Danton Magri e Pedro Poletto por terem me auxiliado com a transposição do resumo.

Agradeço aos amigos de toda a vida, aos novos amigos e também às diversas pessoas que fizeram parte da minha história até o momento e que, com certeza, participaram da construção desse projeto e do meu crescimento pessoal.

Faço agradecimentos especiais ao Movimento Escoteiro e Escoteiros de Garibaldi do Grupo Almirante José de Araújo Filho, pois muito do conhecimento aplicado indiretamente neste trabalho veio de vocês.

Também desejo prestar homenagem à minha família: aos meus pais Cirano Cisilotto e Marines Bavaresco e às minhas irmãs Júlia e Sofia que sempre me ajudaram e me apoiaram em tudo (vocês têm um papel muito importante na construção do meu caráter e identidade).

Por fim, agradeço por ter consciência da imensa oportunidade que é a vida e por conseguir apreciar esse incrível fato que é viver.

Muito obrigado!

“ Se tiver o hábito de fazer as coisas com alegria, raramente encontrará situações difíceis. ”

**Robert Stephenson Smyth Baden-Powell**

## RESUMO

Considerando que os vinhos espumantes são produtos importantes para o setor vitivinícola brasileiro, pesquisas relacionadas com melhorias na elaboração deste produto são relevantes para a qualidade, diversificando os produtos. A acidez dos vinhos normalmente sofre correções durante o processo de elaboração com ácidos orgânicos, porém, atualmente, existem outras alternativas que estão sendo testadas e utilizadas com o intuito de melhorar a qualidade do produto. Dentre essas alternativas encontram-se as resinas de troca iônica recomendadas para aplicações enológicas que são formadas por uma matriz de poliestireno reticulado com divinilbenzeno. Essas resinas são encapsuladas em microesferas de 0,3 a 1,2 mm e possuem alta estabilidade físico-química. Depois de serem tratadas com ácido, estas resinas adquirem carga positiva com  $H^+$  e intercambiam estes cátions com  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  e outros cátions presentes no mosto, liberando ácido tartárico e outros ácidos, reduzindo o pH. Estas modificações químicas podem afetar a composição química dos mostos, vinhos e também o metabolismo das leveduras. Tendo isso em vista, o objetivo deste trabalho centrou-se em analisar, reunir e interpretar dados e informações avaliando o impacto da técnica na cinética fermentativa, nas características químicas dos mostos e nas características químicas e organolépticas dos vinhos resultantes, provenientes de um mesmo mosto, com diferentes tempos de passagem por uma resina de troca iônica (catiônica) comercial, específica para uso enológico. Para os experimentos, um mosto de Chardonnay (75 L) foi extraído com uma prensa pneumática e clarificado com sol de sílica/gelatina. O mosto passou pela coluna de resina tantas vezes quanto necessário para obter a redução de pH desejada. Os tratamentos do experimento incluíram um mosto controle com índice de pH 3,2, e mostos com pH 3,14, 3,07, 3,01 e 2,93, obtidos pelo tratamento com resina de troca catiônica. Todos os mostos foram inoculados com a mesma levedura selecionada (20g/hL), e as fermentações foram monitoradas através da redução de massa (liberação  $CO_2$  g/L). Os resultados da cinética dos processos fermentativos foram ajustados pela equação não linear sigmoideal de Gompertz e expressos como: duração da fase Lag (Lag=horas), liberação total de  $CO_2$  ( $Y_{max}=g/L$ ), taxa máxima de liberação de  $CO_2$  ( $\mu_{max}=g/L/dia$ ). As análises dos mostos incluíram medição do pH, acidez total, cor, polifenóis totais, ácido tartárico, nitrogênio amoniacal e metais (cátions). Nos vinhos foram realizadas análises básicas, de compostos voláteis, análise organoléptica e de oxidação ao longo do tempo (medida através da mudança de cor das amostras). Os parâmetros cinéticos mostraram diferenças significativas entre o controle e os tratamentos, exceto para o tratamento com pH 2,93 o qual obteve maior liberação de  $CO_2$  total. As reduções dos três parâmetros foram lineares ( $r>95$ ) dentro da faixa de pH de

3,2 a 3,01. Por outro lado nos pHs mais baixos (3,01 e 2,93) as diferenças não foram significativas. As análises dos mostos apresentaram diferenças significativas seguindo a tendência do funcionamento das resinas, com redução dos cátions e aumento da acidez total e concentração de ácido tartárico livre. A quantidade de nitrogênio amoniacal teve uma redução significativa nos tratamentos. Alguns compostos voláteis dos vinhos variaram sua concentração levando a um aumento na concentração dos álcoois superiores e uma redução nos acetatos e ésteres etílicos. A oxidação dos vinhos foi acompanhada ao longo do tempo e mostrou maior resistência nos vinhos com o pH alterado. Na análise organoléptica houve uma preferência pelo vinho controle e os vinhos com o pH mais próximo dele. Esse estudo mostrou que o tratamento com resinas catiônicas afeta a fermentação, mostos e vinhos, podendo contribuir de maneira positiva ou negativa, dependendo do tratamento, para a elaboração de vinhos base de espumante.

**Palavras-chave:** Resina de troca iônica, pH, vinho base para espumante.

## ABSTRACT

Considering that sparkling wines are important products for the Brazilian wine sector, researches related to different elaboration techniques are relevant for the increase of enological options and product diversity. The acidity of wines is usually corrected during the process of elaboration with organic acids, but currently there are other alternatives that are being tested and used in order to improve the quality of the product. Among these alternatives are the cation exchange resins recommended for enological applications are constituted by a matrix of polystyrene reticulated with divinylbenzene. These resins are encapsulated in microspheres from 0.3 to 1.2 mm, and have high physic-chemical stability. After an acid treatment, the resins are positively charged with  $H^+$  and exchange these cations with  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  and other cations present in grape must, releasing tartaric and other acids, reducing the pH. These chemical modifications may affect the chemical composition of must, wines and also yeast metabolism. In view of this, the purpose of this work was to analyze, gather and interpret data and information evaluating the impact of the technique on fermentative kinetics, on the chemical characteristics of musts and on the chemical and organoleptic characteristics of the resulting wines, from a same must, with different times of passage through a commercial cation exchange resins, specific for enological use. For the experiments, a Chardonnay must (75 L) was obtained by pneumatic press extraction, and clarified with silica and gelatin. The must passed through a resin column, as many times as necessary to obtain the desired pH reductions. The experiment treatments included the control must with pH index 3.2, and must with pH 3.14, 3.07, 3.01, and 2.92, obtained by cation-exchange resin treatment. All the musts were inoculated with the same commercial yeast strain (20 g/hL), and fermentation was monitored by mass reduction ( $CO_2$  release (g/L)). Kinetic data were adjusted by a modified non-linear sigmoidal equation of Gompertz, and expressed as: Lag-phase duration (Lag=hours), total  $CO_2$  release ( $Y_{max}$ =g/L) and maximum rate of  $CO_2$  release ( $\mu_{max}$ =g/L/day). Musts analyses included the measured of pH, total acidity, color, total polyphenols, tartaric acid, ammoniacal nitrogen and metals (cations). There were basic analysis made in the wine and also volatile compounds, organoleptic and oxidation within time (measured by the samples' color change). The kinetic parameters showed significant differences among the control and the other treatments, except for the treatment with pH of 2,93, which had a higher total  $CO_2$  release. The reductions of the three parameters was linear ( $r>95$ ) on the pH range of 3,2 and 3,01. However, at the lowest pHs (3.01 and 2.93) the differences were not significant. Must analyses showed significant differences following the tendency from the resin's operation for cation's reduction, increase of total

acidity, and concentration of free tartaric acid. The amount of ammoniacal nitrogen had a significant decrease on the treatments. Some wine volatile compounds concentration exhibited significant differences between treatments, leading to an increase in higher alcohols concentration, and a decrease in acetate and ethylic esters. The oxidation of wines was accompanied through time and showed a major resistance on the wines with altered pH. In the organoleptic analysis, there was a preference for the control wine and the wines with similar pH to the control. This study shows that the treatment with cationic resins affects the fermentation, must and wines and it can contribute in a positive or negative way, depending on the treatment, for base-wine production.

**Keywords:** Ion exchange resin, pH, base wine for sparkling wine.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
3.1 O VINHO ESPUMANTE NO BRASIL.....	20
3.2 VINIFICAÇÃO EM BRANCO.....	21
3.3 O VINHO BASE PARA ESPUMANTE.....	22
3.4 UVA CHARDONNAY .....	23
3.5 A SAFRA DA UVA EM 2016 NA SERRA GAÚCHA .....	24
3.6 PRINCIPAIS ÁCIDOS ORGÂNICOS DOS MOSTOS .....	25
3.7 SAIS DOS MOSTOS E VINHOS .....	26
3.8 ACIDEZ TOTAL EM MOSTOS E VINHOS.....	28
3.9 A INFLUÊNCIA DO pH EM MOSTOS E VINHOS .....	28
3.10 DIOXIDO DE ENXOFRE (SO <sub>2</sub> ) E SUA INTERAÇÃO COM O pH.....	29
3.11 AVALIAÇÃO DA COR EM VINHOS.....	32
3.12 PRINCIPAIS METAIS DOS MOSTOS E VINHOS .....	35
3.13 COMPOSTOS VOLÁTEIS NOS VINHOS.....	37
3.14 CINÉTICA FERMENTATIVA.....	44
3.15 RESINAS DE TROCAS IÔNICAS E SUA APLICAÇÃO NA ENOLOGIA.....	47
3.16 ANÁLISE SENSORIAL .....	54
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.1 MATERIAL.....	56
4.1.1 Local de coleta da amostra .....	56
4.1.2 Resina e produto ativador.....	56
4.1.3 Amostra .....	58

4.1.4 Dispositivo experimental para realização da troca iônica.....	58
4.1.5 Tratamentos experimentais .....	59
4.2 MÉTODOS ANÁLITICOS .....	62
4.2.1 Determinação do pH.....	62
4.2.2 Açúcares Redutores.....	62
4.2.3 Acidez Total .....	62
4.2.4 Ácido tartárico.....	62
4.2.5 Nitrogênio amoniacal .....	63
4.2.6 Extrato seco .....	63
4.2.7 Compostos fenólicos totais (Método de Folin- Ciocalteu) .....	63
4.2.8 Índice de polifenóis totais .....	64
4.2.9 Cor.....	64
4.2.10 Turbidez .....	65
4.2.11 Sólidos solúveis totais .....	65
4.2.12 Determinação de Álcool Etilico .....	65
4.2.13 Determinação de Anidrido Sulfuroso.....	65
4.2.14 Acidez Volátil Corrigida .....	65
4.2.15 Análises de Etanal, Acetato de Etila, Metanol e Alcoois Superiores.....	66
4.2.16 Análises Cromatográficas de Ácidos Graxos, Ésteres, Ácidos Voláteis e Acetatos .....	66
4.2.17 Determinação dos metais .....	67
4.2.18 Análise sensorial .....	67
4.2.19 Análise descritiva quantitativa (ADQ).....	67
4.3 ANÁLISE ESTÁTICA DOS RESULTADOS .....	68
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	69
5.1 MOSTOS .....	69
5.2 FERMENTAÇÃO VÍNICA .....	77

5.3 ANÁLISE DOS VINHOS .....	82
5.4 EVOLUÇÃO DA COR E OXIDAÇÃO DOS VINHOS.....	93
5.5 ANÁLISE SENSORIAL DOS VINHOS .....	97
6 CONCLUSÕES .....	102
7 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	103
8 SUGESTÕES DE MELHORIAS E COMPLEMENTOS DO ESTUDO .....	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	105
ANEXOS .....	121

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Partes de uma baga de uva.....	22
Figura 2 - Equilíbrio entre o ácido tartárico, hidrogenotartarato, tartarato e o precipitado hidrogenotartarato de potássio.....	27
Figura 3 - Frações de SO <sub>2</sub> total com suas formas livres e combinadas.....	31
Figura 4 - Medição da cor de uma maçã com os valores L*a*b.....	34
Figura 5 - Representação do sólido de cores para as coordenadas L*a*b*.....	35
Figura 6 - Desmetilesterificação da pectina pela enzima pectinametilesterase (PME) com formação de metanol (MeOH).....	38
Figura 7 - Via metabólica da fermentação alcoólica com a formação de acetaldeído e etanol.....	39
Figura 8 - Demonstração da reação de esterificação e hidrólise dos ésteres.....	40
Figura 9 - Tempo de retenção do Etanal, Acetato de Etila, Metanol e Álcoois Superiores.....	42
Figura 10 - Tempo de retenção dos Ácidos Graxos, Ésteres, Ácidos Voláteis e Acetato.....	42
Figura 11 - Imagem de uma resina com aumento de 150X.....	48
Figura 12 - Estrutura básica de uma esfera de resina de troca iônica.....	51
Figura 13 - Esquema do funcionamento da troca iônica.....	52
Figura 14 - Características físico-químicas e sensoriais da resina pH-STAB e do detergente ACID+.....	57
Figura 15 - Resinas de troca iônica "pH-STAB".....	57
Figura 16 - Dispositivo experimental para realização da troca iônica.....	59
Figura 17 - Esquema demonstrando a constituição dos tratamentos experimentais.....	61
Figura 18 - Análise de pH (A), Acidez Total (B), Ácido Tartárico (C), Nitrogênio Amoniacal (D), Compostos Fenólicos Totais (E).....	70
Figura 19 - Concentração dos metais Calcio (Ca <sup>2+</sup> ), Magnésio (Mg <sup>2+</sup> ), Cobre (Cu <sup>2+</sup> ), Potássio (K <sup>+</sup> ) e Sódio (Na <sup>+</sup> ) após o tratamento com resina.....	74
Figura 20 - Monitoramento da fermentação através da taxa de desprendimento de CO <sub>2</sub> ao longo dos dias de fermentação alcoólica.....	77
Figura 21 - Fase Lag - Adaptação das leveduras nos mostos.....	79
Figura 22 - Y <sub>max</sub> - Total de CO <sub>2</sub> liberado durante fermentação alcoólica (Y <sub>max</sub> =g/L).....	80
Figura 23 - μ <sub>max</sub> - Máximo de CO <sub>2</sub> liberado durante os dias de fermentação alcoólica.....	81
Figura 24 - Representação gráfica dos compostos voláteis analisados que foram considerados com modificações importantes.....	90
Figura 25 - Comparação entre as médias dos atributos dos vinhos encontrados na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).....	99

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Compostos voláteis presentes nos vinhos, descritores aromáticos e seus limiares de percepção .....	43
Quadro 2 - Identificação dos tratamentos.....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variação da fração do SO <sub>2</sub> molecular com a mudança do pH.....	31
Tabela 2 - Análises físico-químicas iniciais do mosto controle (TP).....	69
Tabela 3 - Análise dos mostos com colorímetro das coordenadas CIELab e com o espectrofotômetro em densidade ótica de 420 nm.....	72
Tabela 4 - Diferenças em cada ponto de comparação das fermentações através do Modelo Gompertz modificado para fermentação alcoólica.....	78
Tabela 5 - Diferenças do pH, acidez total (AT), ácido tartárico (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> ) e compostos fenólicos totais (CFT) antes e depois da fermentação alcoólica.....	82
Tabela 6 - Análises físico-químicas dos vinhos .....	84
Tabela 7 - Análise dos vinhos com colorímetro das coordenadas CIELab e com o espectrofotômetro em densidade ótica de 420 nm.....	86
Tabela 8 - Concentração de compostos aromáticos nos vinhos .....	88
Tabela 9 - Comparação da evolução da cor entre os tratamentos a cada três meses durante um período de nove meses.....	94
Tabela 10 - Resultados da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).....	98

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do Instituto Brasileiro do Vinho (2014), o consumo de vinhos espumantes nacionais vem aumentando nos últimos anos e cada vez mais se encontram notícias de premiações desta bebida em concursos técnicos nacionais e internacionais, de forma que o Brasil está se encaminhando para um reconhecimento mundial como um país produtor de espumantes de qualidade. Isso aumenta a importância de estudos e trabalhos científicos relacionados com esse produto, possibilitando assim entender melhor suas potencialidades e, conseqüentemente, desenvolver aprimoramentos que contribuam para aumentar a competitividade deste produto em relação aos vinhos espumantes provenientes de outras regiões e países.

Os vinhos espumantes elaborados no Brasil são produtos que podem atingir características organolépticas excelentes. A sua qualidade vem melhorando juntamente com um crescimento do consumo. Um dos fatores que contribuem para o aumento da qualidade dos espumantes brasileiros é a implementação de novas tecnologias, tanto na viticultura quanto na enologia (IBRAVIN, 2015).

A qualidade final de um espumante, como de qualquer produto agrícola, depende especialmente da matéria-prima utilizada. Além disso, o processamento das uvas para elaborar vinhos base para espumante necessita de acurácia e precisão, para que os vinhos bases sejam finos, nítidos e com uma acidez e frescor relativamente mais alta que a dos “vinhos tranquilos” (RIBEREAU-GAYON et al., 2007).

Por diversos fatores, a acidez dos mostos e vinhos vem diminuindo ao longo dos anos, e cada vez mais se faz necessário correções para se manter o equilíbrio gustativo e aumentar a estabilidade dos vinhos (BLOUIN; PEYNAUD, 2004). Técnicas de controle do pH e conservação da acidez dos mostos e vinhos, como o fracionamento qualitativo dos mostos (separação das diferentes frações do suco durante a prensagem), a adição de diferentes ácidos orgânicos, o controle da fermentação malolática e a utilização de resinas de troca iônica estão sendo estudadas, testadas e discutidas (TOGORES, 2011).

No ano de 2012, a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) previu a utilização de resinas catiônicas em mostos e vinhos para o aumento da acidez total e real (diminuição do pH) (OIV, 2012). No ano seguinte, em 2013, o regulamento do parlamento Europeu (CE) nº 144/2013, p. 4 foi alterado conforme o codex enológico internacional da OIV incluindo a utilização de resinas nos mostos.

Tendo em vista que a aplicação enológica de resinas de troca iónica foi autorizada recentemente e que pode ser utilizada para auxiliar no aumento da acidez e redução do pH, este trabalho foi desenvolvido com o intuito de avaliar a utilização desta técnica em condições pré-fermentativas para elaboração de vinhos base de espumantes, ampliando o conhecimento através da observação, interpretação e discussão dos resultados obtidos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho centrou-se em analisar, reunir e interpretar dados e informações avaliando o impacto da técnica na cinética fermentativa, nas características químicas dos mostos e nas características químicas e organolépticas dos vinhos resultantes, provenientes de um mesmo mosto, com diferentes tempos de passagem por uma resina de troca iônica (catiônica) comercial específica para uso enológico.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Passar o mosto pela resina de troca iônica e, através de um medidor de pH, separar os mostos em 4 grupos com diferenças no índice de pH maiores que 0,05;
2. Fermentar os mostos separadamente tendo como única diferença a quantidade de troca de cátions pela resina, diferenciados pelo pH;
3. Ampliar o conhecimento sobre a técnica de utilização de resina de troca catiônica pré-fermentação que, apesar de já estar sendo bastante utilizada, ainda há poucos estudos na literatura especializada sobre essa técnica.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O VINHO ESPUMANTE NO BRASIL

O Brasil vem se consolidando como produtor de espumantes de qualidade e, nos últimos anos, houve um aumento significativo do consumo interno e há expectativas de que o consumo continue a crescer. Segundo IBRAVIN (2014), as empresas do Rio Grande do Sul comercializaram cerca de 16,8 milhões de litros em 2014, um aumento de 67,3% em dez anos.

A tecnologia e o conhecimento adquirido na área de vitivinicultura e enologia têm refletido em uma melhoria da qualidade das uvas e dos vinhos fazendo com que os produtos brasileiros consigam se destacar e se tornar a preferência dos consumidores locais. Os dados mostram que cerca de 80% da bebida comercializada no mercado interno é nacional (IBRAVIN, 2015).

O espumante brasileiro, como produto de qualidade superior, vem sendo elaborado há alguns anos e já alcançou prestígio internacional. É o melhor produto nacional, do ponto de vista do *terroir* e da tecnologia (GIOVANINNI; MANFROI, 2009).

Existem três métodos principais para elaboração de espumantes: o método com a segunda fermentação na garrafa (Tradicional ou Clássico), o método em tanques de pressão com duas fermentações (*Charmat ou Martinotti*) ou o método em tanques de pressão com somente uma fermentação (Asti ou Moscatel) (ROCHA, 2012).

Segundo o artigo 11 da Lei nº10.970 de 12 de novembro de 2004, conhecida como a Lei do Vinho, a definição de vinho espumante no Brasil é:

Art. 11. Champanha (Champagne), Espumante ou Espumante Natural é o vinho cujo anidrido carbônico provém exclusivamente de uma segunda fermentação alcoólica do vinho em garrafas (método Champenoise/tradicional) ou em grandes recipientes (método Chaussepied/Charmat), com uma pressão mínima de 4 (quatro) atmosferas a 20°C (vinte graus Célcius) e com teor alcoólico de 10% (dez por cento) a 13% (treze por cento) em volume (BRASIL, 2004).

### 3.2 VINIFICAÇÃO EM BRANCO

Os mostos e os vinhos são constituídos por diferentes componentes, como água, glicídios, proteínas, lipídios, elementos minerais e compostos fenólicos. Nos mostos, os constituintes são provenientes principalmente da polpa das bagas. No entanto, a composição do vinho é mais complexa que do mosto, pois o vinho é obtido através da fermentação alcoólica. A fermentação modifica a composição do mosto provocando o desaparecimento dos açúcares (glicose e frutose) e a formação de álcool junto com produtos secundários como os poliálcoois, os diversos ácidos orgânicos e os numerosos compostos voláteis que constituem o aroma (FLANZY, 2000).

Na vinificação em branco a fermentação ocorre sem a presença das partes sólidas da uva (película e sementes), sendo somente a fração líquida (suco) fermentada. Essas partes sólidas são separadas no início da fermentação alcoólica, ocorrendo pouca maceração (sempre sem álcool), sendo esse o ponto que distingue a vinificação em branco da vinificação em tinto. Por isso, podem-se obter vinhos brancos de uvas brancas como também de uvas tintas (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

A extração do mosto deve ser feita de forma rápida e normalmente sem desengaçar a uva, evitando ao máximo maiores macerações. O fracionamento em diferentes mostos é muito importante considerando a heterogeneidade da maturação dos cachos e a diferente composição do suco e outras frações da baga (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007). O mosto de primeira prensagem conhecido como “flor” ou “gota” é o de melhor qualidade. Esse mosto corresponde ao suco celular da zona intermediária entre a zona periférica e central da baga, que representa a fração mais ácida e, ao mesmo tempo, mais rica em açúcares. Extrai-se, no máximo, 60% do peso da uva em mosto flor (RIBEREÁU-GAYON et al, 2007) (LONA, 2012). Para melhor entendimento, na Figura 1 visualiza-se as diferentes partes da baga da uva e sua composição básica.

Figura 1 - Partes de uma baga de uva



Fonte: Acervo pessoal.

A clarificação dos mostos antes da fermentação de vinificações “em branco” é de suma importância. Segundo Ribéreau-Gayon et al. (2007) na fermentação com o mosto clarificado há uma maior produção de álcoois superiores com aromas agradáveis, ácidos graxos e seus respectivos ésteres, além de aumentar a fineza aromática. As partes sólidas do mosto conferem aromas vegetais normalmente desagradáveis, por isso o desborre (*débourbage*) é considerado uma operação quase obrigatória. O procedimento mais simples de desborre é através da decantação estática. O mosto clarificado perde junto com as borras boa parte das leveduras naturais presentes na uva. Por isso, o inóculo de leveduras selecionadas é aconselhado para que se obtenha uma fermentação segura, conduzida por cepas de leveduras apropriadas que irão valorizar a qualidade sem gerar defeitos (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

### 3.3 O VINHO BASE PARA ESPUMANTE

Para elaboração do vinho base para espumante a colheita da uva é feita com uma maturação da uva menos avançada em comparação com a maturação para vinhos tranquilos. A extração do mosto deve ser feita com cuidado, evitando macerações com a casca para que diminuam as sensações de amargor e as características vegetais, temidas nestes tipos de produto (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

Algumas características analíticas buscadas em vinhos bases para espumantes são: uma graduação alcoólica entre 9,5 a 11,5%; acidez total (expresso em ácido tartárico) > 5,5 gramas/litro; acidez volátil (expresso em ácido acético) < 0,6 gramas/litro; anidrido sulfuroso total < 140 mg/litro; pH de 2,8 a 3,3 (TOGORES, 2011). Durante a tomada de espuma, o vinho sofre um acréscimo de álcool alcançando teores próximos a 11,5 – 13,0% vol. O vinho necessita

de uma acidez elevada, para que ocorra um melhor equilíbrio do produto final e o mínimo de componentes fenólicos que aportam características vegetais (RIBERÉAU-GAYON et al., 2007).

Outra característica buscada em vinhos base para espumante é uma estabilidade adequada. Por isso, o vinho não deve conter quantidade elevada de substâncias proteicas e elementos minerais como ferro e cobre, que provocam turvações. Recomenda-se também reduzir o teor de potássio e de ácido tartárico e de seus respectivos sais (RIZZON et al., 2000). O pH baixo é um fator importante para estes tipos de vinhos, pois aumenta a longevidade, a estabilização, e a ação do SO<sub>2</sub> ativo. A ação do SO<sub>2</sub> aumenta em torno de 20% com uma diminuição do pH em 0,1, contribuindo para uma melhor estabilidade microbiológica e químico-física (RIBÉREAU-GAYON, et al., 2007). O pH dos mostos e vinhos varia com a quantidade de ácidos, principalmente o ácido tartárico e málico, e cátions, especialmente K<sup>+</sup> e Ca<sup>2+</sup> presentes neles (TOGORES, 2011). Uma alteração de pH em torno de 0,1 corresponde a uma variação de íons H<sup>+</sup> ao redor de 20% (BLOUIN; PEYNAUD, 2004).

Segundo Blouin e Peynaud (2004), nos últimos anos tem se observado diminuições regulares e, às vezes, importantes na acidez dos vinhos. Estas diminuições são resultado de conjuntos de modificações climáticas, culturais e tecnológicas, tais como: anos mais calorosos, podas verdes intensas com o aumento da absorção de potássio, fertilização potássica frequente, colheita com uma maturação mais avançada, entre outros.

Algumas práticas podem ajudar na gestão do pH como, por exemplo, o controle da maturação tecnológica das uvas, a separação das frações dos mostos na prensagem (mosto da parte central das bagas possui maior quantidade de ácidos e menor quantidade de bases e polifenóis), a adição de ácidos ao mosto ou ao vinho, a eletrodialise e resinas de trocas iônicas (TOGORES, 2011).

### 3.4 UVA CHARDONNAY

A uva Chardonnay é branca, de maturação precoce, sensível ao míldio e à podridão do cacho. Além disso, apresenta cacho pequeno e possui bom potencial de acúmulo de açúcar na baga. Esta uva origina um vinho branco equilibrado, com pouco aroma varietal, porém, de elevada complexidade, o que o torna bastante apreciado pelos consumidores (HARDY, 2003).

A uva Chardonnay está espalhada em todo o mundo. É usada na produção de clássicos de alta qualidade e reputação na Borgonha, como Chablis, Montrachet e Pouilly-Fussé, além de ser um importante ingrediente do Champagne. Sob condições ideais, o vinho produzido por

essa cultivar desenvolve aspectos que lembram frutas diversas, incluindo maçã, pêsego e melão (JACKSON, 1993 apud SOUZA, 2010). No vinho espumante contribui com a fineza, a complexidade aromática e estrutura do produto. O vinho elaborado com a cultivar Chardonnay, na região da Serra Gaúcha, caracteriza-se por apresentar aromas que lembram maçã verde, frutas tropicais (abacaxi) e frutas cítricas maduras. No paladar apresenta ataque predominantemente ácido, boa estrutura e persistência no final de boca (RIZZON et al., 2000 apud MENEGUZZO, 2010).

Essa cultivar foi introduzida no Brasil na década de 1930, na região de São Roque, em São Paulo e, no Rio Grande do Sul, por volta de 1948. No entanto, foi somente na década de 1980 que adquiriu notoriedade na Serra Gaúcha, por meio da produção de vinho branco fino e utilização como base para espumante (RIZZON et al., 2009).

Segundo o cadastro vitícola de 2013 a 2015, entre todas as variedades de uva, a Chardonnay é a segunda uva *Vitis vinifera* com maior extensão de plantio no Rio Grande do Sul, com uma área de plantio de 1.011,40 ha, tendo à frente apenas a variedade Cabernet Sauvignon (1.028,69 ha). Entre as uvas brancas *Vitis vinifera*, a Chardonnay é a mais cultivada (MELLO et al., 2017).

### 3.5 A SAFRA DA UVA EM 2016 NA SERRA GAÚCHA

A vitivinicultura é praticada em muitas regiões do mundo com diferentes condições climáticas, solos e cultivares onde variadas práticas de manejo nos vinhedos são adotadas. Isso influencia no desenvolvimento das plantas definindo a produtividade e a qualidade da uva produzida (ALVES; TONIETTO, 2016).

A safra é o ano da colheita da uva que serviu para fazer um vinho. Cada safra tem sua evolução, sua cotação, sua reputação, fazendo parte da personalidade do vinho. Não há vindimas idênticas e nunca se volta a fazer um vinho exatamente igual ao anterior. O clima tem um papel decisivo para as uvas, pois seu amadurecimento leva por volta de quarenta e cinco dias. A uva madura é muito frágil, alguns dias de mau tempo durante a vindima podem comprometer o fruto (PEYNAUD; BLOUIN, 2010).

A safra do ano 2016, na Serra Gaúcha, ocorreu sob condições climáticas anormais para a região. No período de abril a setembro de 2015, foi registrado um total de 140 horas de frio (horas de frio com temperatura  $< 7,2^{\circ}\text{C}$ ), valor inferior da média normal para região (409 horas de frio). Por isso, houve um prejuízo sobre a porcentagem de brotação e uniformidade das gemas. O excesso de chuvas ocorrido nos períodos de outubro a dezembro de 2015, associado à

baixa insolação, favoreceu a incidência de doenças fúngicas que prejudicaram o florescimento e desenvolvimento dos frutos. Durante a maturação e colheita, as cultivares precoces tiveram uma melhor maturação, visto que, em janeiro de 2016 houve uma redução das chuvas, porém os volumes de chuvas ficaram acima da média no final de janeiro até o mês de março, gerando condições menos favoráveis para as cultivares tardias (ALVES; TONIETTO, 2016).

### 3.6 PRINCIPAIS ÁCIDOS ORGÂNICOS DOS MOSTOS

Os ácidos orgânicos contribuem em modo determinante na composição, na estabilidade microbiológica, físico-química, e na qualidade sensorial dos vinhos (RIBERÉAU-GAYON P. *et al.*, 2007). Os ácidos tartárico e málico são os principais componentes responsáveis pela acidez dos mostos das uvas. As concentrações destes ácidos no mosto estão relacionadas com aspectos fisiológicos da maturação da uva, com os fatores naturais de clima e solo da região vitícola e com as práticas agrônômicas adotadas na produção (RIZZON e SGANZERLA, 2007). O sabor ácido junto com o amargo, doce e salgado compõem os quatro sabores fundamentais. Os três ácidos procedentes da uva (ácido tartárico, málico e cítrico) proporcionam o sabor ácido dos mostos propriamente dito (VIGARA; AMORES, 2010).

Do ponto de vista quantitativo, o ácido tartárico é um dos mais importantes nos mostos e vinhos. É um ácido pouco difundido na natureza fora das uvas. Além disso, é relativamente forte e confere ao vinho um pH entre 3 a 3,5. A concentração deste ácido depende muito do clima da região do vinhedo, podendo variar de 2 a 3 g/L em regiões mais quentes e 6 g/L nas regiões mais frias. Na fase herbácea da uva a concentração desse ácido no suco da uva pode chegar a 15 g/L. (RIBERÉAU-GAYON *et al.*, 2007).

Sob o ponto de vista químico, o ácido tartárico é um biácido, encontrado nas uvas e no vinho na forma levógiro (RIBERÉAU-GAYON *et al.* 2007; USSEGLIO-TOMASSET *et al.*, 1995; BOULTON *et al.*, 2002). É, entre os ácidos orgânicos do vinho, o mais forte e, por isso, influi de modo determinante no pH e nas características sensoriais dos vinhos. Quando presente em grande quantidade confere aspereza e certa adstringência ao vinho; mas, em concentrações adequadas, é responsável pela fineza ácida dos bons produtos. Encontra-se na forma livre e salificada, nesse caso, especialmente com o potássio e cálcio. Seus sais parcialmente solúveis implicam na estabilização física dos vinhos (RIZZON; MIELE, 2001; BOULTON *et al.*, 2002).

O ácido L (-) málico é encontrado em todos os organismos vivos. É o ácido mais abundante nas frutas e está presente, em grande quantidade, nas maçãs. Nas uvas as quantidades de ácido L (-) málico também são significativas. Seu sabor está relacionado com uma sensação

de frescor e verdor, lembrando maçã verde. O isômero do ácido málico encontrado nas uvas é o L (+) que é sintetizado a partir da glicose por via do ácido pirúvico. O suco de uvas verdes antes da troca de cor pode conter até 25 g/L. À medida que a maturação das uvas avança, os teores desse ácido diminuem por diluição devido ao aumento das bagas, e pela utilização dele no metabolismo celular. Nas regiões mais quentes com as uvas maduras, a quantidade varia de 1 a 2 g/L, e nas regiões mais frias entre 4 a 6,5 g/L. (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007; BOULTON et al, 2002; VIGARA; AMORES, 2010). O ácido málico pode desaparecer completamente do vinho, por descarboxilação em ácido láctico com produção de dióxido de carbono, principalmente nos vinhos tintos, com a ocorrência da fermentação malolática (SIMÕES, 2014; BOULTON et al, 2002).

O ácido cítrico é um ácido muito difundido na natureza e abundante nas frutas cítricas como no limão. Seu sabor é mais suave e menos agressivo que do ácido tartárico e málico, recordando uma limonada. Sua concentração nos mostos e nos vinhos antes da fermentação malolática varia entre 0,5 e 1 g/L. (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007; VIGARA; AMORES, 2010).

### 3.7 SAIS DOS MOSTOS E VINHOS

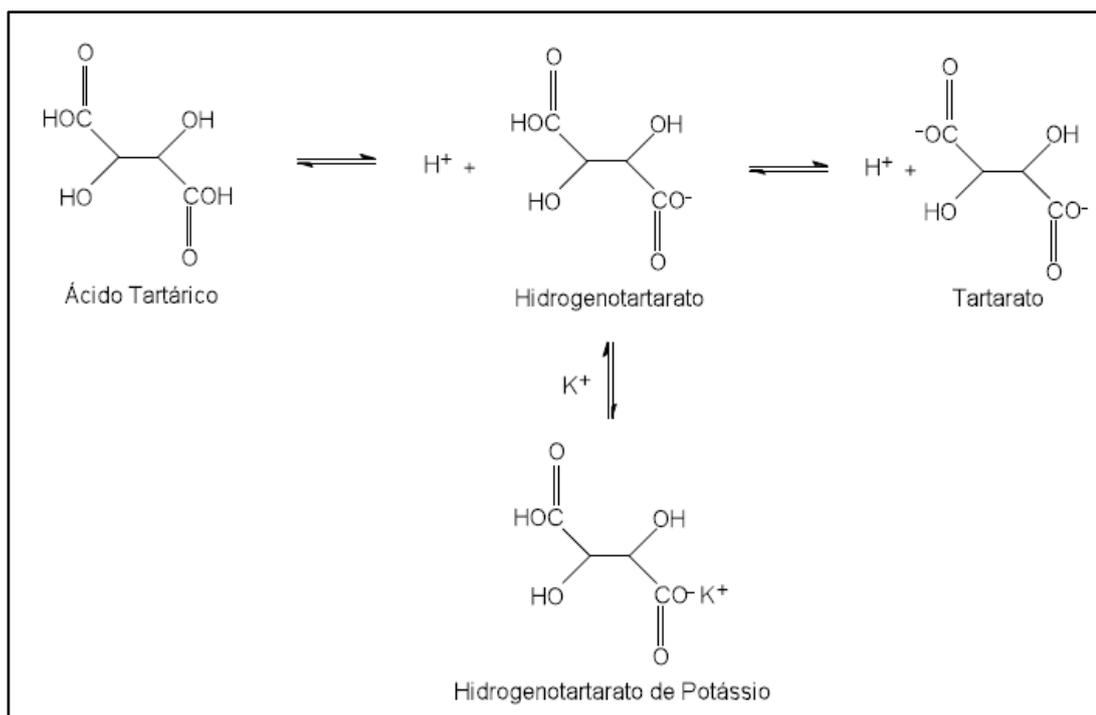
Na uva, o bitartarato de potássio é produzido após a fase de pinta (troca de cor) com a passagem do potássio do solo para a baga da uva. O mosto está sobressaturado de ácido tartárico durante a transformação do mosto em vinho, pois, na fermentação alcoólica com produção de etanol há uma diminuição da solubilidade do hidrogenotartarato de potássio (bitartarato de potássio), principal sal do ácido tartárico presente no meio, o que facilita a ocorrência de precipitados desses sais, induzindo uma redução da acidez total (SANTOS, et al, 2000; RIBÉREAU-GAYON et al., 2007; FLANZY., 2003; LOW, 2007; NUNES, 2011). Apesar da redução da acidez total com as precipitações desses sais, ainda, nas condições de pH em que o vinho normalmente se encontra (pH menor que 3,9) a estabilização tartárica produz uma diminuição do pH (VIGARA; AMORES, 2010).

Além da interferência do etanol na solubilidade dos sais, o fenômeno de cristalização depende de vários fatores, tais como: temperatura, pH, agitação, presença de metais, presença de coloides protetores e presença ou ausência de núcleos de cristalização (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007; NUNES, 2011).

O ácido tartárico precipita na forma de sal principalmente como hidrogenotartarato de potássio, que é pouco solúvel ou como tartarato neutro de cálcio que não é solúvel; em um pH

superior há predominância do tartarato de cálcio e na faixa de pH típica dos vinhos o hidrogenotartarato de potássio é predominante (RIBÉREAU-GAYON et al., 2007; NUNES, 2011). Na Figura 2, visualizam-se as 3 formas do ácido tartárico que normalmente estão em equilíbrio no vinho e a forma precipitada, o hidrogenotartarato de potássio.

Figura 2 - Equilíbrio entre o ácido tartárico, hidrogenotartarato, tartarato e o precipitado hidrogenotartarato de potássio



Fonte: adaptado de GARZÓN (2011); PALMA (2004).

O método convencional de estabilização tartárica pelo frio é ainda muito utilizado. Este método consiste em baixar a temperatura do vinho abaixo do ponto de cristalização dos sais e próximo ao ponto de congelamento por uma quinzena de dias de modo a eliminar a sobressaturação. Porém as limitações deste tratamento convencional como, por exemplo, estabelecer a temperatura ideal de estabilização para cada tipo de vinho e elevados custos energéticos por ser um processo longo, levaram a investigação enológica por métodos de estabilização alternativos à cristalização pelo frio, tais como: a aplicação de eletrodialise, utilização de resinas de troca iônica, adição de manoproteínas, entre outros (SANTOS et al., 2000).

### 3.8 ACIDEZ TOTAL EM MOSTOS E VINHOS

A acidez total (AT) do mosto ou vinho compreende todos os tipos de ácidos: ácidos inorgânicos (ácido fosfórico), ácidos orgânicos (ácido tartárico, málico, cítrico, láctico e outros), ácidos voláteis, bem como os aminoácidos, cuja contribuição para a acidez titulável não é muito bem conhecida. A participação de cada tipo de ácido para a acidez total é determinada pela sua força, que define seu estado de dissociação, bem como o grau em que se combinou para formar sais (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

A acidez total pode ser denominada como “acidez de titulação” sendo expressa em meq/L ou em g/L de ácido sulfúrico ou ácido tartárico. É uma análise determinada por método titulométrico (acidimétrico) através da neutralização dos ácidos dos mostos e vinhos por uma solução básica de concentração conhecida (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007). No Brasil, o método oficial utilizado para avaliar a acidez total e definir o ponto de neutralização do mosto ou vinho é realizado através da titulação com hidróxido de sódio, utilizando como indicador fenolftaleína, ou com um pHmetro até a titulação chegar a pH 8,2 (BRASIL, 1986).

### 3.9 A INFLUÊNCIA DO pH EM MOSTOS E VINHOS

O pH (potencial hidrogeniônico) expressa a atividade dos íons  $H^+$  liberados pelos ácidos livres. O valor baixo de pH contribui para estabilidade microbiológica e químico-física. O pH baixo dificulta o desenvolvimento de microrganismos e aumenta a fração antisséptica do dióxido de enxofre (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007; BLOUIN; PEYNAUD, 2006). O pH ótimo para leveduras é em torno de 3,5 a 4,5, sendo mínimo 2,5 e máximo 7. Porém, para bactérias, o ideal é um pH neutro ou ligeiramente alcalino. Com um pH abaixo de 6, muitas bactérias já são inibidas. Bactérias acéticas e lácticas têm um pH mínimo mais baixo, em torno de 3, abaixo desse valor essas bactérias não se desenvolvem (ZAMBONELLI, 2003).

Segundo De Ávilla (2002), o pH é particularmente importante em seu efeito sobre diversos fatores: os microrganismos, onde o pH determina a resistência do vinho a alterações microbianas; a intensidade da cor, influenciando a coloração das antocianinas; o sabor; o potencial de oxirredução; a taxa de  $SO_2$  molecular livre e combinado, sendo que em um pH mais baixo há maior fração molecular e livre de  $SO_2$ ; sobre a suscetibilidade de turvação pelo fosfato de ferro, que com um pH baixo aumenta a solubilidade dos compostos das casses; sobre a precipitação de bitartarato de potássio, onde há uma menor formação dos sais com um pH baixo e,

por fim, sobre a atividade enzimática, pois um pH baixo dificulta a ação de enzimas polifenoloxidase (PPO) responsáveis pela oxidação.

O pH dos mostos é considerado como um indicador para a qualidade dos vinhos (DESSEIGNE et al, 2003). Nos vinhos brancos, baixos valores de pH aumentam a vivacidade e brilho da cor amarela. Um pH baixo também tem influência na cor de vinhos brancos pois favorece reações redox de determinados compostos com o oxigênio do ar. As reações de escurecimento (oxidação) químico são dificultadas com um pH mais baixo. O pH baixo também favorece a estabilidade física, facilitando as clarificações por colagem, melhorando a limpidez e o brilho (VIGARA; AMORES, 2010).

Portanto, do ponto de vista técnico, um menor pH resulta em uma maior estabilidade e segurança em relação as alterações microbianas. No processo de vinificação, um pH mais baixo pode refletir numa maior rapidez de uma clarificação natural dos vinhos novos e numa melhor eficácia dos tratamentos enológicos de estabilização (doses menores de SO<sub>2</sub>), além de possibilitar um maior tempo de conservação do vinho envazado. Porém, uma excessiva acidez pode ser prejudicial ao sabor do vinho. No caso de vinhos brancos e vinhos espumantes se deve ter em conta o equilíbrio entre os sabores ácidos e doces (açúcares e álcoois) (VIGARA; AMORES, 2010; PEYNAUD; BLOUIN, 2010). O pH e a acidez são um dos parâmetros mais importantes para correlacionar com as características sensoriais, formas de estabilidade e coloração (ZOECKLEIN *et al.*, 1995).

A decisão do pH final do vinho vai depender muito de que tipo de vinho se pretende elaborar. Vinhos com pH em torno de 3,2 são mais estáveis do ponto de vista microbiológico e aguentam mais envelhecimentos prolongados, porém são muito mais duros e ácidos no paladar (VIGARA; AMORES, 2010).

### 3.10 DIOXIDO DE ENXOFRE (SO<sub>2</sub>) E SUA INTERAÇÃO COM O pH

Atualmente o dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) é o principal conservante utilizado na indústria vinícola, na elaboração de vinhos (GARCÍA-RUIZ, 2012). Segundo Ribéreau-Gayon et al. (2007), as principais propriedades do SO<sub>2</sub> são:

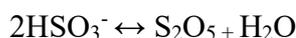
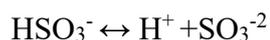
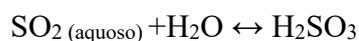
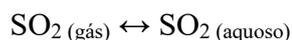
- antisséptico, inibindo o desenvolvimento de microrganismos e evitando, desse modo, a formação de turbidez por leveduras, refermentações de vinhos doces, o desenvolvimento de leveduras micodérmicas (flor), *bretanomyces* e a formação de etilfenol, de bactérias lácticas e acéticas e diversas alterações bacterianas. Sua atividade é maior sobre as bactérias do que sobre as leveduras;

- antioxidante, o SO<sub>2</sub> preserva os vinhos de uma oxidação muito intensa dos compostos fenólicos e de alguns elementos de aroma. Na oxidação química protege os vinhos combinando o oxigênio dissolvido segundo a reação:

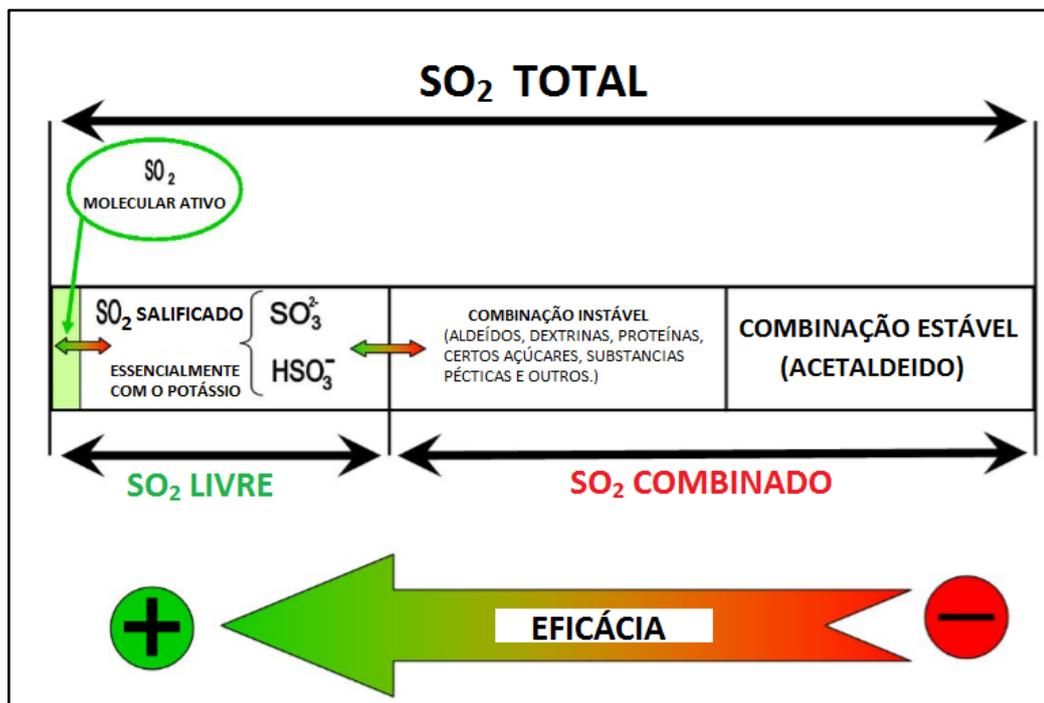


- no mosto age como antioxidante, inibindo instantaneamente o funcionamento das enzimas de oxidação (tirosinase e lacase), antes do início da fermentação. Evita igualmente a casse oxidativa dos vinhos brancos e tintos provenientes de uvas com podridão. Ao combinar-se com o acetaldeído e outros produtos similares protege o aroma dos vinhos.

Quando o dióxido de enxofre é dissolvido em solução aquosa ocorre um equilíbrio entre as diversas formas:



Em equilíbrio, tais formas são conhecidas como dióxido de enxofre livre sendo que a forma molecular (SO<sub>2</sub>) é a mais eficaz no controle do crescimento de leveduras e bactérias. Os íons bissulfitos (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) podem se combinar com aldeídos, dextrinas, substâncias pécticas, proteínas, cetonas e certos açúcares, formando o dióxido de enxofre combinado ou fixo (Figura 3). A proporção de dióxido de enxofre livre e combinado, depende da quantidade de açúcares, de acetaldeídos, da temperatura e do pH do vinho (RIBEREAU-GAYON et al., 2007; MANFROI, 2009; COSTA, 2010).

Figura 3 - Frações de SO<sub>2</sub> total com suas formas livres e combinadas

Fonte: Adaptado de Viticulture oenologie (2016).

Como visto anteriormente, quanto menor o pH, maior é a fração molecular do SO<sub>2</sub> que permanece livre, aumentando a sua eficiência. Esse efeito é demonstrado a seguir por meio da Tabela 1.

Tabela 1 - Variação da fração do SO<sub>2</sub> molecular com a mudança do pH

pH	SO <sub>2</sub> Molecular	Bissulfito (HSO <sub>3</sub> )
3,00	6,06	94,94
3,10	4,88	95,12
3,20	3,91	96,09
3,30	3,13	96,87
3,40	2,51	97,49
3,50	2,00	98,00
3,60	1,60	98,40
3,70	1,27	98,73
3,80	1,01	98,99
3,90	0,81	99,19
4,00	0,64	99,36

Fonte: Adaptado de RIBERÉAU-GAYON et al. (2007).

Segundo a Legislação Brasileira (Lei nº 10970 de 12/11/2004) é permitido no máximo 350 mg/L de dióxido de enxofre total. No entanto, a legislação não faz nenhuma referência à quantidade de SO<sub>2</sub> livre permitido nos vinhos, ficando a critério de cada empresa a escolha da quantidade de SO<sub>2</sub> para elaboração dos vinhos. A relação entre o SO<sub>2</sub> ativo (molecular) e o SO<sub>2</sub> livre só se modifica com o pH. Uma elevação de pH de 0,1 corresponde a uma perda de atividade do SO<sub>2</sub> em, aproximadamente, 25% (BLOUIN e PEYNAUD, 2006).

Apesar das suas qualidades tecnológicas e baixo custo, atualmente existe uma tendência mundial para reduzir os níveis máximos de SO<sub>2</sub> autorizados, diminuindo as doses usadas no processo e a consequente utilização de produtos alternativos. Isso principalmente devido ao aumento de problemas para a saúde humana, preferência dos consumidores, possíveis alterações organolépticas no produto final como aromas defeituosos produzidos pelo gás ou sua redução em sulfídrico e mercaptanos. Nos últimos anos se observou um aumento de pessoas com intolerância e sensibilidade a sulfitos. Alguns efeitos nocivos para a saúde humana são as dores de cabeça, dificuldades respiratórias, alergias e irritações (GARCÍA-RUIZ, 2012; TOIT; PRETORIUS, 2000).

### 3.11 AVALIAÇÃO DA COR EM VINHOS

A cor é um padrão de qualidade de qualquer alimento ou bebida, e é um atributo muito importante para avaliar a qualidade dos vinhos. Através dela se pode ter uma ideia da idade, da evolução no tempo e também de possíveis defeitos existentes no vinho. A cor pode influenciar significativamente a apreciação do aroma e do gosto do vinho, com uma forte participação na apreciação global (CRISTENSEN, 1983).

A cor pode ser avaliada por um observador visual ou através de um equipamento. A aparência depende da fonte de luz, do observador, do ângulo de visão e do fundo (GIESE, 2000). Os parâmetros para avaliação da cor têm de ser levados em consideração pelas medidas de cor instrumental. Ao contrário do olho humano, um colorímetro pode medir uma cor de forma precisa e simples, expressando as cores numericamente em função de padrões internacionais (GOSSINGER et al., 2008).

A espectrofotometria utiliza sensores (40 ou mais em alguns espectrofotômetros) para decompor o feixe de luz refletido ou transmitido em seus comprimentos de onda individuais. O espectrofotômetro mede a refletância espectral de um objeto em cada comprimento do espectro visível. A espectrofotometria fornece alta precisão e é normalmente utilizada na pesquisa e nas aplicações de formulação de cor (KONICA MINOLTA, 2017). Nos vinhos brancos, a cor

normalmente é avaliada pela análise em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm. Neste comprimento de onda pode-se avaliar a medida aproximada da cor desses vinhos considerando que esta onda de absorção é característica da cor amarela (RIBÉREAU-GAYON et al, 2007). Porém, além das medições com espectrofotômetro, podem também ser utilizados colorímetros para aumentar a credibilidade dos resultados.

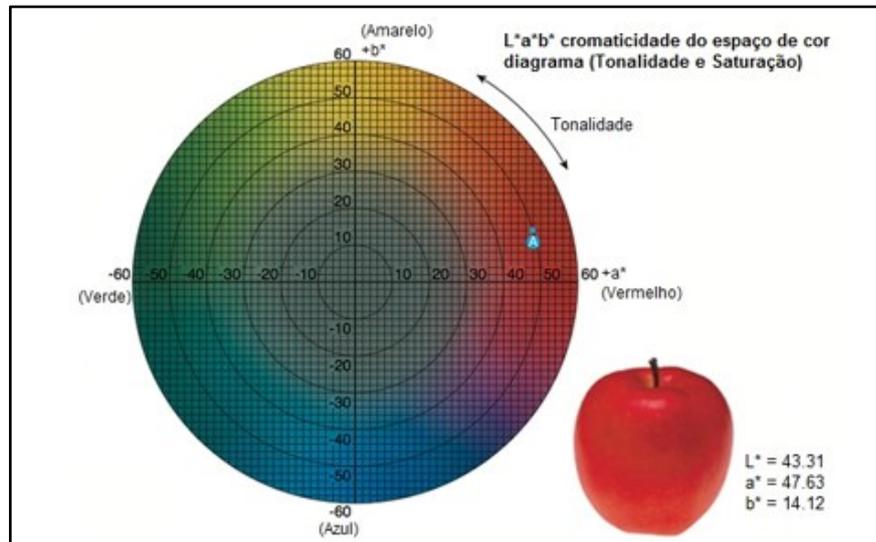
A colorimetria é a ciência da medição de cor, e é amplamente empregada no comércio, indústria e laboratórios de desenvolvimento para expressar a cor em termos numéricos e para medir as diferenças de cor entre amostras. As aplicações incluem tintas, plásticos, gráfica, vestuário, alimentos, bebidas, farmacêuticos, cosméticos, monitores e outros produtos e peças que refletem ou transmitem cor (KONICA MINOLTA, 2017). Na colorimetria, a quantificação da cor é baseada nos três componentes da teoria da visão colorida, que estabelece que o olho humano possui receptores para as três cores primárias (vermelho, verde e azul), e que todas as outras cores são vistas como misturas dessas cores primárias. Esses três componentes são conhecidos como coordenadas X-Y-Z. Um colorímetro que se baseia nessa teoria de percepção de cor, emprega três fotocélulas como receptores para “ver” a cor de maneira muito similar ao olho humano (KONICA MINOLTA, 2017).

Entre os espaços de cor mais amplamente utilizados para definir e expressar matematicamente esses atributos estão o espaço de cor CIE Yxy, estabelecido em 1931; e os espaços de cor CIELAB,  $L^*a^*b^*$  e  $L^*C^*h$  de 1976. Outros espaços de cor, como o CIE LUV, Hunter Lab, desenvolvido por Richard S. Hunter, e a notação de cor Munsell também são utilizados (KONICA MINOLTA, 2017).

O espaço CIELAB definido pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (C.I.E.) em 1976, foi criado para ajustar um dos problemas originais do espaço de cor Yxy. Distâncias iguais no diagrama de cromaticidade X, Y, não correspondiam com a percepção de diferenças de cor. Este é um método tristimular constituído pelas coordenadas  $L^*$  (luminosidade) que varia entre 0 a 100% (cor escura e clara),  $a^*$  e  $b^*$  (coordenadas vermelho/verde e amarelo/azul). São determinadas também as coordenadas cilíndricas C (cromaticidade) que descrevem a pureza e saturação, as quais, por sua vez, são medidas através da distância do centro do diagrama das coordenadas cromáticas, sendo que o centro é 0 para uma cor acromática e aumenta conforme se distancia do centro, e h (tonalidade), que é o termo utilizado na classificação geral da cor. Sendo que na região do espectro visível (380 – 700 nm) na qual grande parte da refletância de luz ocorre, a medição inicia no eixo  $+a^*$  e é expressa em graus no sentido anti-horário (KONICA MINOLTA, 1994). Como exemplo, para compreender o funcionamento dessas

medições, a Figura 4 demonstra a cor de um fruto (posição A circulado de azul) através da medição com um colorímetro a partir das coordenadas encontradas.

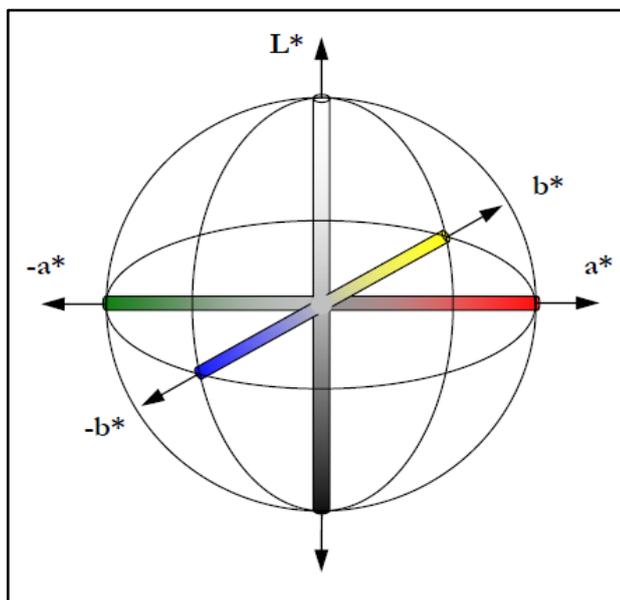
Figura 4 - Medição da cor de uma maçã com os valores  $L^*a^*b^*$



Fonte: Adaptado de KONICA MINOLTA (2017).

A Figura 5 demonstra a representação do sólido de cores para as coordenadas  $L^*a^*b^*$ . Uma particular cor tem uma única localização, especificada numericamente em um espaço tridimensional esférico, definido por três eixos perpendiculares: o eixo  $L^*$  (luminosidade) varia do preto (0) ao branco (100); o eixo  $a^*$ , do verde ( $-a$ ) ao vermelho ( $+a$ ) e o eixo  $b^*$ , do azul ( $-b$ ) ao amarelo ( $+b$ ). As medições que saem de um colorímetro são expressas em termos de X-Y-Z medidos da amostra, bem como outros valores de espaços de cores uniformes. Pela comparação dos valores de um padrão e amostra, o usuário não apenas tem uma descrição numérica da cor, mas também pode expressar a natureza da diferença de cor entre as duas amostras medidas. O colorímetro mostra a diferença de luminosidade, cromaticidade e tonalidade entre o padrão e a amostra (KONICA MINOLTA, 1998).

Figura 5 - Representação do sólido de cores para as coordenadas  $L^*a^*b^*$



Fonte: Adaptado de GUGEL (2007); KONICA MINOLTA

### 3.12 PRINCIPAIS METAIS DOS MOSTOS E VINHOS

Os teores de minerais dos mostos e vinhos podem estar relacionados com o tipo de solo, de clima, de cultivar, de porta-enxerto da videira, adubações efetuadas e tratamentos fitossanitários para controle das doenças fúngicas. Além disso, a tecnologia de vinificação, os produtos e as práticas enológicas adotadas, o contato do mosto e do vinho com materiais e equipamentos durante sua elaboração, conservação, estabilização e engarrafamento podem influenciar no teor de minerais dos mostos e vinhos (RIBÉREAU-GAYON et al, 2007).

A uva possui uma composição variada em elementos minerais, os quais são absorvidos através do sistema radicular da videira (DELAS; POUGET, 1984; ALVARENGA et al., 2004 apud RIZZON et al., 2008). A maioria dos cátions transportados nas plantas ocorre pela seiva do xilema, por isso este fato está diretamente relacionado com a quantidade de água transpirada pela planta (ANDRADE, 2012).

O potássio ( $K^+$ ) está essencialmente localizado nos vacúolos das células celulósicas dos tecidos vegetais da videira, porém as células da película da uva também possuem quantidades significativas deste composto. O potássio é um dos poucos minerais transportados pela seiva através do floema, assim como a translocação dos açúcares provenientes da fotossíntese. Deste modo, se pode dizer que, durante o período de maturação, o aumento da concentração de potássio nas uvas está diretamente relacionado com a acumulação de açúcar (ANDRADE, 2012).

O  $K^+$  é o cátion que está presente em maior concentração no vinho, seguido pelo cálcio ( $Ca^{2+}$ ) e pelo magnésio ( $Mg^{2+}$ ). Outros cátions estão presentes nos vinhos em menor quantidade, entre esses destacam-se o sódio ( $Na^+$ ), o magnésio ( $Mn^{2+}$ ), o ferro ( $Fe^{2+}$ ), o cobre ( $Cu^{2+}$ ), o zinco ( $Zn^{2+}$ ), o lítio ( $Li^+$ ) e o rubídio ( $Rb^+$ ) (RIZZON *et al.*, 2008). O potássio apresenta teores entre 0,5 e 2 g/L. Devido à sua extração durante a fase de maceração do mosto com as partes sólidas da uva e a capacidade dos fenóis para inibir a precipitação do bitartarato de potássio, o teor em potássio é normalmente mais elevado nos vinhos tintos que nos vinhos brancos (RIBERÉAU-GAYON *et al.*, 2007; DESSEIGNE *et al.*, 2003). O cálcio é um cátion que forma sais que geralmente são pouco solúveis. Normalmente sua concentração é um pouco maior nos vinhos brancos do que nos vinhos tintos (RIBERÉAU-GAYON *et al.*, 2007). A concentração de  $Mg^{2+}$  aumenta na maturação da uva e se concentra na película. No vinho, o  $Mg^{2+}$  contribui para a caracterização da tipicidade, sendo um elemento importante para a multiplicação e o metabolismo das leveduras (CRESWELL; ESCHENBRUCH, 1981).

A presença de cobre em vinhos poderá ser bastante diversificada, embora os teores raramente ultrapassem 0,2 mg/L (CURVELO-GARCIA, 1998). Dentre os principais fatores que influenciam nos teores de cobre nos mostos e vinhos, destacam-se os tratamentos cúpricos antifúngicos nas videiras, a pluviosidade ocorrida entre a sua aplicação e a vindima, os teores de dióxido de enxofre utilizados durante o processo de vinificação (devido à grande parte da precipitação do cobre durante a fermentação alcoólica sob a forma de sulfureto), o contato do meio com materiais de cobre ou de ligas deste metal, o potencial de oxidação-redução durante os diferentes processos tecnológicos envolvidos, além do fato de uma parte significativa do cobre apresentar uma natureza endógena (HSIA *et al.*, 1975; CURVELO-GARCIA, 1998). O excesso de cobre solúvel no organismo (hipercupremia) pode ser tóxico e precursor de algumas doenças como epilepsia, melanoma, artrite e outras (AZEVEDO *et al.*, 2003).

A determinação de metais em mostos e vinhos é comumente realizada por técnicas de espectrometria atômica devido à sua seletividade, alta sensibilidade e capacidade para determinações diretas. Dentre as técnicas mais utilizadas estão a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS). Outras técnicas, como a espectrometria de massa com plasma acoplado individualmente (ICP – MS) e espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado individualmente (ICP OES), também são reportadas na literatura para a caracterização mineral de vinhos. Todas essas técnicas têm vantagem e desvantagem sendo que a escolha depende muito do analito e da amostra a ser analisada (SKOOG, 2008; SOUZA, 2008; BOSCHETTI, 2012).

### 3.13 COMPOSTOS VOLÁTEIS NOS VINHOS

Segundo Ough et al. (1988), e De Ávilla (2002), a acidez volátil de um vinho, formada principalmente pelo ácido acético, se forma normalmente durante a fermentação alcoólica do mosto pelas leveduras e fermentação malolática pelas bactérias lácticas. Valores anormais de acidez volátil estão principalmente relacionados com a intervenção de bactérias lácticas anaeróbicas quando degradam açúcar residual, ácido tartárico e glicerol. As bactérias acéticas aeróbicas também formam ácido acético por oxidação do etanol (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007; DEÁVILLA, 2002).

Acidez volátil é expressa em meq/L ou em g/L de ácido sulfúrico ou de ácido acético. A fermentação alcoólica de um mosto conduzida normalmente leva a formação de 0,24 a 0,37 g/L de acidez volátil expressa em ácido acético (0,2 a 0,3 g/L em ácido sulfúrico ou 4,1 a 6,1 meq/L). Durante a fermentação malolática esse aumento pode variar de 0,12 a 0,24 g/L em ácido acético (0,1 a 0,2 g/L em ácido sulfúrico ou 2,0 a 4,1 em meq/L). Esse acréscimo de acidez volátil durante a fermentação malolática é devido à degradação do ácido cítrico por bactérias lácticas (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

De acordo com Ribereáu-Gayon et al. (2007), acidez volátil constitui um parâmetro químico físico controlado atentamente no curso da elaboração de vinhos. Ela faz parte da acidez total, porém representa uma parte quantitativa menor. O seu teor está ligado à qualidade dos vinhos, onde um excesso de acidez volátil na degustação de um vinho é o bastante para avaliá-lo negativamente, pois o principal ácido volátil é o ácido acético. Segundo a legislação brasileira, o teor máximo de acidez volátil (corrigida) é de 20,0 meq/L ou 1,2 g/L de ácido acético (BRASIL, 1988).

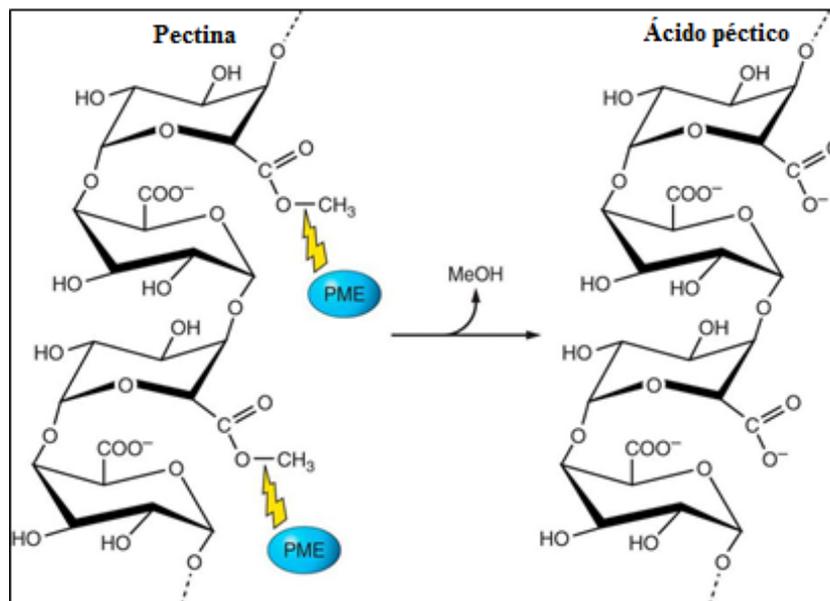
O vinho é obtido através da fermentação natural de uma solução açucarada e em uma composição química bem definida que vai exercer efeitos intensos na percepção dos diferentes compostos aromáticos ou gustativos. Todas as bebidas alcoólicas naturais são ricas não só em álcool etílico, mas também em outros metabólitos importantes da fermentação alcoólica, como é caso dos álcoois superiores ou de fusel, ácidos graxos e os seus ésteres etílicos, ácidos graxos ramificados e os seus ésteres etílicos, acetoína, diacetil, acetaldeído, entre outros (GONZÁLEZ, 2009).

Uma grande variedade de ácidos voláteis está presente nos vinhos. A acidez volátil do vinho é originada durante a fermentação pelas leveduras e outros microrganismos. O ácido acético é de primordial importância, uma vez que contribui com cerca de 90% da acidez volátil. Os ácidos butírico, 2-metil-propanoico e 3-metil-butanoico são produzidos pelas leveduras

durante o metabolismo de proteínas. Outros ácidos, como o ácido hexanóico, octanóico e decanóico também são formados pela atividade de leveduras, porém são produzidos a partir de ácidos graxos saturados. Todos esses influenciam negativamente os aromas dos vinhos (WELKE 2012; CLARKE; BAKKER, 2004).

O metanol não tem influência sensorial. Este álcool provém exclusivamente da hidrólise enzimática do grupo metoxila da pectina que são transformados em ácido pécico durante a vinificação (RIBERÉAU-GAYON et al., 2007). Na Figura 6 pode-se visualizar a transformação da pectina em ácido pécico e a formação de metanol. A uva é uma fruta com um teor relativamente baixo em pectina e, por isso, o vinho é a bebida fermentada com o teor mais baixo em metanol. O conteúdo de metanol está relacionado com a duração da fermentação na presença das partes sólidas e, devido a isso, os vinhos tintos possuem um teor maior de metanol do que vinhos rosés e brancos. A ingestão de quantidades altas de metanol pode causar toxicidade no organismo, principalmente no sistema nervoso central e nervo ótico (RIBERÉAU-GAYON et al., 2007). No Brasil, a legislação permite um teor máximo de 350 mg/L (BRASIL, 1998).

Figura 6 - Desmetilesterificação da pectina pela enzima pectinametilesterase (PME) com formação de metanol (MeOH)

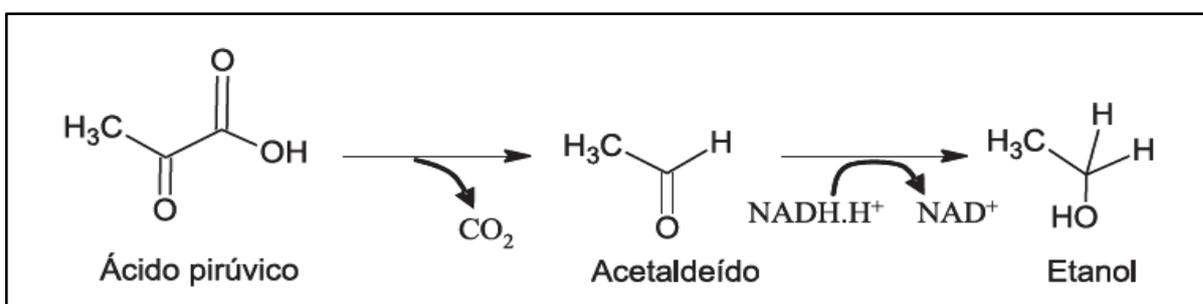


Fonte: adaptado de DOROKHOV et al. (2015).

O acetaldeído (etanal) é o principal aldeído presente no vinho, do ponto de vista quantitativo. É caracterizado como um composto de alta reatividade química (TOMASSET, 1998).

A maior parte do acetaldeído encontrado em vinho é resultante da oxidação microbiana do etanol em condições aeróbias, sendo que a sua principal via metabólica é através do processo fermentativo das leveduras durante a fermentação alcoólica quando o ácido pirúvico é transformado pela ação da enzima piruvato carboxilase. Na Figura 7 visualiza-se a via metabólica da fermentação alcoólica com a formação de acetaldeído e etanol. O acetaldeído pode ainda ser produzido, em pequenas quantidades, através da oxidação não enzimática (AZEVEDO, 2007; TOMASSET, 1998; PRIPIS – NICOLAU et al., 2000).

Figura 7 - Via metabólica da fermentação alcoólica com a formação de acetaldeído e etanol



Fonte: adaptado de AZEVEDO (2007).

Já os álcoois superiores são chamados dessa maneira pois possuem mais de 2 átomos de carbono em sua composição. Possuem odores gordurosos, oleosos, considerados desagradáveis em doses elevadas. Porém existem alguns aromaticamente mais agradáveis como triptofol, que possui aroma de rosas (PEYNAUD; BLOUIN, 2010).

Os álcoois superiores são principalmente de origem fermentativa e estão presentes em doses que variam de 150 a 550 mg/L. Esses álcoois, como os posteriores ésteres formados por eles, possuem um odor intenso podendo ter um importante papel no aroma dos vinhos (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

Os álcoois superiores são produzidos pelas leveduras a partir do metabolismo do açúcar, e também dos aminoácidos através da reação de Ehrlich. O teor desses álcoois varia em função das condições de fermentação (biomassa e temperatura elevada, intensidade de oxigenação, turbidez do mosto) e em particular da cepa de levedura. Carências no mosto de nitrogênio amoniacal e do íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) conduzem um incremento na formação de álcoois superiores devido à uma maior utilização de aminoácidos pelas leveduras (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

O 1-propanol é um álcool superior geralmente encontrado no vinho com teor médio de 30 mg/L (RIBÉREAU-GAYON et al., 2007). Um teor elevado desse componente está

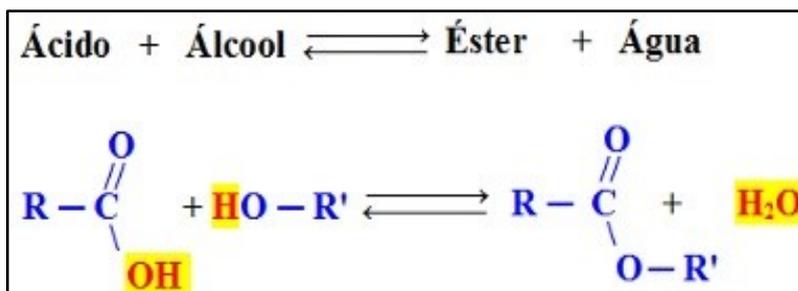
relacionado com aroma desagradável que encobre a fineza aromática dos vinhos (RIZZON; MIELE, 2009). Hexanol tem um aroma descrito como grama verde, ervas, e tem um sabor de “vegetal” que se reflete no sabor dos vinhos em que está presente em uma quantidade suficiente (CLARKE; BAKKER, 2004). O 2-Feniletanol que tem como descritor aromático floral é considerado um dos álcoois aromáticos mais importantes para a qualidade sensorial dos vinhos (MARTI, 2003).

Os álcoois superiores quando acetilados através da atividade esterásica das próprias leveduras originam os ésteres. Eles são produzidos por uma reação enzimática dos derivados dos ácidos graxos da Coenzima A e os álcoois livres. A síntese dos ésteres baseia-se principalmente pelas enzimas do tipo álcool acetil coenzima A (FLANZY, 2000).

Os ésteres etílicos (ésteres dos ácidos graxos) e os acetatos (grupo funcional derivado do ácido acético) constituem a trama dos aromas fermentativos de tipo floral e representam o maior grupo de compostos com impacto organolépticos produzidos durante a fermentação alcoólica conferindo aromas agradáveis no caso de fermentações com mostos límpidos e temperaturas baixas. O frescor e aroma frutado de vinhos jovens derivam, em grande parte, da presença de uma mistura de ésteres produzidos durante a fermentação, como o acetato de isoamila que atribui o aroma de banana ou acetato de feniletila que atribui o aroma de rosas (LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000; PEYNAUD; BLOUIN, 2010).

Todos os tipos de ésteres são considerados especialmente importantes. De forma que aromas secundários, provenientes da fermentação e, por vezes, aromas terciários, decorrentes do envelhecimento são igualmente importantes (CLARKE; BAKKER, 2004). Os ésteres são originados por uma reação de uma função alcoólica R-OH com uma função ácida R-COOH, tendo na reação a eliminação de uma molécula de água (Figura 8). Essa reação é reversível (hidrólise do éster) e o equilíbrio existente é regulado pela lei de ações de massa entre os compostos presentes (RIBÉREAU-GAYON et al., 2007); (CLARKE; BAKKER, 2004).

Figura 8 - Demonstração da reação de esterificação e hidrólise dos ésteres



Fonte: Adaptado de FOGAÇA (2016).

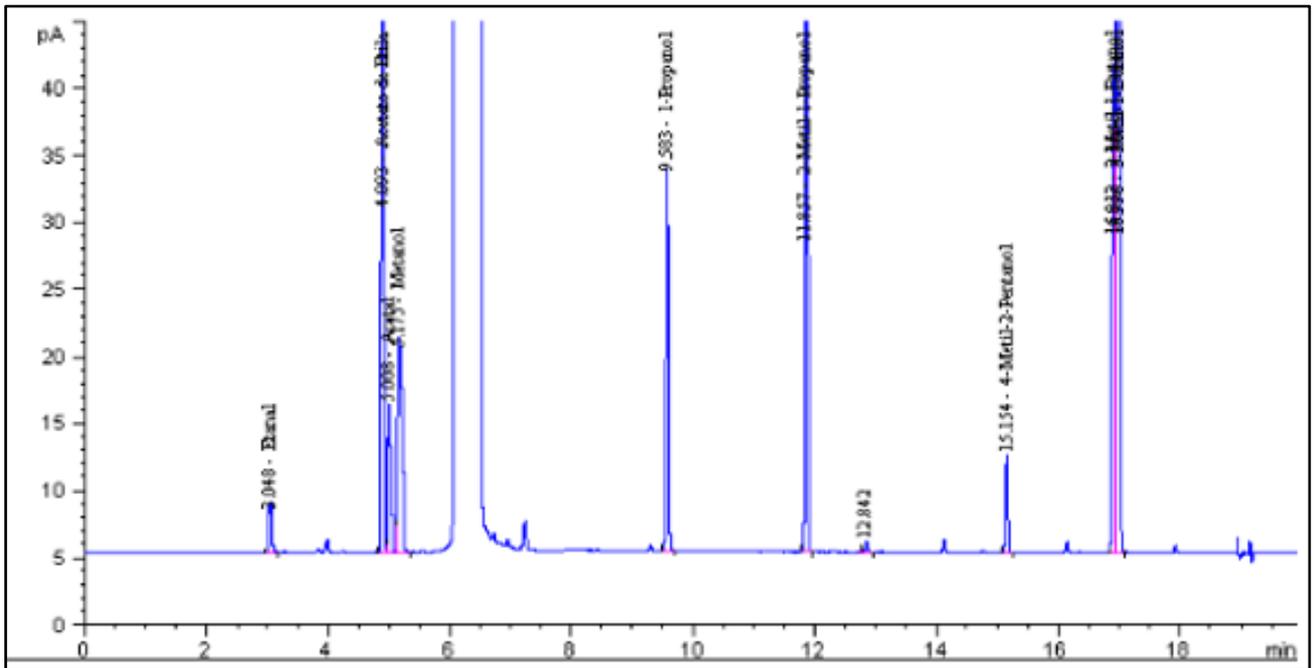
Os vinhos possuem uma quantidade teórica muito grande de esterificações pois apresentam quantidades elevadas de álcoois e ácidos. Os ésteres etílicos são os mais abundantes devido à reatividade dos álcoois primários e à quantidade de etanol muito maior que outros álcoois. Os processos fermentativos aportam esterificações de natureza enzimática e a conservação dos vinhos aporta esterificações químicas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2007). Esses aromas de ésteres desaparecem inevitavelmente com o tempo, por hidrólise química ou enzimática natural, de forma acelerada com temperatura elevada ou em presença de esterases provenientes da podridão. São praticamente ausentes dos caracteres olfativos dos vinhos com mais de 1 a 3 anos (PEYNAUD; BLOUIN, 2010).

O éster em maior concentração nos vinhos é o acetato de etila e tem cheiro denominado “acescência” característico do vinagre (éster formado a partir do etanol e ácido acético). O acetato de etila provoca sensação desagradável de secura na mucosa bucal e realça a aspereza do vinho por ocasião do consumo (PEYNAUD; BLOUIN, 2010; RIBÉREAU-GAYON et al., 2007).

O aldeído hexanal é um produto da degradação oxidativa de ácidos graxos insaturados em alimentos. Este aldeído contribui com o odor final indesejável e pode ser encontrado em concentrações crescentes durante a estocagem dos produtos alimentícios. O limite de percepção do hexanal em água é de 4,50 µg/L. Nos vinhos o hexanal está associado ao aroma “amadeirado” da bebida, sendo esta característica frequentemente descrita em vinhos velhos e oxidados (ESCUADERO, 2002; AZEVÊDO, 2007). O Quadro 1 demonstra alguns compostos voláteis presentes no vinho com seus descritores aromáticos e limiares de percepção.

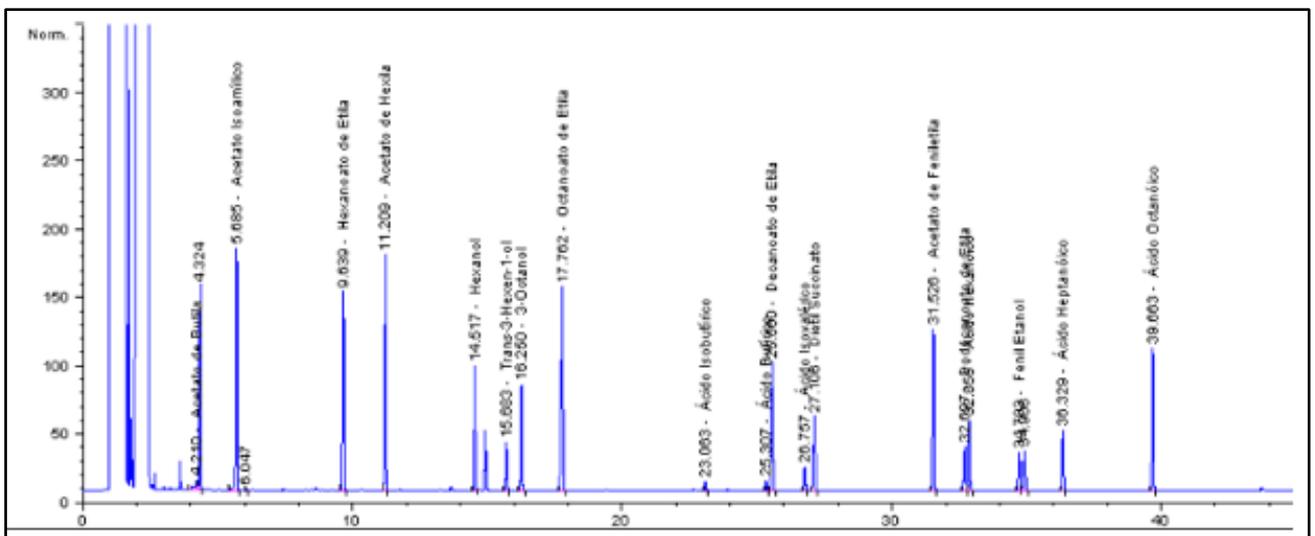
Entre as técnicas para avaliação de compostos voláteis, a cromatografia gasosa é uma técnica físico-química de separação que permite a análise de compostos voláteis a partir de diferentes interações dos analitos com a fase estacionária, bem como sua identificação e quantificação por parte de um sistema apropriado de detecção (FALCÃO et al., 2008). Nesta técnica, a amostra introduzida é vaporizada no injetor e carregada pelo gás de arraste através da coluna onde é separada. A temperatura da coluna é controlada dentro de um forno. Os componentes isolados são detectados individualmente e o sinal do analito gerado é enviado para um sistema de registro de dados que permite quantificar os componentes da amostra individualmente (DO NASCIMENTO, 2007; LANÇAS, 1993). Nas Figuras 9 e 10 é possível visualizar um exemplo de como são apresentados e registrados os analitos através de um software de computador. No quadro 1 é possível verificar alguns compostos voláteis juntamente com seus descritores aromáticos e seus limiares de percepção em diferentes compostos.

Figura 9 - Tempo de retenção do Etanal, Acetato de Etila, Metanol e Álcoois Superiores



Fonte: UCS (2016).

Figura 10 - Tempo de retenção dos Ácidos Graxos, Ésteres, Ácidos Voláteis e Acetato



Fonte: UCS (2016)

Quadro 1 - Compostos voláteis presentes nos vinhos, descritores aromáticos e seus limiares de percepção

(continua)

<b>Compostos Voláteis</b>	<b>Descritores Aromáticos</b>	<b>Limiar de Percepção (mg/L)</b>
<b>COMPOSTOS LEVES</b>		
<b>Metanol</b>	-	-
<b>Acetaldeído</b>	Nozes, maçã cortada, pungente (concentrações altas)	100**; 0,021*****
<b>ALCOÓIS</b>		
<b>1-propanol</b>	Pungente, duro	500**
<b>2-metil-1-propanol</b>	Alcoólico, frutado, etéreo	0,0032*****
<b>2-metil-1-butanol</b>	Solvente, pungente	65*
<b>3-metil-1-butanol</b>	Solvente, frutado	0,00025*****; 300**
<b>2- Feniletanol</b>	Rosas, mel	10*
<b>Hexanol</b>	Gramma verde, ervas, Cognac	0.004**
<b>Cis-3-hexan-1-ol</b>	Gorduroso, frutado	0.00025 *****
<b>Trans-3-hexen-1-ol</b>	Herbáceo, grama	1,55*****
<b>ÁCIDOS VOLÁTEIS</b>		
<b>Ácido Octanóico</b>	Queijo ranço, ácido graxo, ceroso, coco	0,5**
<b>Ácido Decanóico</b>	Gorduroso, ceroso, óleo de palma	1**
<b>Ácido Dodecanóico</b>	Seco, metálico, oleoso	1**
<b>Ácido Isobutírico</b>	Queijo	2,3**
<b>Ácido Butírico</b>	Rançoso	0.00024*****
<b>Ácido Hexanóico</b>	Rançoso, suado, azedo	0,42**
<b>Ácido Isovalerânico</b>	Queijo ranço	2**
<b>ACETATOS</b>		
<b>Acetato de isoamila</b>	Banana, frutado, verde, pera	0,03**; 0.03*
<b>Acetato de hexila</b>	Doce, perfume	0.7**
<b>Acetato de butila</b>	Fruta, abacaxi	0,001**
<b>Acetato de feniletila</b>	Rosa, floral	0,25**

(conclusão)

<b>ÉSTERES ETÍLICOS</b>		
<b>Hexanoato de Etila</b>	Frutado, morango, maçã verde, abacaxi, maçã, anis, floral	0,014**; 0,062**; 0.05*
<b>Octanoato de Etila</b>	Doce, frutado, queimado, cerveja, sabonete doce	0,005**; 0.02*
<b>Decanoato de Etila</b>	Floral, sabonete	0,2**; 0,2*****
<b>Dodecanoato de Etila</b>	Gorduroso, oleoso, floral	0,2**
<b>OUTROS</b>		
<b>Acetato de Etila</b>	Pungente, solvente, frutado-etéreo, frutado, doce	12,264**; 7,5*
<b>Hexanal</b>	Fruta não amadurecida, grama cortada, herbáceo	0,0045** a 0,005**
<b>Dietil Succinato</b>	Envelhecimento, melão	200**

Limiar de percepção: \* 10% Etanol; \*\* Vinho; \*\*\* Vinho Tinto; \*\*\*\*\* Vinho Sintético; \*\*\*\*\* Água.

Fonte: adaptado de CLARKE; BAKKER (2004); JACKSON (2009); WELKE (2012); GABARDO (2015); LAMBRECHTS; PRETORIUS (2000); RIBEREÁU-GAYON et al. (2007); PINHEIRO; PASTORE (2003); SIMÕES et al. (2009); SWIEGERS (2005); FERREIRA et al. (2000); JORDAN et al. (2002); LOUW et al. (2010).

### 3.14 CINÉTICA FERMENTATIVA

A fase inicial do ciclo de crescimento de microrganismos é chamada de fase de adaptação, latência ou *lag*. Neste período, no caso das leveduras, as células inoculadas no mosto se adaptam a este novo ambiente, respondendo às mudanças da pressão osmótica apresentadas pelos altos níveis de açúcares do mosto, por isso não ocorre aumento populacional das células. Um discreto aumento da população pode ser observado no final da fase de latência (DEL NOBILE et al., 2003).

Após a adaptação das leveduras às condições do mosto, tem início a fase de desenvolvimento celular, conhecida como fase exponencial, logarítmica ou *log*, caracterizada pelo aumento populacional, onde ocorre formação da população máxima de leveduras. Esta fase é influenciada pela temperatura, concentração de nitrogênio prontamente assimilável (NPA), entre outros nutrientes como minerais e carboidratos além da presença do gás oxigênio (LAFON-LAFOURCADE, 1984; SABLAYROLLES et al., 1996; SABLAYROLLES; BARRE, 1986).

Durante a fase exponencial, as leveduras aumentam a população em até  $10^7$ - $10^8$  células/mL. Nesta fase, ocorre a produção máxima de etanol que pode durar de 3 a 6 dias, dependendo da temperatura. Depois deste período, cessa o crescimento das leveduras, devido à escassez de alguns nutrientes. Posteriormente, tem início a fase estacionária que dura de 2 a 10 dias. Nesta fase, a população de leveduras se mantém estável. Após este período, inicia-se a fase de declínio celular, onde a população de leveduras decresce gradativamente devido à falta de nutrientes, efeito tóxico do etanol, bem como síntese de outras substâncias oriundas do processo fermentativo que são tóxicas para as leveduras (LAFON-LAFOURCADE et al., 1984).

A concentração de nitrogênio (N) no mosto afeta o número de células presentes e regula o fluxo de carbono na glicólise (BOULTON et al., 1996). As leveduras são capazes de sintetizar todos os compostos nitrogenados que necessitam a partir do nitrogênio amoniacal que representa a forma nitrogenada mais facilmente assimilável (USSELIO-TOMASSET, 1995). A cinética da fermentação e a produção de aromas e metabólitos secundários podem ser em parte dependentes da qualidade e quantidade de nitrogênio no mosto (PRIEST; CAMPBELL, 1996). O pH afeta o transporte ativo das leveduras na absorção de nitrogênio onde um pH abaixo de 3,25 pode reduzir em 50% a produção de biomassa pelas células quando comparado com um pH 4, por exemplo (HENSCHKE; JIRAKEN, 1994).

O nitrogênio é um elemento essencial na vida das leveduras, fazendo parte da constituição da célula. O nitrogênio assimilável encontrado nos mostos é basicamente constituído por nitrogênio amoniacal (mineral, formado pelo cátion  $\text{NH}_4^+$ ) e aminoácidos (orgânicos, em torno de 20). Em média, para mosto com álcool provável de 12 % vol., são necessários 150 mg/L de nitrogênio prontamente assimilável (NPA), sendo 50 mg/L de nitrogênio amoniacal. Em mostos pobres em nitrogênio (normalmente clarificados) é necessária a realização de uma adição exógena para levar ao término a fermentação. A metabolização de aminoácidos pela levedura, no início da fermentação, é importante pois esses são precursores, por exemplo, dos álcoois superiores. Uma menor concentração de aminoácidos supõe uma menor concentração de seus respectivos ésteres (GRANÉS, 2006; BLOUIN; PEYNAUD, 2006; VIGARA; AMORES, 2010).

O conteúdo de nitrogênio presente no mosto tem também influência na velocidade fermentativa. A maior parte do tempo na fermentação alcoólica é realizada na fase estacionária. Neste período, não ocorre multiplicação celular, porém, as células das leveduras necessitam de nitrogênio para manter seu metabolismo ativo (THAILLANDIER et al., 2007; GUTIÉRREZ, 2012). Uma adição maior do que a necessária de nitrogênio proporciona uma grande

multiplicação celular. No entanto, isto pode formar leveduras menos resistentes e uma maior competição por nutrientes. Em anaerobiose restrita, a levedura tem dificuldade de absorver o nitrogênio. Por isso, é importante adicionar NPA no primeiro terço da FA junto com a incorporação de oxigênio (O<sub>2</sub>) ao mosto para facilitar a absorção (FERREIRA, 2011).

Beltran e Guillamon (2009) estabeleceram uma quantidade de nitrogênio consumido pelas leveduras por grama de açúcar consumido (miligramas de nitrogênio por gramas de glicose ou frutose). Esta quantidade corresponde a um valor entre 0,61 a 0,91 mg de nitrogênio por grama de açúcar, dependendo da cepa de levedura predominante na fermentação.

Gutiérrez (2012), Vigara e Amores (2010) explicam que as fontes de NPA presentes nos mostos dependem do clima, dos solos, das safras, da maturação da uva das cultivares, uso de fertilização nitrogenada nas videiras, cobertura vegetal no solo, irrigação, déficit hídrico (menor quantidade de nitrogênio), técnicas enológicas e outros. Eles também definem basicamente a composição do mosto da seguinte forma: “amônio (3-10%), aminoácidos (25-40%), polipeptídios (25-40%) e proteínas (5-10%)”. A maior quantidade de substâncias nitrogenadas na uva encontra-se nas películas e sementes, por isso em mostos brancos clarificados há uma perda de até 30% do nitrogênio assimilável. A clarificação também empobrece o mosto em ácidos graxos e esteróis indicando que não é somente o nitrogênio o responsável pela nutrição das leveduras. Assim, é importante adicionar produtos nutricionais mais complexos que garantam uma fermentação estável até o final da fermentação (GRANÉS, 2006).

Nas vinificações com carência de nitrogênio assimilável, as leveduras fazem uso dos compostos enxofrados presentes no mosto, podendo haver a formação de derivados que possuem aromas desagradáveis. Os compostos de enxofres leves mais comuns são o ácido sulfídrico, metanotiol e etanotiol (entre outros tióis). Esses são responsáveis pelos defeitos de aroma que dão origem a descritores do tipo ovo podre, alho, cebola, borracha queimada e couve. Estes compostos, por serem altamente voláteis, não representam um grande problema de ordem tecnológica, pois podem ser facilmente removidos através de um arejamento. No entanto, os compostos “pesados” representam um maior problema no ponto de vista enológico (FERREIRA, 2011).

Os compostos “pesados” possuem limiares de percepção olfativa menores do que os compostos mais leves, dando origem a aromas desagradáveis em concentrações muito baixas. Além disso, podem gerar compostos de peso molecular mais baixo, ainda mais odoríferos como, por exemplo: sulfureto de dietil, disulfureto de dietilo e disulfureto de dimetilo. Esses compostos podem dar origem a aromas cujos descritores são os vegetais cozidos, cebolas e

borracha (CHATONNET et al., 1992; ANOCIBAR BELOQUI et al., 1995; DARRIET et al., 1999; MESTRES et al. 2000; FERREIRA, 2011).

Além do nitrogênio, as leveduras requerem uma vasta gama de metais para seu crescimento e suas funções metabólicas. A nutrição mineral da célula é, portanto, muito importante para garantir o sucesso da fermentação, particularmente no processo de produção de álcool (WALKER, 2004). Segundo Stehlik-Thomas et al. (2004) nutrientes como magnésio, manganês, zinco, cobre, ferro entre outros são muito importantes como cofatores de muitas enzimas, sendo vitais para todos os organismos.

O magnésio é o cátion bivalente intracelular mais abundante e constitui algo em torno de 0,3% do peso seco da levedura e atua como cofator enzimático para mais 300 enzimas envolvidas em diferentes vias metabólicas e bioenergéticas (síntese de DNA e ATP). O magnésio desempenha papéis multifacetados na fisiologia das células de levedura nos níveis citológicos, bioquímicos e biofísico. É muito importante no processo de fermentação industrial sendo necessário para ativação de várias enzimas glicolíticas (WALKER, 2004). A biodisponibilidade no meio, a absorção celular e a utilização metabólica posterior de íons de  $Mg^{2+}$  pelas células parece ser um pré-requisito para a realização da atividade fermentativa da célula de levedura (WALKER, 1994).

Para um controle do andamento da fermentação, normalmente, o enólogo acompanha a densidade e temperatura do mosto através da transformação do açúcar (densidade aprox. =1,6 g/mL) em álcool (densidade aprox. = 0,8 g/mL) e desprendimento de  $CO_2$  (aprox. 12g/L a cada 1% vol). Porém, pode-se adotar outros métodos, como a medição do volume de  $CO_2$  liberado (BLOUIN; PEYNAUD, 2006). Com a saída de gás do tanque ou recipiente de fermentação, ocorre uma diminuição de massa do mosto que somente cessa quando todo o açúcar é consumido. Dois tipos de dados podem ser obtidos: diminuição da massa de todo o conjunto (fermentador + anexos + mosto) e diminuição da massa do mosto, calculada a partir da massa do “fermentador + anexos” e da massa inicial do mosto (MALAJOVICH, 2009).

### 3.15 RESINAS DE TROCAS IÔNICAS E SUA APLICAÇÃO NA ENOLOGIA

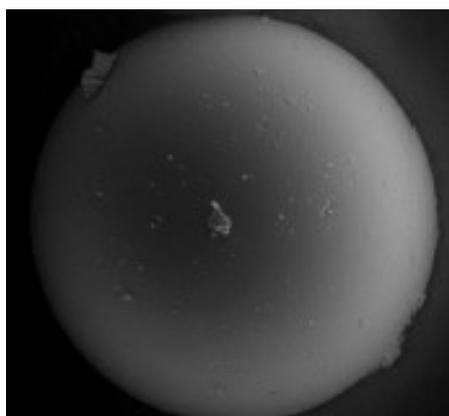
A descoberta do fenômeno de troca iônica, ocorrida em 1852, é atribuída aos químicos ingleses Thompson e Way, que investigavam as propriedades do solo. Porém, a primeira resina de troca iônica sintética foi fabricada por outros ingleses, Adams e Holmes, no ano de 1935,

por condensação de vários fenóis e de formaldeído com poliamida, tornando possível, pela primeira vez, a desmineralização da água em escala industrial com resinas formofenólicas (ANDRADE, 2012).

Posteriormente, surgiram os permutadores à base de poliestirenos, catiônicos e aniônicos de 2ª geração utilizados na desionização parcial da água, apresentando um desempenho aceitável, no entanto, quando utilizados na filtração de sumos, não eram eficientes devidos à sua baixa porosidade. Seguidamente, apareceram as resinas de 3ª geração, designadas como resinas macroporosas, e as de 4ª geração, formadas de poliacrílicos, que devido às suas características apresentam uma boa estabilidade mecânica, assim como boa resistência ao contato com ácidos (DARDEL; ARDEN, 1989; ABRAMS; MILLAR, 1997).

Industrialmente, a utilização de trocadores iônicos teve início do século XX com a aplicação de silicatos naturais de alumínio, mas que apresentavam uma capacidade de troca muito baixa. Posteriormente, constatou-se que os átomos de carbono sulfonados originavam trocadores de íons, que eram quimicamente e mecanicamente estáveis. As resinas de troca iônica podem ser aniônicas ou catiônicas. As resinas aniônicas distinguem-se devido ao grupo funcional aminado  $\text{NH}_3\text{OH}$ , capaz de fixar ânions e de permutá-los entre si. Já as resinas catiônicas possuem radicais de função ácida do tipo sulfônico  $\text{HSO}_3$  ou carboxílico  $\text{HCO}_2$ , capazes de fixar cátions e de realizar trocas entre si (SIMÕES, 2014). A Figura 11 mostra a imagem de uma resina com um aumento de 150X.

Figura 11 - Imagem de uma resina com aumento de 150X



Fonte: KALARUBAN et al. (2015).

A utilização de resinas de trocas iônicas na enologia surgiu por volta de 1945, sendo desde o início um tema muito discutido, sobretudo em países como Espanha, França e Itália

(MELERO, 2009). Segundo Hernández e Minué, (1997), a primeira aplicação em vinhos foi para estabilização tartárica mediante uso resinas de forma sódica.

Segundo definição da OIV (1995), enquanto prática enológica, a troca iônica é uma troca reversível de íons entre um líquido e um sólido, na qual o primeiro (vinho) não sofre alterações substanciais, enquanto que o sólido (trocador) é uma resina sintética insolúvel e permeável, que pode trocar íons com o vinho no qual está em contato.

As resinas de trocas iônicas para mostos e vinhos são constituídas por materiais sintéticos polimerizados chamados estireno e divinilbenzeno. São denominadas resinas porque a matriz porosa tridimensional que suporta os grupos “trocadores” é constituída por uma resina sintética que é obtida por condensação e polimerização. O polímero obtido é chamado de poliestireno, sendo termoplástico e solúvel em diversos solventes orgânicos. Por sulfonação, reação provocada pela introdução de radicais sulfônicos, se obtém um derivado solúvel em água. Para conseguir a matriz ou mistura porosa tridimensional é preciso adicionar um agente reticulante chamado divinilbenzeno que, no momento da polimerização, tem o papel de formar “pontes” entres as cadeias de poliestireno (MIRA et al., 2006). Após este processo, o polímero adquire uma forma polimerizada tornando-se totalmente insolúvel (MIRA, 2004).

As resinas catiônicas são fortemente encapsuladas conferindo uma elevada estabilidade químico-física e apresentam-se como microesferas compreendidas entre 0,3 e 1,2 mm. Assim que carregadas com íons  $H^+$  através de uma lavagem com um ácido mineral, elas agem por contato direto com o líquido, intercambiando os íons  $H^+$  com os cátions  $K^+$  e  $Ca^{2+}$  (fundamentalmente de mesma carga) principalmente. Essa troca iônica (troca estequiométrica), ao retirar os cátions, faz com que o pH diminua e libere maior quantidade de ácido tartárico que se encontrava na forma de sal, aumentando ligeiramente a acidez total. (AEB-group, 2011). Segundo Dyer et al. (1993), a vida útil das resinas pode chegar a estabilizar 140.000.000 de litros de vinho. Essas resinas são caracterizadas também por sua estabilidade térmica, pois o grupo sulfônico presente não se hidrolisa nem a  $120^{\circ}C$  (PERRY; GREEN, 2001).

O radical ativo das resinas catiônicas é geralmente sulfônico ( $-SO_3H$ ) mas, como descrito anteriormente, o ácido carboxílico também pode ser utilizado. A taxa de permuta de íons depende do tipo de resina: tamanho da esfera, porosidade e distensibilidade (elasticidade). Uma resina geralmente tem uma afinidade específica para cada um dos diferentes íons. Este fenômeno é devido à vários fatores, incluindo a estrutura polimerizada da matriz, as características químicas dos radicais, capacidade de troca e do pH. Segundo Ribéreau-Gayon et al. (1977) e Andrade (2012), no caso de cátions, as leis de afinidade indicam:

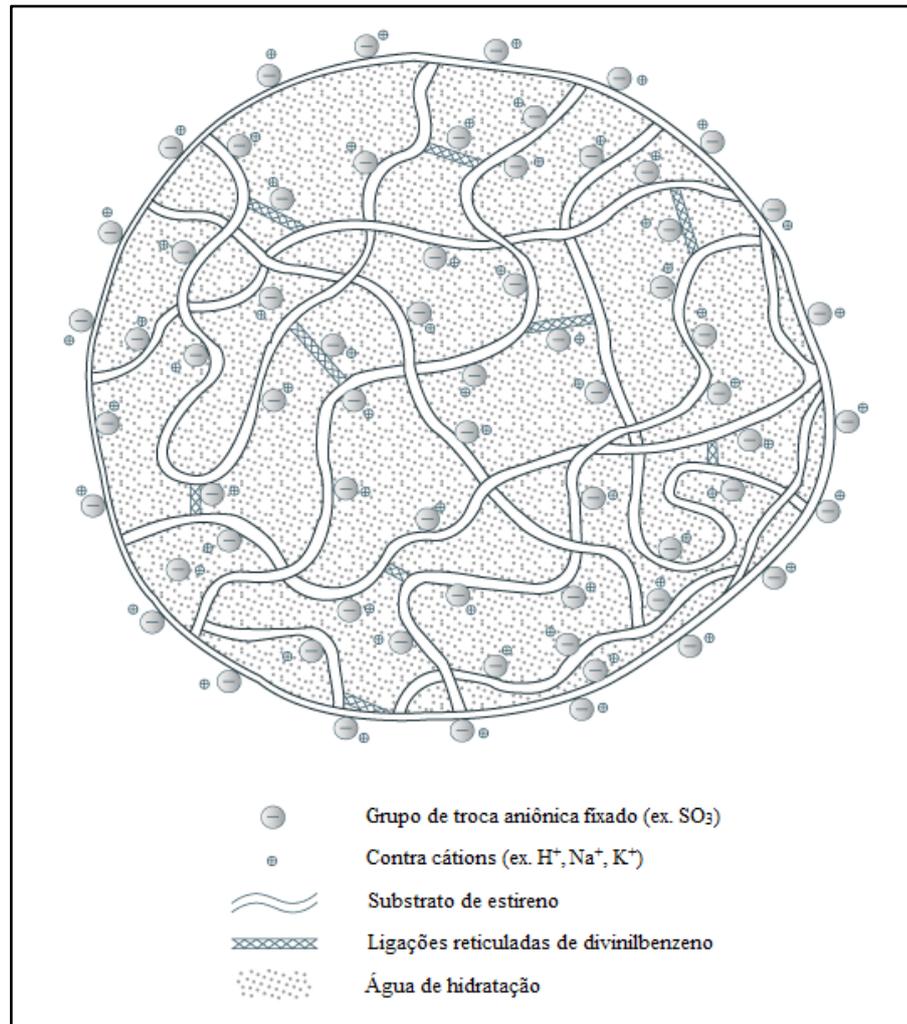
- a facilidade de troca aumenta com a valência ( $K^+ < Ca^{2+} < Al^{3+}$ ) do permutador de íons. Isto significa que, os íons bivalentes do vinho, tais como cálcio e magnésio, são fixados na resina preferencialmente em relação aos íons monovalentes de sódio e potássio;
- se dois íons têm a mesma valência, a facilidade de troca aumenta com o número atômico. O potássio é fixado, preferencialmente, ao sódio e, o cálcio, preferencialmente, ao magnésio.
- no caso de metais pesados, presentes no vinho sob a forma de complexos, a capacidade de fixação depende da estabilidade (constante de dissociação) do novo complexo formado pelo metal pesado e o trocador. As resinas são definidas pela sua capacidade de troca, ou pela quantidade total de íons que podem ser mobilizados por unidade de massa de resina. A troca é expressa em meq/g de cátions trocados ou pelo peso em miliequivalente de resina.

Antes da passagem dos mostos ou vinho, a resina é regenerada com  $H^+$  e, depois, lavada com água (se possível, isenta de cátions) para remover o ácido em excesso no permutador. As resinas catiônicas trocam em torno de 4-5 meq/g; o peso do miliequivalente de resina é, portanto, de 200-250 mg (RIBEREAU-GAYON et al., 2007).

A temperatura é também um fator importante nas cinéticas de troca, sendo limitante para a estabilidade dos grupos ativos dos permutadores aniônicos. Já para os trocadores catiônicos, o aumento da temperatura promove o aumento da cinética de troca (SIMÕES, 2014).

No processo de troca iônica, a resina apresenta-se como um retículo poroso tridimensional com cargas elétricas na superfície e nos poros ligadas a um íon (Figura 12). Esses íons são móveis e podem ser trocados por outros íons de mesma carga provenientes da solução por um processo de difusão (MIRA et al., 2006).

Figura 12 - Estrutura básica de uma esfera de resina de troca iônica



Fonte: Adaptado de AEB-group.

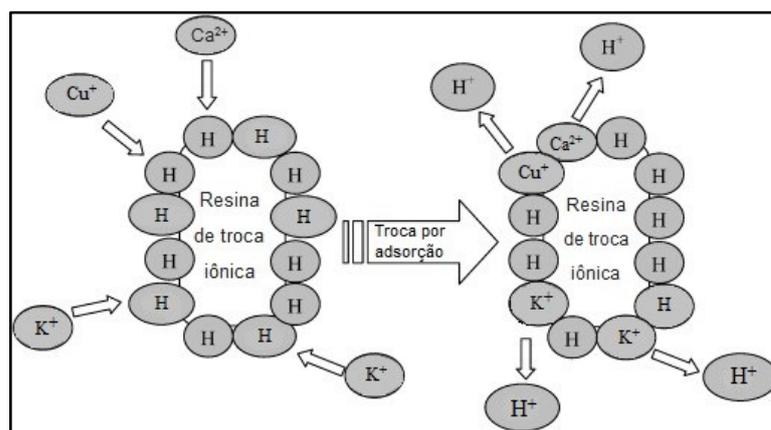
Antes da primeira utilização, as resinas devem ser lavadas com a finalidade de retirar qualquer detrito resultante da fabricação. Em seguida, devem ser hidratadas. Após este processo é feita a ativação dos grupos ativos fazendo circular uma solução condicionadora, a qual lhes fornece os íons para a troca. Esta ativação é usualmente chamada condicionamento dos grupos ativos e, a solução utilizada, solução condicionadora. Posteriormente, durante o ciclo de trabalho e após a saturação das resinas pelos íons retidos, estes são removidos e substituídos por outros, neste caso utiliza-se uma solução regenerante (solução com 5 a 10% de  $\text{HCl}$  ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  no caso de trocas catiônicas). Esta operação é denominada regeneração. Após a regeneração da resina se reinicia o processo (MIRA, 2007; MELERO, 2009).

Para o tratamento de mostos e vinhos é recomendável que este esteja o mais límpido possível, aumentando a vida útil da resina e da troca iônica. É importante não haver restos de bentonite, gelatinas, carvões ou qualquer outro sólido insolúvel. Normalmente só uma fração

entre 5 a 25% do líquido passa pela resina, sendo a quantidade suficiente para retirar o potássio que se encontra em excesso e que pode causar instabilidade tartárica, no caso da utilização com essa finalidade (BEROVIC; KOSMERL, 2008). Uma característica importante das resinas deve ser sua seletividade, agindo somente em determinados cátions. Quando se trabalha em meio como o vinho, que possui diversos cátions, é importante que se possua essa característica (BORDEU; CRISTI, 2001).

A troca de cátions em mostos e vinhos mediante resinas de troca iônica tem com princípio o intercâmbio reversível de cátions entre um líquido (mosto ou vinho) e um sólido. Este fato permite diminuir principalmente os sais de  $K^+$  e  $Ca^{2+}$ , mas também outros como  $Na^+$  e  $Mg^{2+}$ , deixando o vinho mais estável do ponto de vista das precipitações tartáricas. Sendo assim, há diminuição do estado de sobressaturação do hidrogenotartarato de potássio e do tartarato neutro de cálcio, permitindo uma melhor solubilidade, evitando uma posterior cristalização e precipitação (RIPA et al., 2013). As resinas de troca catiônica para estabilização tartárica oferecem uma alternativa de tratamento para vinhos difíceis de estabilizar com frio, pois se baseia na eliminação do cátion K, diminuindo o produto de solubilidade, permitindo alcançar uma estabilização completa (FLANZY, 2003; HIDALGO, 2003). Para melhor compreensão, na Figura 13 pode-se visualizar, de forma esquematizada, a troca de cátions com a utilização das resinas.

Figura 13 - Esquema do funcionamento da troca iônica



Fonte: adaptado de IBEAS et al. (2015).

Inicialmente, o regulamento do parlamento Europeu (CE) nº 606/2009 p. 25, autorizava a utilização, na enologia, das resinas catiônicas para estabilização tartárica dos vinhos, retirando parte dos cátions formadores de sais insolúveis. No ano de 2012, a OIV (2012) previu a utilização nos mostos e vinhos para estabilização tartárica, e também aumento da acidez total e

real (diminuição do pH). No ano seguinte, em 2013, o regulamento do parlamento Europeu (CE) n° 144/2013, p. 4 foi modificado conforme o codex enológico internacional da OIV (2012).

O Codex Enológico Internacional estabelece, na sua monografia - Resinas Trocadoras de Íons (Oeno 43/2000, ponto 3), as limitações de utilização das resinas de troca iônicas para estabilização tartárica, tais como:

1. o tratamento não deve alterar as características do vinho;
2. o tratamento não deve diminuir a intensidade da cor do vinho;
3. o tratamento não deve diminuir a concentração de cátions metálicos no vinho abaixo de 300 mg/L;
4. o tratamento não deve fazer baixar o pH do vinho a menos de 3,0. A diminuição do pH não deve exceder 0,3 unidades de pH;
5. a resina não deve transmitir ao vinho matérias ou outras características (resultantes do tratamento da própria resina) que naturalmente não existam no mesmo. Podem ser utilizados agentes para acondicionar as resinas e/ou regenerantes compostos por água e ácidos orgânicos, bases ou sais, sob condição de que a resina acondicionada ou regenerada seja enxaguada com água até a eliminação completa desses agentes antes da introdução do vinho.

O Codex Enológico Internacional estabelece também normas para acidificação através da resina. Na sua monografia Acidificação por Tratamento com Trocadores Iônicos – Vinho (Oeno 443-2012, parte II, capítulo 3) as prescrições relativas à esta prática são:

1. o tratamento pode ser efetuado utilizando resinas trocadoras de cátions regeneradas em ciclo ácido;
2. o tratamento deve limitar-se à eliminação dos cátions em excesso;
3. Para evitar que se produzam frações de vinho, o tratamento deve realizar-se de forma contínua, com a incorporação em linha de vinho tratado ao vinho original;
4. como alternativa, poderá introduzir-se diretamente no vinho a quantidade necessária de resina para o tratamento, separando-a posteriormente mediante um método físico adequado;
5. a acidificação só deve realizar-se garantindo a condição que o valor de acidez inicial não aumente mais de 54 meq/L. Quando se acidificam mostos e vinhos, o aumento líquido acumulado não deve exceder os 54 meq/L;
6. todas as operações devem ser realizadas sob responsabilidade de um enólogo ou técnico especializado;
7. as resinas devem cumprir as prescrições do Codex Enológico Internacional.

Segundo Sanz Sanz (2012), até o momento do ano de sua revisão sobre estabilização tartárica, os estudos que se realizaram sobre resinas de troca iônica se centraram, principalmente, nas modificações físico químicas do produto final, não havendo, até então, nenhum estudo detalhado da composição aromática e perfil polifenólico dos vinhos. É provável que parte dos aromas e polifenóis fiquem retidos na resina, pois essa técnica é utilizada também para analisar e quantificar aminoácidos, precursores, aromas de mostos e vinhos, além de polifenóis não ionizados.

### 3.16 ANÁLISE SENSORIAL

A necessidade do enólogo de distinguir acidez total, acidez real (pH) e acidez volátil é uma prova do interesse e da importância da noção de acidez de um vinho. O motivo de tal interesse deriva, sem dúvida, da influência sensorial dessas três formas de acidez. Na verdade, em todas as degustações profissionais, são considerados nos mesmos níveis de importância o grau alcoólico, açúcares residuais, valores da acidez total, pH e acidez volátil do ponto de vista olfativo e gustativo (RIBERÉAU-GAYON et al., 2007).

A qualidade de um vinho não é determinada apenas pela análise química, mesmo que essa seja detalhada, sendo necessária a degustação do mesmo. Assim, a análise sensorial é auxiliada pelo resultado da análise química, esclarecendo a composição do vinho pelas características encontradas na degustação (ZANUS; PEREIRA, 2006). Segundo Peynaud e Blouin (2010), a qualidade de um vinho não se deve a um teor de determinado produto, mas aos equilíbrios complexos de sua constituição. Não se espera que seja possível definir as virtudes de um vinho pelas análises físico-químicas, que não conseguem expressar a diferença entre o vinho comum e o grande vinho.

Através das análises química e sensorial pode-se caracterizar o vinho, demonstrando a sua qualidade e tipicidade. A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) é utilizada para a caracterização de vinhos de diferentes variedades, safras, regiões vitícolas, testes, vinícolas e outros (MIELE, 1998). A análise sensorial deve ser realizada por um grupo de, no mínimo, 12 degustadores, para que sejam obtidos resultados corretos e confiáveis na média geral dos parâmetros avaliados (ZANUS; PEREIRA, 2006).

A degustação é, simplesmente, a base de todos os ofícios do vinho. Ela se faz ao longo de todas as etapas, desde o cultivo da vinha até o serviço dos vinhos à mesa e ao consumo final.

A qualidade pode ser definida como uma maneira de ser, um conjunto de características e aquilo que torna algo superior (PEYNAUD; BLOUIN, 2010).

Na qualidade sensorial de um vinho, quatro sentidos estão envolvidos: visão, olfato, gosto e “tato”. Através da visão, características relacionadas com a aparência, como por exemplo, transparência, intensidade e tonalidade da cor são avaliadas. O olfato detecta o aroma e o *bouquet* de um vinho, como aroma frutado, aroma floral característicos de vinhos jovens. O gosto está relacionado à identificação de gostos básicos (ácido, amargo, doce, salgado) e de sabores como, sabor alcoólico, sabor frutado, sabor de uva verde. Enquanto que, através do “tato”, é possível detectar sensações bucais de adstringência, preenchimento na boca e maciez do vinho (FORRESTAL, 2000 apud SOUZA, 2010).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

#### **4.1.1 Local de coleta da amostra**

Todo o experimento foi realizado nas dependências da vinícola-escola do Instituto Federal de Ciências e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) - campus Bento Gonçalves. As uvas e o posterior mosto utilizado nos experimentos foram cedidos pelo IFRS, que possui videiras próprias em uma estação experimental, localizada no distrito de Tuiuty, em Bento Gonçalves.

#### **4.1.2 Resina e produto ativador**

A resinas de troca iônica utilizadas são denominadas "pH-STAB" e são comercializadas pela empresa multinacional AEB-group. Segundo os fabricantes, estas resinas possuem uma seletividade alta pelos cátions  $K^+$  e  $Ca^{2+}$ , devido ao tipo de resina (grupos ativos sulfônicos) e ao produto utilizado na ativação que, nesse caso, é um ácido forte denominado ACID+ (AEB-group) à base de ácido sulfúrico. Esse "detergente ativante da resina" é indicado pelo fabricante da resina. As doses recomendadas, modo de aplicar, procedimentos de lavagem e regeneração das resinas foram seguidas de acordo com as recomendações do fornecedor. A Figura 14 mostra as características físico-químicas e sensoriais da resina pH-STAB e do detergente ativador ACID+ e, na Figura 15, é possível visualizar a resina utilizada no experimento.

Figura 14 - Características físico-químicas e sensoriais da resina pH-STAB e do detergente ACID+

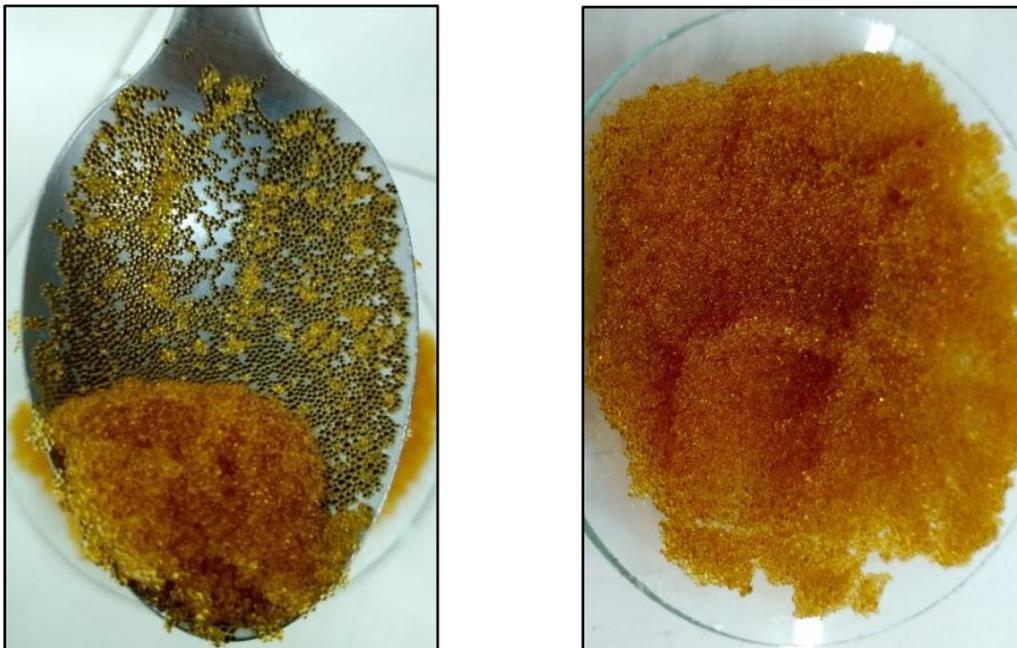
<b>Produto: PH - STAB</b>		
<b>Especificação:</b> Troca iônica		PT_0180416
<b>Parâmetro</b>	<b>u.d.m.</b>	<b>Intervalo</b>
Aspeto	sensorial	Pérolas esféricas translúcidas castanho claro
Densidade	g/ml	0,8 - 0,9
Poder de permuta	eq/L resina	1,5 - 2
Metais pesados cedíveis (como chumbo)	mg/kg	< 10

<b>Produto: ACID +</b>		
<b>Especificação:</b> Troca iônica		PT_0180416
<b>Parâmetro</b>	<b>u.d.m.</b>	<b>Intervalo</b>
Aspeto	sensorial	Líquido amarelo claro
Densidade	g/ml	1,25 - 1,35
pH em solução a 1%	Colog H+	1 - 2
Metais pesados cedíveis (como chumbo)	mg/kg	< 10

Fonte: adaptado de AEB-group, (2015).

Figura 15 - Resinas de troca iônica "pH-STAB"



Fonte: Acervo pessoal.

### 4.1.3 Amostra

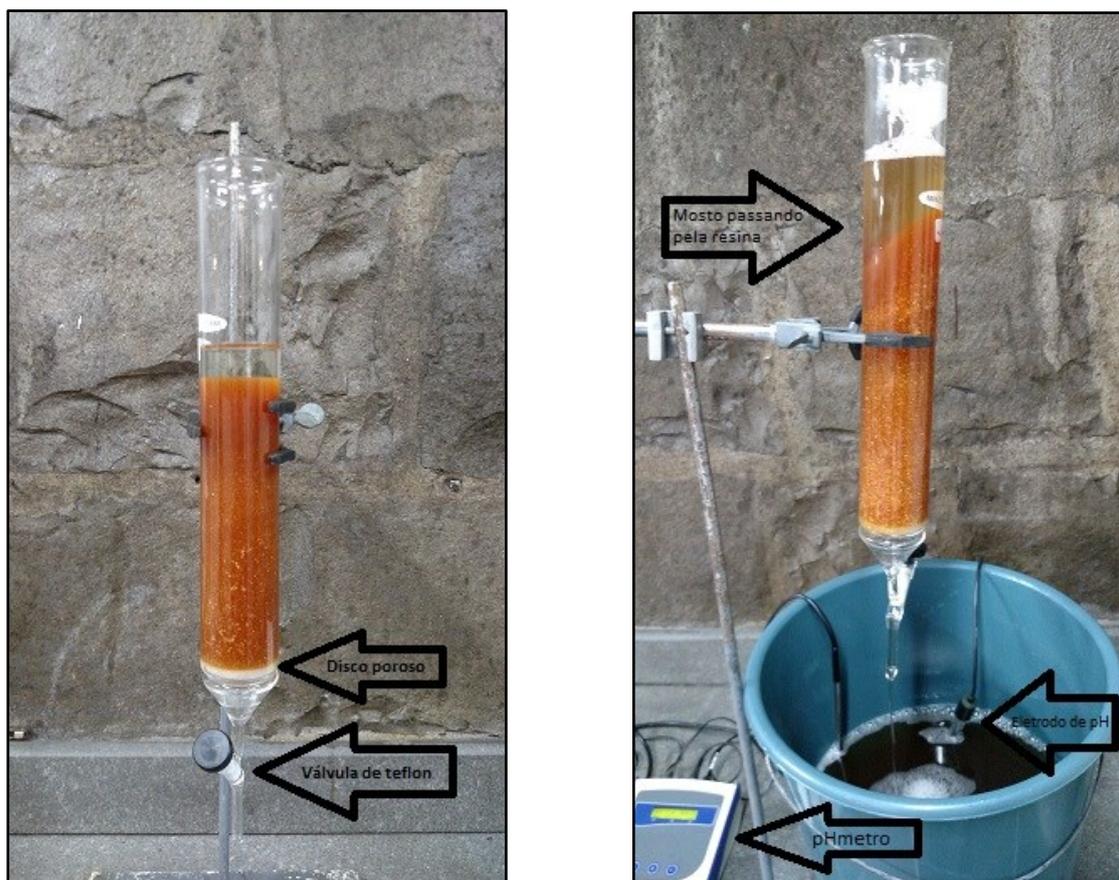
Neste estudo, foram utilizados 75 L de mosto de uva da variedade Chardonnay, safra 2016. A uva estava com ponto de maturação indicado para elaborar vinho base de espumantes conforme os padrões indicados pela literatura especializada (as análises do mosto inicial serão apresentadas a seguir, nos resultados). O mosto foi obtido através da prensagem das uvas com uma prensa pneumática (marca Enoveneta modelo ppc9), com posterior tratamento enzimático (marca da enzima Perdomini, nome comercial ZIMOPEC PML), sulfitagem (50 mg/L de SO<sub>2</sub>) e colagem com sol de sílica (marca Perdomini, nome comercial Xiles 40) e gelatina (marca Laffort, nome comercial Gecoll). Após o desborre (*débourbage*), os mostos foram separados em volumes de 5,5 L para o tratamento com a resina.

### 4.1.4 Dispositivo experimental para realização da troca iônica

Para realizar a troca iônica em escala piloto entre as resinas e o mosto, foi desenvolvido um dispositivo experimental de vidro, no formato cilíndrico, com capacidade volumétrica de 600 mL, dotado de uma válvula de teflon, e um disco poroso tipo filtro (Figura 16). A circulação do mosto pela resina foi realizada manualmente por gravidade até que o volume total estivesse nos níveis de pH desejados (esquema Figura 17). Quando o mosto se encontrava com o índice de pH desejado, ele era separado em um recipiente com um volume de 4,4 litros para fermentação e era separada uma fração do mosto para ser congelada e armazenada. Os volumes dos recipientes foram todos ajustados através do peso com uma balança de precisão.

A Figura 16 mostra em detalhe o dispositivo utilizado no experimento para a realização da troca iônica no mosto através das resinas.

Figura 16 - Dispositivo experimental para realização da troca iônica



Fonte: Acervo pessoal.

#### 4.1.5 Tratamentos experimentais

Os tratamentos foram constituídos de um mosto controle com pH 3,2 que foi denominado de TP (Tratamento Padrão), e os mostos com médias de índice de pH 3,14 (denominado TR0,1), pH 3,07 (denominado TR0,2), pH 3,01 (denominado TR0,3) e pH 2,93 (denominado TR0,4), obtidos através da passagem pela resina de troca iônica. Para esses tratamentos foram utilizadas resinas novas. Durante todo o processo foi realizado uma lavagem inicial com o detergente ácido (ACID +), e um total de duas lavagens e regenerações das resinas com o mesmo detergente quando se encontravam saturadas, conforme especificado pelo fabricante. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata (exceto o TR 0,4 que teve uma duplicata). Os tratamentos foram estipulados pensando em se obter diferenças maiores que 0,05 no índice de pH entre cada tratamento, podendo assim haver diferenças mais significativas. O Quadro 2 mostra como os tratamentos foram divididos e identificados neste trabalho.

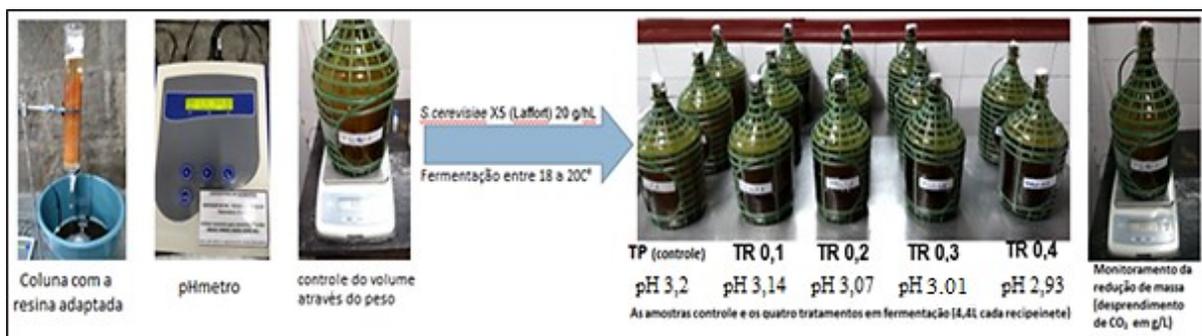
Quadro 2 - Identificação dos tratamentos

<b>Mosto controle</b>	<b>Tratamento 1</b>	<b>Tratamento 2</b>	<b>Tratamento 3</b>	<b>Tratamento 4</b>
<b>pH 3,2</b>	<b>pH 3,14</b>	<b>pH 3,07</b>	<b>pH 3,01</b>	<b>pH 2,93</b>
<b>TP</b>	<b>TR0,1</b>	<b>TR0,2</b>	<b>TR0,3</b>	<b>TR0,4</b>

Após todos terem passado pela resina, e terem sido separados em seus respectivos recipientes com o mesmo volume (4,4 L), foram inoculados com *S. cerevisiae* (marca Laffort, nome comercial Zymaflore X5) 20 g/hL. A ativação da levedura foi realizada conforme instruções presentes na embalagem do produto. No segundo dia da fermentação alcoólica (F.A.) foram adicionados 30 g/hL de ativante de fermentação (marca Laffort, nome comercial Nutristart) e 15g/hL de bentonite (marca Laffort, nome comercial Microcol Alpha) com o intuito de ter uma fermentação segura e um vinho límpido, favorecendo a análise sensorial e as análises de cor, além da estabilidade do vinho. Os vinhos não foram submetidos à fermentação malolática com o intuito de preservar a acidez e evitar desvios organolépticos que poderiam diferenciar as amostras.

Como o experimento foi realizado em microvinificações, a mensuração da densidade poderia influenciar nas fermentações principalmente com a incorporação de oxigênio ao tirar a amostra, realizar a medição e reincorporar a mesma no tratamento. Desta forma, o acompanhamento da evolução do processo fermentativo foi monitorado através da liberação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), mensurado pela perda de massa do mosto em balança digital semi-analítica (marca comercial Bel Engineering) de capacidade de pesagem de 10 kg (sensibilidade de 0,1 g) no decorrer da fermentação. A primeira medida foi realizada logo após a organização e preparação de todos os tratamentos. A partir do segundo dia, foram realizadas duas pesagens diárias (manhã e tarde), até todos os tratamentos terminarem a fermentação. As diminuições no peso foram calculadas pelo peso total (recipiente + líquido + acessórios). A Figura 17 mostra o esquema de separação dos mostos pelo peso e o controle da fermentação alcoólica através da perda de massa monitorado por balança duas vezes ao dia.

Figura 17 - Esquema demonstrando a constituição dos tratamentos experimentais



Fonte: Acervo pessoal.

Com os resultados das pesagens diárias foi possível diferenciar as cinéticas fermentativas de cada recipiente de fermentação, onde foram avaliadas e representadas graficamente pela perda de massa diária devido à produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em função do tempo. Esses dados foram ajustados para a equação sigmoideal não linear de Gompertz modificada, e expressa como: liberação total de CO<sub>2</sub> ( $Y_{max} = \text{g/L}$ ), a liberação máxima de CO<sub>2</sub> ( $\mu_{max} = \text{g/L/dia}$ ) e de duração da fase *lag* para a produção de CO<sub>2</sub> ( $lag = \text{horas}$ ). Após, os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias, bem como à análise de regressão e de correlação, detectando a tendência de cada variável analisada. As amostras dos mostos para as análises foram separadas e congeladas em garrafas plásticas de 500 mL, enquanto que seus respectivos vinhos, após a fermentação, permaneceram em uma câmara fria por 15 dias a 0°C e foram, posteriormente, envasados em quatro garrafas de vidro de 750 mL, uma garrafa plástica de 300 mL e quatro tubos cônicos de 50 mL.

Os mostos e vinhos obtidos foram submetidos a análises físico-químicas, tais como: pH, acidez total, acidez volátil, teor de etanol, açúcares redutores, nitrogênio amoniacal, extrato seco, polifenóis totais, ácido tartárico, SO<sub>2</sub> livre e total e coloração conforme metodologias do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) e de outras metodologias encontradas na literatura. Foi também quantificado nos mostos cinco metais (K, Ca, Cu, Na e Mg). Cinco meses após o término da fermentação alcoólica, os vinhos foram analisados quanto à sua composição aromática através de análise por cromatografia gasosa de compostos leves, álcoois superiores, ácidos graxos e ésteres e, neste mesmo período, os vinhos foram submetidos à uma análise organoléptica utilizando uma ficha descritiva quantitativa adaptada para vinhos base espumante.

A análise de coloração foi realizada nos mostos e nos vinhos da degustação. Também foi realizado um acompanhamento da coloração a cada três meses, durante um período de nove

meses, obtendo-se quatro pontos referenciais da evolução dos vinhos nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

## 4.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

### 4.2.1 Determinação do pH

A determinação do pH nos mostos e vinhos foi realizada segundo a descrição fornecida pelo (MAPA) no Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres. O método consiste em medir a diferença de potencial entre dois eletrodos mergulhados no líquido estudado através de um pHmetro previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. O método segue referência da comunidade europeia CE. REGULAMENTO N°2676/1990.

### 4.2.2 Açúcares Redutores

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método Lane-Eynon, conforme descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985) e em Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (1995), o qual se baseia na propriedade dos açúcares reduzirem o sulfato de cobre a quente e em meio alcalino. Foi utilizado o Licor de Fehling. Os valores encontrados foram expressos em g/L de açúcares redutores.

### 4.2.3 Acidez Total

A acidez total foi mensurada por neutralização dos ácidos tituláveis até pH 8,2 com solução de hidróxido de sódio 0,1N e fenolftaleína como indicador (BRASIL, 1986). Os resultados foram expressos em g/L de ácido tartárico.

### 4.2.4 Ácido tartárico

Os níveis de ácido tartárico foram verificados por meio de kit enzimático (marca Gibertini) e equipamento WINEFLOW (marca Gibertini) que mede a intensidade colorimétrica da reação enzimática que ocorre entre o ácido tartárico e o ácido vanádico, formando um composto colorido, cuja absorção a 492 nm é proporcional à concentração de ácido tartárico na amostra expresso em g/L.

#### 4.2.5 Nitrogênio amoniacal

O nitrogênio amoniacal foi medido através da destilação por arraste de vapor e posterior titulação. Quando uma amostra de mosto é submetida ao aquecimento em meio alcalino se forma hidróxido de amônia (composto volátil) podendo ser facilmente determinada por titulação com uma substância ácida, na presença de ácido bórico (RICHTER, 2008).

Em um erlenmeyer de 50 mL foram colocados 5 mL de uma solução de ácido bórico indicador ( $H_3BO_3$ ) e três gotas de um indicador ácido-base misto. Pipetou-se 10 mL da amostra em um tubo de ensaio e adicionou-se 0,2 g de óxido de magnésio calcinado. O tubo de ensaio foi acoplado em um Destilador de nitrogênio/proteína TE-036 da marca comercial Tecnal. Os compostos voláteis foram arrastados e condensados, mudando sua cor de vermelho-claro para azul. Após, o destilado foi titulado com ácido sulfúrico 0,01 N até a viragem, voltando a sua cor vermelho-claro. Anteriormente, foi realizada uma determinação com água bidestilada, e os mL gastos foram utilizados na fórmula (valor do branco). A quantidade de mililitros gastos, menos os mililitros gastos de ácido sulfúrico para o branco, multiplicados por 14, expressa o nitrogênio amoniacal em mg/L de  $NH_4^+$ .

#### 4.2.6 Extrato seco

O extrato seco foi obtido pelo método densimétrico, com auxílio dos equipamentos eletrônicos destilador e balança hidrostática Gibertini que utiliza a fórmula de Tabarié para emissão do resultado no display da balança hidrostática. Esse método segue o REGULAMENTO Nº 2676/1990, de 17 de novembro de 1990 da Comunidade Europeia. Os valores obtidos foram expressos em g/L de extrato seco.

#### 4.2.7 Compostos fenólicos totais (Método de Folin- Ciocalteu)

A quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) foi avaliada pelo método colorimétrico de Folin- Ciocalteu em aparelho de absorção ultravioleta (UV) (PG Instruments T92) com leitura da absorbância em 764 nm, segundo ROCKENBACH et al (2008). Para a quantificação foi construída uma curva padrão com cinco concentrações de ácido tânico em etanol 70% (v/v) e a concentração de polifenóis foi avaliada pela equação da reta, expressos em mg/L de ácido gálico.

#### 4.2.8 Índice de polifenóis totais

O índice de polifenóis totais (IPT) e a avaliação da mudança de colocação do vinho foram obtidos por análise em um espectrofotômetro UV/VIS (PG Instruments T92). Para as análises de polifenóis, foi utilizado o índice de polifenóis totais (IPT), “que se baseia na absorção característica a 280 nm dos ciclos benzênicos da maior parte dos polifenóis” (FLANZY & POUX, 1958; apud RIBEREAU-GAYON et al, 2007). Para isso, as amostras foram diluídas na proporção 1:9 com água destilada, vertidas para uma cubeta de quartzo de 10 mm de percurso ótico e a densidade ótica (D.O.) foi avaliada a 280 nm, absorção característica dos ciclos benzênicos. O resultado final foi obtido pela densidade ótica obtida multiplicada pelo fator de diluição. O Resultado é expresso em absorbância (Abs).

#### 4.2.9 Cor

Para avaliar a cor amarela do vinho foi utilizado um espectrofotômetro UV/VIS (PG Instruments T92). A absorbância foi medida com o comprimento de onda de 420 nm. Para esta avaliação, a amostra foi vertida diretamente em uma cubeta de 10 mm, sem diluição da amostra. O Resultado é expresso em absorbância (Abs).

Foi também realizado medidas de cor com um colorímetro KONICA MINOLTA CR-400, o qual foi calibrado anteriormente com placa branca CR-A43. Os parâmetros medidos foram  $L^*$  que representa a luminosidade ( $L^* = 0$  - preto e  $L^*=100$  - branco);  $a^*$  e  $b^*$  são as coordenadas de cores responsáveis pela cromaticidade: ( $+a^*$  = vermelho e  $-a^*$  é o verde,  $+b^*$  é o amarelo e  $-b^*$  é o azul), representativos das coordenadas de cor do espaço CIELAB e também o valor de croma  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  e a tonalidade da cor medida por ângulo  $h^* = \text{tg}^{-1}(b^*/a^*)$ . As amostras foram analisadas em cubeta em quartzo de 10 mm (modelo KM-CM-A98, 10mm). Os dados das medições foram transmitidos através de um computador com o *software CR 400 utility*.

$L^*$  = luminosidade;  $a^*$  = componente verde-vermelho;  $b^*$  = componente azul-amarelo;

$C^*$  = cromaticidade da cor;  $h$  = ângulo da tonalidade da cor;

#### **4.2.10 Turbidez**

A turbidez do mosto inicial antes do tratamento de passagem pelas resinas foi mensurada através de um turbidímetro de bancada marca HACH, modelo 2100P, calibrado com soluções padrão de 1,0, 10 e 100 NTU. Os resultados foram expressos em NTU (Nefelometric Turbidity Unit), que mede a ausência de limpidez da amostra, medindo a interferência da passagem da luz através do fluido (RIBEREÁU-GAYON et al., 2007).

#### **4.2.11 Sólidos solúveis totais**

O teor de sólidos solúveis totais (SST) do mosto das uvas foi determinado por refratometria com um refratômetro digital portátil marca ATAGO, modelo PAL-3 e o resultado foi expresso em °Brix.

#### **4.2.12 Determinação de Álcool Etílico**

A quantificação do álcool etílico (grau alcoólico) ocorreu mediante destilação eletrônica do etanol e seus análogos e medição da densidade do destilado alcoólico a 20°C em balança hidrostática da marca Gibertini (BRASIL, 1986). O álcool foi expresso em porcentagem em volume (%Vol.).

#### **4.2.13 Determinação de Anidrido Sulfuroso**

O anidrido sulfuroso livre foi quantificado por titulação automática com solução aquosa de iodo 0,02 N após sua extração em baixa temperatura por corrente de ar (Gibertini, 2007). Enquanto que o anidrido sulfuroso total foi quantificado por titulação automática com solução aquosa de iodo 0,02 N após submissão da amostra à destilação na presença de ácido sulfúrico 1:10 sendo o destilado recolhido em hidróxido de sódio 1 N (GIBERTINI, 2007). As duas frações foram expressas em mg/L de dióxido de enxofre.

#### **4.2.14 Acidez Volátil Corrigida**

A separação dos ácidos voláteis ocorreu por arraste de vapor em Destilador Super D.E.E. Gibertini. Após a separação, foi realizada uma titulação de neutralização com hidróxido de

sódio 0,1 N e indicador fenolftaleína (BRASIL, 1986) e a correção do teor de anidrido sulfuroso foi realizada por titulações sucessivas com solução de iodo em titulador automático QUICK marca Gibertini (BRASIL, 1986). A acidez volátil foi expressa em g/L de ácido acético.

#### 4.2.15 Análises de Etanal, Acetato de Etila, Metanol e Álcoois Superiores

As determinações do conteúdo de etanal, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol foram realizadas simultaneamente por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), conforme procedimento descrito por Bertrand (1981). Para a análise foi utilizado um cromatógrafo Agilent Plus série 6890 (EUA). O cromatograma obtido foi comparado com o cromatograma de uma solução dos padrões envolvidos, segundo o método do padrão interno.

Foi injetado no cromatógrafo, 1,0  $\mu\text{L}$  da amostra no modo "split" com divisão 2 mL/min a 220°C, 1:1. Foi utilizada uma coluna capilar HP InnoWax 57CB de 30m de comprimento, 320  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno e 0,50  $\mu\text{m}$  de espessura de filme. O gás vetor foi o hidrogênio 5.0 em fluxo de 2,0 mL  $\text{min}^{-1}$  (1:1) e detector nitrogênio, como gás auxiliar, a 37 mL  $\text{min}^{-1}$ . As condições de temperatura do forno foram: 40°C por 5 min; 40 a 100°C a 3°C  $\text{min}^{-1}$ ; 100 a 220°C a 7°C  $\text{min}^{-1}$ ; 220°C por 10 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético em 400 mL  $\text{min}^{-1}$  e hidrogênio 5.0 em 35 mL  $\text{min}^{-1}$ . A temperatura do detector foi controlada em 230°C. Os resultados foram expressos em mg/L.

#### 4.2.16 Análises Cromatográficas de Ácidos Graxos, Ésteres, Ácidos Voláteis e Acetatos

As determinações do conteúdo de ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis, acetatos e 2-feniletanol foram feitas simultaneamente por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), conforme procedimento descrito por Bertrand (1981). Para a análise foi utilizado um cromatógrafo Agilent® Plus série 6890 (EUA). À 50 mL de vinho foi adicionado 500  $\mu\text{L}$  de 3-octanol e 500  $\mu\text{L}$  de ácido heptanóico, ambos a aproximadamente 200 mg  $\text{L}^{-1}$  como padrões internos, sendo a mistura acidificada com 70  $\mu\text{L}$  de ácido fosfórico 1:3. Nestas condições, foram realizadas três extrações líquido/líquido sucessivas na ordem volumétrica 4:2:2 de uma mistura dos solventes orgânicos éter/hexano (1:1). A fase orgânica foi mantida em contato com a amostra por meio da agitação intensa em agitador magnético durante 5 min. Os extratos de cada extração foram recolhidos através da separação das fases em funil de separação e colocados em "vial" para serem analisados em CG-DIC.

Para esta análise, 1,0 µL da amostra foi injetado no cromatógrafo no modo "*split*" com divisão 60mL<sup>min<sup>-1</sup></sup> (30:1) a 240°C. Foi utilizada uma coluna capilar HP Innowax de 30m de comprimento, 320 µm de diâmetro interno e 0,50 µm de espessura de filme. O gás vetor foi hidrogênio 5.0 em fluxo de 2,0 mL min<sup>-1</sup> e nitrogênio, como gás auxiliar, a 37 mL min<sup>-1</sup>. As condições de temperatura do forno foram: 40°C por 5 min; 40 a 230°C a 3°C min<sup>-1</sup>; 230°C por 20 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético em 400mL min<sup>-1</sup> e hidrogênio 5.0 em 35 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura do detector foi controlada em 230°C. Os resultados foram expressos em mg/L.

#### **4.2.17 Determinação dos metais**

A metodologia utilizada para quantificação dos metais foi efetuada conforme a instrução de trabalho do MAPA (2013). Os metais alcalinos terrosos, cálcio (Ca<sup>2+</sup>), magnésio (Mg<sup>2+</sup>) e o íon metálico cobre (Cu<sup>+</sup>) nos mostos foram determinadas através de um espectrômetro de absorção atômica modelo AAnalyst 200, marca PerkinElmer (EUA). Já a determinação dos teores dos metais alcalinos potássio (K<sup>+</sup>) e sódio (Na<sup>+</sup>) foram realizadas por fotômetro de chama, modelo B462, marca Micronal (BR) (FONSECA; PULCINELI, 2013). Todos foram expressos em mg/L.

#### **4.2.18 Análise sensorial**

A análise sensorial ocorreu no dia 23 de junho de 2016, na sala de análise sensorial do IFRS - campus Bento Gonçalves. Teve a participação de 13 pessoas experientes em degustação de vinhos que atuam no setor vitivinícola nacional. Os degustadores não tinham conhecimentos sobre o experimento. Foram degustadas as 14 amostras, sendo divididas em três grupos, sendo que, em cada grupo, havia uma amostra de cada tratamento. Foi utilizado o método de Análise descritiva quantitativa para avaliação sensorial dos vinhos adaptada para vinhos base de espumantes (ANEXO D).

#### **4.2.19 Análise descritiva quantitativa (ADQ)**

Foi utilizado o método de análise descritiva quantitativa (ADQ) normatizado pela ABNT NBR 14140 (1998) para avaliar os atributos sensoriais presentes nos vinhos. O método utiliza escalas não estruturadas onde as extremidades indicam a intensidade do atributo que está

sendo avaliado. A aplicação desse teste passou por cinco etapas: seleção de julgadores, levantamento dos descritores e desenvolvimento da terminologia, treinamento (julgadores já conheciam as características de vinhos base de espumante), teste sensorial e análises dos resultados (DUCTCOSKY, 2007). Como indicado por Dutcosky (2007), os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e um teste de média (teste de Tukey), para comparação das amostras.

### 4.3 ANÁLISE ESTÁTICA DOS RESULTADOS

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos nas análises (químicas, físicas e sensoriais) foram submetidos a um teste de variância (ANOVA) seguido de um teste de comparação de médias (teste de Tukey). Um valor de probabilidade menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ) foi considerado estatisticamente significativo. As análises físico-químicas e a cinética fermentativa foram apresentadas na forma de tabelas ou gráficos. Nas tabelas, os resultados foram expressos com a média dos valores e, por letras distintas, quando os resultados eram significativamente diferentes pelo teste de Tukey,  $\pm$  desvio-padrão. Os gráficos foram apresentados no formato de barras verticais ou colunas, linhas e gráficos de dispersão, com letras distintas quando os resultados eram significativamente diferentes pelo teste de Tukey. Os resultados da análise sensorial foram apresentados em tabelas e gráfico de radar. As análises estatísticas e os gráficos gerados foram realizados por meio dos programas Graphpad Prism®, ASSISTAT e Microsoft Excel.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 MOSTOS

Antes do início dos tratamentos com a resina, o mosto controle, denominado TP, foi analisado conforme apresentado na Tabela 2. Essas análises mostram que o mosto possui características para se elaborar vinho base de espumante, conforme descrito na revisão bibliográfica onde o vinho base para espumante, quando pronto, deve possuir graduação alcoólica entre 9,5 a 11,5%, uma acidez total (expresso em ácido tartárico) > 5,5 gramas/litro, e um pH de 2,8 a 3,3 (TOGORES, 2011). A turbidez do mosto com 35 NTU é um valor relativamente baixo para mosto e é importante tanto para a fermentação, pois há maior produção de álcoois superiores com aromas agradáveis, ácidos graxos e seus respectivos ésteres, além de aumentar a fineza aromática, como para a utilização da resina, aumentando sua eficiência (RIBERÉAU-GAYON et al., 2007; BEROVIC; KOSMERL, 2008).

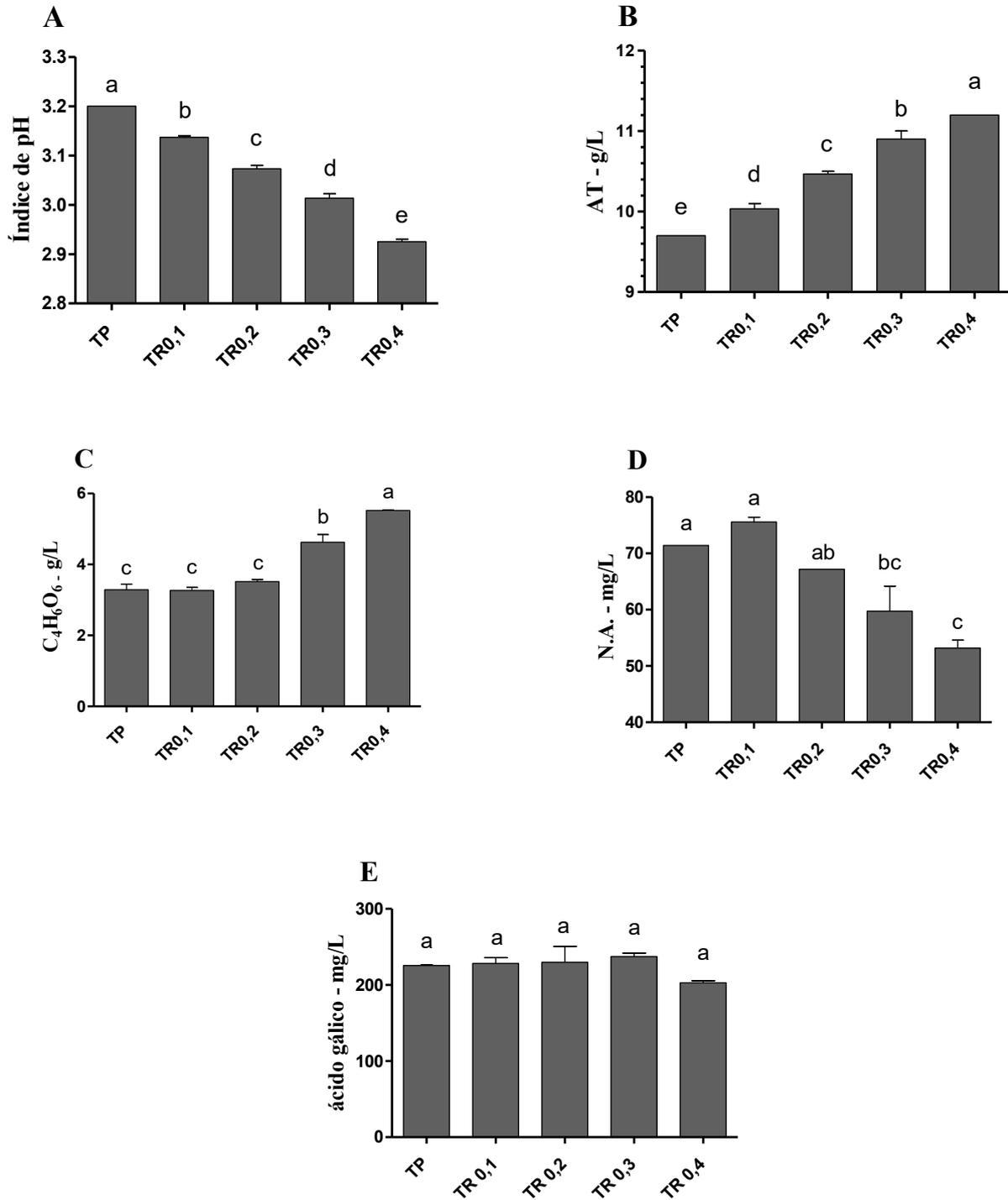
Tabela 2 - Análises físico-químicas iniciais do mosto controle (TP)

Densidade	°Brix	Álcool provável	Açúcar	AT	pH	Turbidez
1,075 g/mL	17,6°	10% Vol.	170g/L	9,7 g/L	3,2	35 NTU

°Brix = escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis; Vol.=Porcentagem em volume; AT = Acidez Total (expressa em ácido tartárico); NTU = medida de turbidez.

Na Figura 18 são apresentados os resultados em forma de gráfico de coluna das análises físico-químicas do mosto controle TP e dos mostos com tratamento com a resina TR0,1, TR0,2, TR0,3 e TR0,4. As diferenças no índice de pH do mosto controle (TP – pH 3,2) para o primeiro tratamento com resina (TR0,1 – pH 3,14) foi de 0,06, para o segundo (TR0,2 – pH 3,07) 0,13, para o terceiro (TR0,3 – pH 3,01) de 0,19 e para o quarto (TR0,4 – pH 2,93) de 0,27. As diferenças entre os tratamentos em sequência foram: 0,06; 0,07; 0,06; e 0,08. Todas com diferenças estatísticas significativas e acima de 0,05.

Figura 18 - Análise de pH (A), Acidez Total (B), Ácido Tartárico (C), Nitrogênio Amoniacal (D), Compostos Fenólicos Totais (E)



\*Letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

\*A=pH; B= Acidez Total; C= Ácido Tartárico; D= Nitrogênio Amoniacal; E= Compostos Fenólicos Totais.

\* AT = Acidez Total (expresso em ácido tartárico); N.A. = Nitrogênio Amoniacal; C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub> = Fórmula química do ácido tartárico.

Nas análises realizadas nos mostos, a acidez total apresentou um aumento nos tratamentos com passagem pela resina devido ao aumento da quantidade de ácido tartárico livre, aumento da concentração de íons  $H^+$  e diminuição principalmente dos cátions potássio e cálcio (Figura 19). Esse resultado também foi encontrado nos trabalhos de Mourgues (1993), Walker et al. (2003) e Simões (2014). A quantidade de ácido tartárico (Figura 18 C) apresentou mudanças estatisticamente significativas a partir dos tratamentos TR0,3 e TR0,4, onde a quantidade de ácido tartárico livre teve um maior aumento. O TR0,1 e TR0,2 não se diferenciaram da testemunha. Esses resultados corroboram com as análises de pH e acidez total onde é observado um aumento significativo na acidez dos mostos. Esse comportamento do aumento da acidez era esperado, e é uma das propostas atuais do tratamento com resinas para mostos com baixa acidez e pH elevados provenientes de regiões quentes. Foi observado um resultado similar de aumento da quantidade de ácido tartárico, porém em vinhos que passaram por resina, por Simões (2014), corroborando com os resultados obtidos.

Segundo o método de análise internacional da OIV (2009) para determinação do cátion amônio em mostos, a análise é realizada utilizando uma resina de troca catiônica fraca que retém e separa o amônio em uma solução ácida que, posteriormente, é destilada e, após, é quantificada por titulação com um ácido forte. Porém, não era esperado que os resultados encontrados na concentração de nitrogênio amoniacal (Figura 18 D) apresentassem diferenças grandes e que a passagem pela resina testada tivesse uma influência tão expressiva na redução do cátion  $NH_4^+$ .

Houve diferenças significativas nas análises em comparação com a testemunha a partir do tratamento TR0,3 e TR0,4. Sendo o cátion amônio uma fonte de nitrogênio para a nutrição das leveduras durante a fermentação alcoólica, essas diminuições ocorridas podem ter tido influência nas fermentações, juntamente com a redução do pH e dos outros cátions, podendo ter interferido na cinética como uma soma de fatores. Segundo os dados encontrados, o TR0,4 teve uma redução em torno de 25% da concentração de amônio verificada no mosto controle, atingindo valores próximo ao limite mínimo para uma fermentação regular indicado pela literatura especializada que é de 50 mg/L (VIGARA; AMORES, 2010).

Neste caso, é importante que as análises de nitrogênio amoniacal e posteriores correções do mosto sejam feitas depois do tratamento com as resinas troca iônica, para que o enólogo tenha um controle mais preciso do processo de fermentação, sabendo exatamente qual foi a diminuição com o tratamento, corrigindo o mosto com sais de amônio ou aminoácidos, se necessário. Esta constatação implica em um maior cuidado por parte do enólogo com este tratamento, pois a falta de nitrogênio prontamente assimilável pode comprometer e modificar a

cinética de fermentação, assim como a concentração de precursores de compostos aromáticos, principalmente se tratando de vinhos base para espumante, onde o mosto normalmente sofre uma forte clarificação.

Nas análises de compostos fenólicos totais (Figura 18 E) não houve diferenças significativas nos mostos. Não foi encontrado nenhum trabalho específico para comparação onde a passagem pela resina e troca iônica tenha sido feita antes da fermentação, em mosto de uvas brancas. Porém, é possível observar que o tratamento TR0,4, apesar de não ter diferenças significativas, apresentou o menor valor. Isso pode ser relacionado com o fato do TR0,4 ter o maior valor de absorvância no espectrofotômetro a 420 nm que mede a coloração amarela (Tabela 3), indicando maior oxidação do polifenóis através do tratamento com a resina, podendo ter diminuído a sua concentração de polifenóis devido à formação de compostos insolúveis, facilitando a precipitação dos mesmos. Segundo Cejudo-Bastante et al. (2011), a incorporação de oxigênio favorece a oxidação enzimática de alguns precursores de compostos fenólicos presentes no mosto, que são suscetíveis à oxidação, dando origem à sua transformação em polímeros castanhos e oxidados de elevado peso molecular ocorrendo, posteriormente, a precipitação desses fenóis.

Tabela 3 - Análise dos mostos com colorímetro das coordenadas CIELab e com o espectrofotômetro em densidade ótica de 420 nm

Cor Mostos CIELab e D.O. 420 nm					
Análise	TP	TR 0,1	TR0,2	TR0,3	TR0,4
L*	71,66 a ± 0,071	73,37 a ± 0,873	73,3 a ± 1,79	72,79 a ± 0,535	71,97 a ± 0,705
a*	-1,456 b ± 0,088	-1,736 a ± 0,068	-1,768 a ± 0,029	-1,861 a ± 0,069	-1,656 ab ± 0,178
b*	17,58 a ± 0,209	12,18 a ± 2,717	12,09 a ± 3,607	14,33 a ± 0,906	17,25 a ± 1,953
C*	17,64 a ± 0,206	12,3 a ± 2,688	12,22 a ± 3,565	14,45 a ± 0,895	17,33 a ± 1,927
h	94,73 a ± 0,305	98,37 a ± 1,807	98,82 a ± 2,612	97,42 a ± 0,621	95,55 a ± 1,212
420 nm	0,47 b ± 0,01	0,37 c ± 0,03	0,36 c ± 0,01	0,35 c ± 0,02	0,70 a ± 0,09

\* Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

L\* = luminosidade; a\* = componente verde-vermelho; b\* = componente azul-amarelo; C\* = cromaticidade da cor; h = ângulo da tonalidade da cor; 420 nm = absorvância aos 420 nm com espectrofotômetro.

Através das análises colorimétricas e análises estatísticas, foi possível identificar no mosto apenas diferenças significativas no ponto a\*. Quanto maiores os valores negativos, mais a cor tende a cor verde. O TP foi o tratamento com o menor valor negativo, se diferenciando

dos demais (exceto TR0,4 que não teve diferenças). Os valores mais altos significativamente foram do TR0,3, TR0,2 e TR0,1. O tratamento TR0,4 não se diferenciou nem com o TP e nem com os demais tratamentos devido à maior oxidação dos polifenóis. Porém, na coordenada  $b^*$  que mede os componentes da cor azul para a amarela, onde quanto maior o valor, mais amarela é a cor da amostra, os resultados não tiveram diferenças significativas, apesar dos valores serem diferentes entre si.

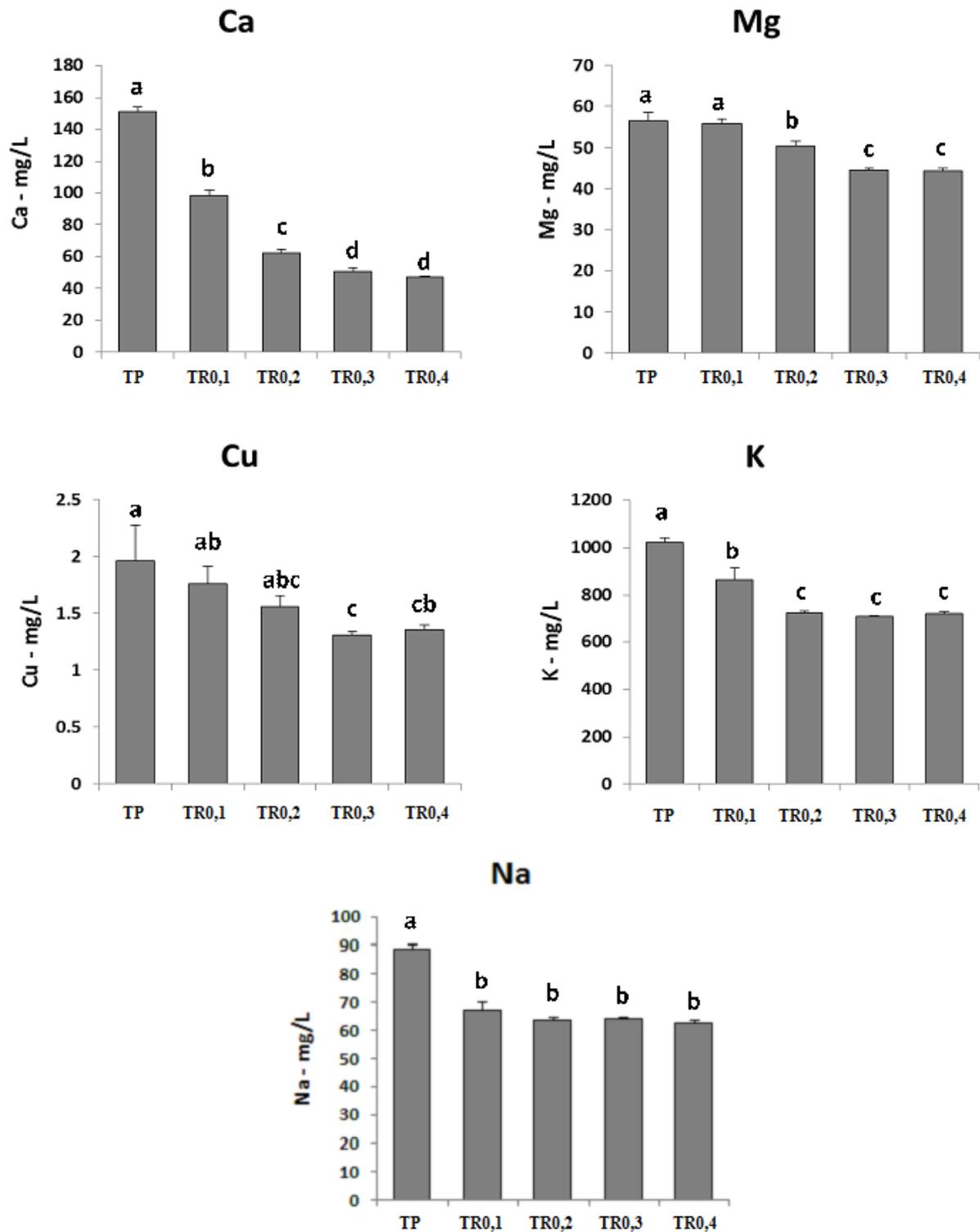
Resultado diferente da análise de absorvância (420 nm) com o espectrofotômetro, onde foram encontradas diferenças significativas. Isso ocorreu porque os valores obtidos tiveram um desvio padrão relativamente elevado. A análise com o colorímetro é sensível à turbidez, portanto, os compostos em suspensão dos mostos podem ter influenciado nas análises, dificultando a leitura de alguns tratamentos devido à heterogeneidade dentro das repetições, pois as amostras de mostos não foram filtradas ou centrifugadas. Isso não ocorreu com os posteriores vinhos que se encontravam mais estáveis e sem partículas em suspensão.

A cor amarela, representada na Tabela 3 como 420nm, mesurada através do espectrofotômetro (D.O. 420 nm) teve uma diminuição do TP em relação aos três tratamentos seguintes, TR0,1, TR0,2, e TR0,3, mostrando uma menor oxidação. O tratamento TR0,4 teve a maior intensidade de cor de todos tratamentos, provavelmente por ter sido o que mais incorporou e ficou exposto ao oxigênio, ocorrendo uma maior oxidação dos polifenóis do mosto durante o tratamento de passagem pela resina, pois pela ordem foi o último e o que demorou mais tempo para que tivesse o pH ajustado nos valores propostos.

Quando se trata de experimentos com microvinificação, a influência das ações físicas pode ter maior importância pois se trabalha com pequenos volumes e a incorporação de oxigênio pode ser maior (VIDAL; MOUTOUNET, 2009). Apesar dos cuidados para que as diferenças sejam somente do tratamento em questão, nesse caso houve, no último tratamento, ao que tudo indica, uma maior influência do oxigênio. Porém, as diferenças são em algumas análises específicas, principalmente relacionadas com a cor e cinética fermentativa.

Na Figura 19 são apresentados os resultados das análises de metais (cátions) em forma de gráfico de coluna, onde é possível visualizar uma redução em todos os metais analisados nos mostos que passaram pela coluna de resina, porém as diferenças significativas dependem da intensidade do tratamento em cada um dos elementos químicos. Os cátions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  se diferenciaram significativamente a partir do primeiro tratamento (redução do pH de 0,06). O  $\text{Mg}^{2+}$  a partir do segundo tratamento (redução do pH de 0,13) e o  $\text{Cu}^+$  a partir do terceiro tratamento (redução do pH de 0,19).

Figura 19 - Concentração dos metais Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), Cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ), Potássio ( $\text{K}^+$ ) e Sódio ( $\text{Na}^+$ ) após o tratamento com resina



\*Letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

\* Ca = Cálcio; Mg = Magnésio; Cu = Cobre; K = Potássio; Na = Sódio.

É possível visualizar que os tratamentos com passagem pela resina de troca catiônica, nos cinco metais (elementos eletropositivos) que foram analisados nos mostos, tiveram redução nas suas concentrações. Como visto anteriormente, a partir de uma redução no índice de pH de 0,19 (TP0,3) todos os cinco elementos tiveram diferenças significativas com o tratamento testemunha (TP). Isso mostra que a seletividade das resinas com nesse nível de concentração dos metais em que se encontrava o mosto padrão (TP) não ocorreu na prática, pois, além da diminuição do cálcio e potássio, os outros elementos também diminuíram significativamente.

O cálcio (Ca) foi o metal que teve maior interação com a resina. A diminuição ocorreu gradativamente já a partir do TR0,1 com diferenças significativas entre o TP, TR0,1, TR0,2, TR0,3 e TR0,4 (TR0,3 e TR0,4 não tiveram diferenças entre si). Comparando o TP com os dois últimos tratamentos, ocorreu uma redução em torno de 33%. Esse resultado vai ao encontro da revisão bibliográfica a qual, segundo Ribéreau-Gayon et al. (1977) e Andrade (2012) constata que a facilidade de troca dos cátions aumenta com a valência. Com o magnésio (Mg) a redução significativa iniciou a partir do TR0,2 e o TR0,3 e TR0,4 novamente não se diferenciaram. Apesar de ter a mesma valência que o cálcio, o magnésio possui menor número atômico.

No caso do cálcio, a afinidade da resina por esses cátions é importante pois esse possui uma solubilidade menor que a do potássio, portanto a sua estabilização é mais difícil já que com sua remoção há menor possibilidade da formação de tartarato de cálcio no vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2007). Em um tratamento com a passagem de vinhos brancos e tintos pela resina, Simões (2014) também observou uma redução nos teores de cálcio.

Como visto na revisão bibliográfica, conforme Creswell e Eschenbruch (1981) e Walker (2004), o magnésio é muito importante no processo de fermentação industrial, sendo necessário para ativação de várias enzimas glicolíticas, tendo influência na multiplicação e crescimento das leveduras. As reduções do magnésio verificadas nos mostos com passagem pela resina de troca iônica, podem ter contribuído nas diferenças cinéticas observadas nas fermentações dos diferentes tratamentos.

Na análise do cobre (Cu) os que se diferenciaram da testemunha foram o TR0,3 e TR0,4, tendo uma redução em torno de 30% com relação ao controle. Os demais não tiveram redução significativa do TP. O resíduo deste metal em vinhos vem sendo muito estudado e interfere na cinética fermentativa das leveduras, além de ser um catalisador de oxidações nos vinhos (AZEVEDO et al., 2003; DANILEWICZ, 2003; STEHLIK-THOMAS et al., 2004).

Nos vinhos, boa parte do cobre precipita durante a fermentação alcoólica e as leveduras se encarregam de eliminar a maior parte desse metal através de seu metabolismo, porém, no

caso de sucos brancos, não existe esta opção. Talvez o tratamento com a resina seja interessante para esse tipo de produto pois, além de melhorar a estabilidade microbiológica com a diminuição do pH e estabilidade tartárica com a retirada de parte do cálcio e potássio, reduz a coloração e retira uma parte do Cu presente, ocorrendo um aumento da estabilidade oxidativa. No caso de mostos conservados para espumatação de moscateis, a passagem do mosto por resinas pode vir a ser uma ferramenta útil para auxiliar na conservação com a retirada de metais catalisadores de oxidação.

Em um experimento com resina de troca iônica (mesmo tipo de resina utilizada no presente trabalho) com redução de cobre em aguardentes com diferentes concentrações, Kunigk et al (2011) apresentaram resultados positivos, onde, independente da concentração que variou de 4mg/L a 9mg/L de cobre, a remoção foi sempre maior que 94%. Benítez et al. (2002) analisaram 12 vinhos Chardonnay com passagem por dois tipos de resina iônica. As diminuições de cobre variaram de 38,4% até 96,3%. Neste trabalho de Benítez, foram também encontradas diminuições significativas tanto de ferro como de manganês, sempre acima de 79,6%.

O sódio (Na) apresentou uma redução significativa imediata logo no TR0,1 e se manteve com os valores aproximados até o TR0,4. Apesar de ter a mesma valência que o potássio, o sódio possui um menor número atômico. O potássio (K) teve uma redução entre o TP e o TR0,1 e redução ainda maior do TP para o TR0,2, TR0,3 TR0,4 que se mantiveram iguais, demonstrando que a retirada de potássio ocorre principalmente no início do tratamento. No trabalho de Ibeas et al. (2015) nas análises de potássio e cálcio de vinhos tintos com passagem pela resina houve uma redução significativa do tratamento com uma diferença de pH da testemunha de apenas 0,03 no índice. Melero (2009), também analisando mostos e vinhos tintos, obteve reduções significativas nos cátions potássio, cálcio, ferro e cobre.

A redução do cátion K é uma das propostas da utilização das resinas para estabilização tartárica dos vinhos, o que é muito importante em se tratando do produto final onde a maioria dos consumidores não admite a presença de sais no produto e onde a estabilização à frio tem um custo elevado. Diversos trabalhos como os de Ibeas et al. (2015), Melero (2009), Mira et al. (2004), Simões (2014) e outros testaram a utilização de resinas de troca iônica em vinhos para a estabilização tartárica e obtiveram resultados com melhoras na estabilização.

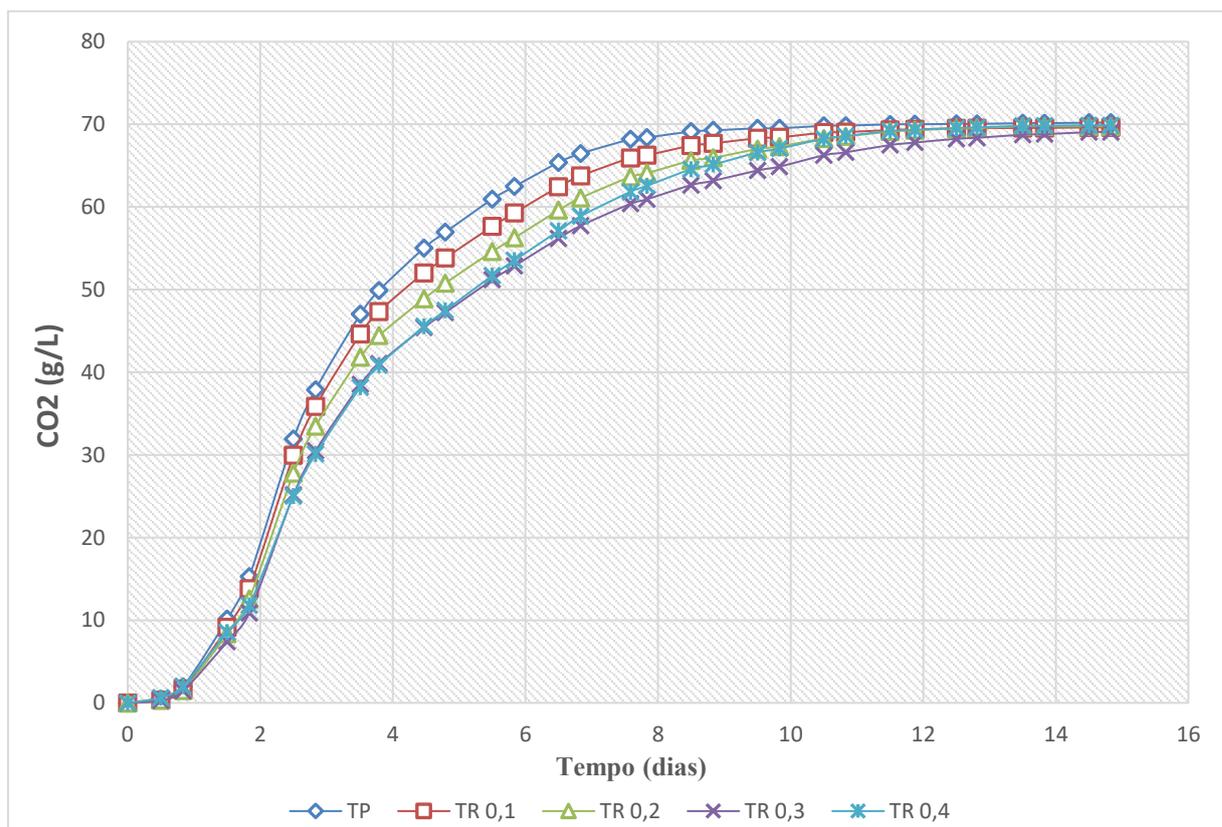
De acordo com os resultados obtidos nas análises dos mostos, a passagem pela resina com a diminuição no índice de pH em torno de 0,1 unidades (TR0,1 e TR0,2) foi suficiente para reduzir significativamente as concentrações de potássio, sódio, cálcio e intensidade de cor, tendo pouca influência na disponibilidade de nitrogênio assimilável através do cátion amônio.

As passagens subsequentes (TR0,3 e TR0,4) com uma diminuição maior no pH, pareceram trazer mais problemas que soluções, pois apesar de ter diminuições significativas nos níveis de cobre (o que pode ser interessante), houve diminuições significativas nas quantidades de nitrogênio amoniacal.

## 5.2 FERMENTAÇÃO VÍNICA

A cinética fermentativa teve diferenças significativas entre os tratamentos. A Figura 20 mostra o monitoramento da fermentação através de um gráfico de linhas onde o eixo Y representa o desprendimento de CO<sub>2</sub> em gramas por litro e o eixo X o ponto das pesagens dos tratamentos ao longo dos dias de fermentação.

Figura 20 - Monitoramento da fermentação através da taxa de desprendimento de CO<sub>2</sub> ao longo dos dias de fermentação alcoólica



Os resultados obtidos pelo experimento após o término das fermentações mostraram uma nítida diferença na velocidade fermentativa através do tempo total para o consumo de todos

açúcares durante a fermentação alcoólica. O Tratamento padrão (TP) teve a fermentação finalizada em 10 dias, o TR0,1 finalizou a fermentação em 12 dias, o TR0,2 precisou de 13 dias e os tratamentos TR0,3 e TR0,4 necessitaram de 14 dias para finalizarem a fermentação alcoólica e consumirem todos os açúcares fermentescíveis.

Observando a Figura 20 é possível visualizar o comportamento de cada tratamento durante a F.A. Nota-se a diferença entre eles onde a quantidade de gás carbônico liberado ao longo do tempo diminui à medida que a intensidade do tratamento aumenta até o TR0,3. O TR0,4 teve um comportamento diferente, sendo semelhante ao TR0,3 até o 6º dia, após, teve um aumento da velocidade, ultrapassando o TR0,3 em desprendimento do gás. Esse comportamento pode ter sido influenciado pela incorporação do oxigênio na primeira fase do experimento com a passagem pela coluna de resina, da mesma forma que ocorreu uma oxidação dos polifenóis presentes, modificando a cor do mosto. Esse oxigênio presente pode ter tido influência na cinética da fermentação, facilitando a multiplicação das leveduras.

A Tabela 4 apresenta os valores obtidos através do Modelo Gompertz modificado para fermentação alcoólica, onde foi possível observar as diferenças dos tratamentos em diferentes etapas da fermentação através do desprendimento do gás carbônico mensurado através da pesagem dos tratamentos pela redução de massa dos mostos ao longo da fermentação.

Tabela 4 - Diferenças em cada ponto de comparação das fermentações através do Modelo Gompertz modificado para fermentação alcoólica

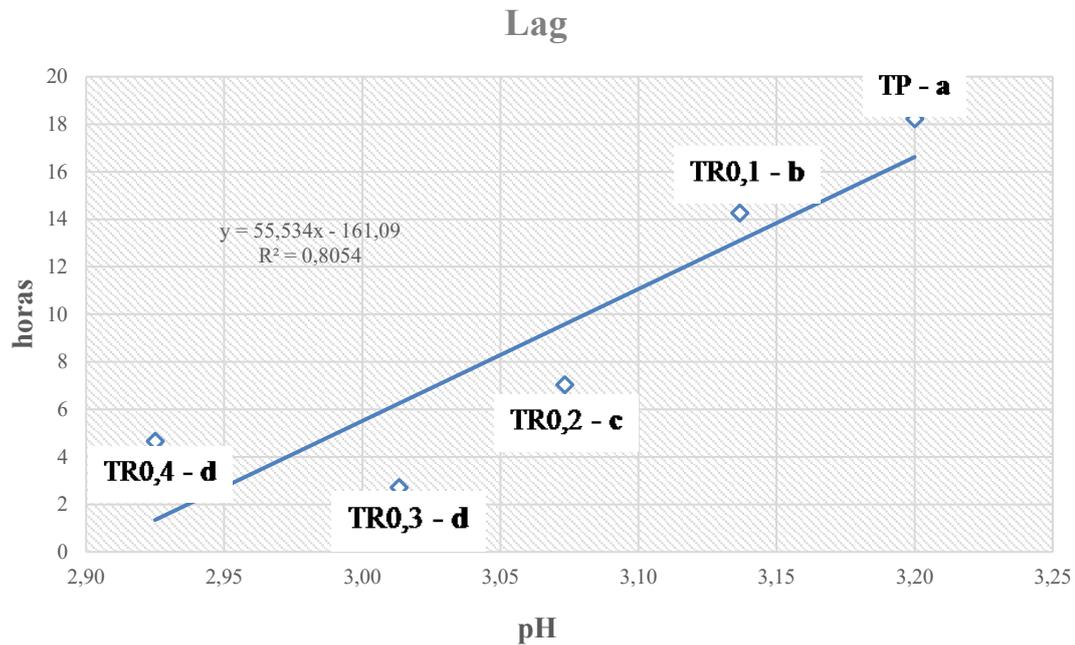
<b>Modelo Gompertz</b>					
	<b>TP</b>	<b>TR0,1</b>	<b>TR0,2</b>	<b>TR0,3</b>	<b>TR0,4</b>
<b>Lag</b>	18,2 <b>a</b> ± 0,53	14,3 <b>b</b> ± 0,63	7,0 <b>c</b> ± 0,99	2,7 <b>d</b> ± 0,91	4,6 <b>d</b> ± 0,1
<b>Ymax</b>	69,8 <b>a</b> ± 0,23	69,1 <b>ab</b> ± 0,09	68,7 <b>b</b> ± 0,11	68,3 <b>b</b> ± 0,07	70 <b>a</b> ± 0,89
<b>μmax</b>	18,36 <b>a</b> ± 0,46	16,39 <b>b</b> ± 0,23	14,33 <b>c</b> ± 0,43	12,61 <b>d</b> ± 0,65	11,97 <b>d</b> ± 0,83

\*lag = adaptação (lag = horas); Ymax = total de CO<sub>2</sub> liberado (g/L); μmax = máximo de CO<sub>2</sub> liberado (g/L/dia).

\* Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P≤0,05).

A Tabela 4 pode auxiliar a interpretação dos gráficos e correlacionar os resultados que são apresentados a seguir, onde mostram cada um dos três parâmetros propostos pelo modelo de Gompertz, separadamente, em gráfico de dispersão. A Figura 21 mostra os tratamentos distribuídos nos pontos ao longo da reta, apresentando os valores em horas da fase Lag de cada tratamento.

Figura 21 - Fase Lag - Adaptação das leveduras nos mostos



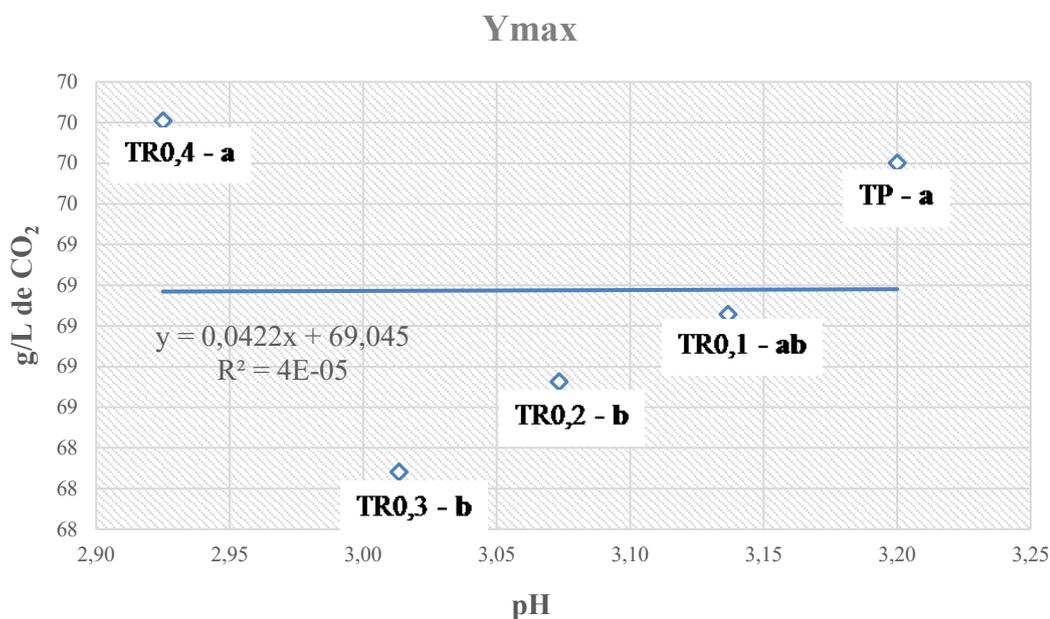
\*Letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Os resultados obtidos da duração da fase Lag foram diferentes do esperado, pois o TP teve esse período mais elevado. Todos os tratamentos se diferenciaram estatisticamente do TP com valores menores, portanto quanto menor o pH, menor foi o tempo (horas) de fase Lag. Os tratamentos TR0,3 e TR0,4 não se diferenciaram entre si. Esse resultado pode ter ocorrido devido à diminuição de alguns metais que inibem a adaptação e crescimento leveduras como o Cu (cobre) que é utilizado como fungicida na produção de uvas, onde as análises desse experimento mostraram reduções significativas nos mostos a partir do tratamento TR0,3. Pode ter ocorrido também devido à uma maior incorporação de oxigênio progressiva nos tratamentos e possível combinação do SO<sub>2</sub> (dióxido de enxofre) com o O<sub>2</sub> (oxigênio) presente, facilitando a adaptação do inóculo, ou, ainda, pode ter ocorrido também a inativação de algum microrganismo inibidor com o aumento do efeito do SO<sub>2</sub> molecular devido à redução do pH, facilitando a adaptação das leveduras inoculadas, porém se tratando de um mosto com clarificação e pH inicial baixo essa é uma suposição pouco provável.

No gráfico de dispersão fase Lag (Figura 21), o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) é de 0,80, porém se tirarmos o tratamento TR0,4 onde não se diferencia do TR0,3 estatisticamente, passamos para um coeficiente de determinação na linha de tendência de  $R^2 = 0,98$ . Esse valor torna a análise mais explicativa e proporcional onde quanto maior redução do pH com o tratamento de passagem pela resina menor é o tempo de fase Lag até o tratamento TR0,3.

A Figura 22 apresenta os valores do total de gás carbônico em gramas por litro liberado durante a fermentação alcoólica de cada tratamento.

Figura 22 - Ymax - Total de CO<sub>2</sub> liberado durante fermentação alcoólica



\*Letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey. ( $P \leq 0,05$ ).

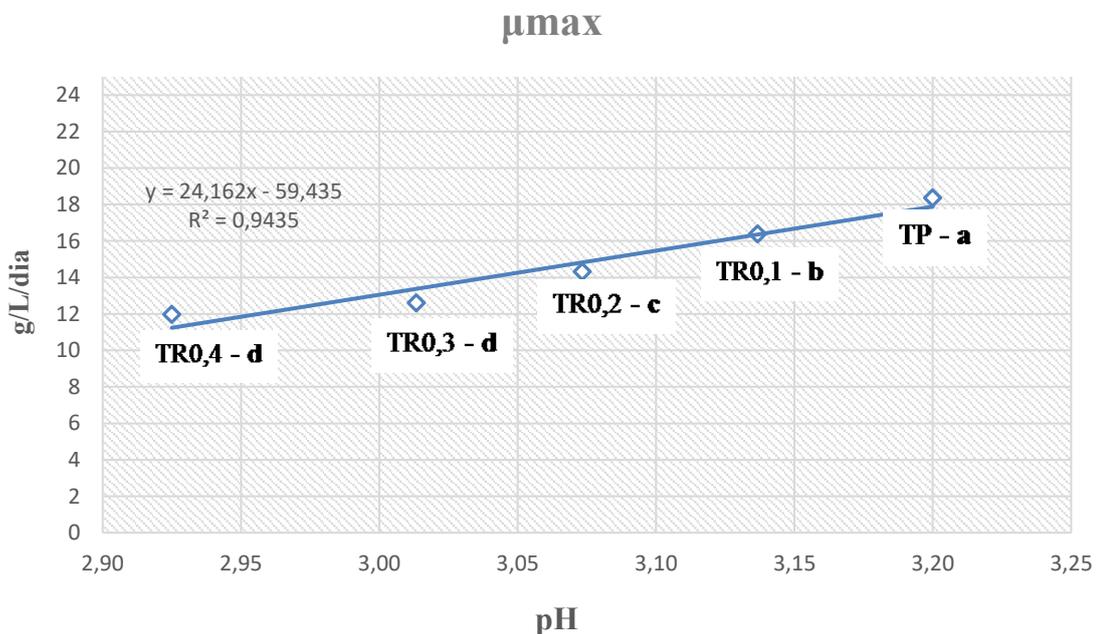
No gráfico de dispersão Ymax, os valores não permaneceram lineares pois o TR0,4 não se diferenciou da testemunha, sendo que os dois tiveram os maiores valores, como é possível visualizar no gráfico acima. O TR0,2 e TR0,3 se diferenciaram do TP e TR0,4, tendo valores menores no desprendimento total de CO<sub>2</sub>. O TR0,1 ficou igual estatisticamente tanto do TP e TR0,4 quanto do TR0,2 e TR0,3. O fato do TR0,4 ter tido o maior valor de CO<sub>2</sub> total liberado não se diferenciando do TP, pode ter ocorrido devido a uma maior incorporação de oxigênio durante a passagem pela resina, como foi possível verificar na análise de cor realizada no mosto, onde o TR0,4 apresentou valores maiores na análise de cor amarela (análise com espectrofotômetro D.O. 420 nm) indicando maior oxidação, podendo ter facilitado uma maior multiplicação celular e quantidade total de gás liberado, superando as dificuldades causadas pela redução do pH (BLOUIN; PEYNAUD, 2006). No gráfico linear da Figura 20, que mostra o monitoramento do desprendimento de CO<sub>2</sub> em função dos dias, é visível uma maior atividade fermentativa a partir do sexto dia de fermentação onde o TR0,4 passa o TR0,3 na curva.

No coeficiente de determinação da linha de tendência, excluindo o tratamento TR0,4 do gráfico de dispersão, o valor do R<sup>2</sup> é igual a 0,97. Portanto, nesse parâmetro de total de CO<sub>2</sub> liberado, há uma tendência linear até o TR0,3 (diminuição até 0,19 no índice de pH) que, quanto

maior a redução do pH com a passagem pela resina, menos CO<sub>2</sub> é liberado durante a fermentação. Apesar dos resultados apresentarem diferenças estatisticamente significativas, as diferenças do peso são relativamente pequenas entre os tratamentos TP e TR0,3 ao final da fermentação (diferença de 2,1%).

A Figura 23 apresenta os dados reunidos através do controle fermentativo diário da fermentação, onde foi possível controlar desprendimento de gás carbônico por litro, durante os dias de fermentação alcoólica dos mostos.

Figura 23 -  $\mu_{max}$  - Máximo de CO<sub>2</sub> liberado durante os dias de fermentação alcoólica



\*Letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

No gráfico de dispersão  $\mu_{max}$ , que mostra o máximo de CO<sub>2</sub> liberado por dia, foi observada uma redução linear do tratamento padrão (TP) até o o terceiro tratamento TR0,3 com  $p < 0,95$  entre todos. No entanto, os tratamentos de pH 3,01 (TR0,3) e 2,93 (TR0,4) mostraram diferenças não significativas para o parâmetro  $\mu_{max}$ , indicando que o comportamento da levedura não mudou drasticamente entre estes intervalos de pH. Neste gráfico, fica visível a influência do tratamento da resina com a redução de alguns compostos do mosto e a influencia que o índice de pH teve ao longo de toda a fermentação, fazendo com que a velocidade de fermentação fosse mais lenta à medida que a intensidade do tratamento aumentava. Além da diminuição do pH interferir na cinética fermentativa como inibidor, como visto na literatura especializada onde Henscke e Jiraken (1994) explicam que o pH afeta o transporte ativo das

leveduras na absorção de nitrogênio, em que um pH abaixo de 3,25 pode reduzir produção de biomassa pelas células, a redução da quantidade de nitrogênio amoniacal causada pela passagem pela resina (Figura 18 – D) e redução nas concentrações de magnésio (Figura 19 – Mg) provavelmente também tiveram influência na velocidade fermentativa.

Neste gráfico de dispersão, a linha de tendência teve um coeficiente de determinação onde  $R^2$  foi igual a 0,94, pois os tratamentos TR0,3 e TR0,4 obtiveram valores próximos. Apesar de ser um valor alto e próximo de 1, novamente eliminando o TR0,4 do diagrama, obtém-se um valor ainda mais preciso tornando os resultados mais explicativos onde o  $R^2$  fica com um valor igual a 0,99. De qualquer maneira é possível observar que quanto mais o índice de pH é reduzido com a passagem do mosto pela coluna de resina (até o TR0,3) menos  $CO_2$  é liberado diariamente durante a fermentação e, conseqüentemente, mais tempo é necessário para que todos os açúcares sejam fermentados.

### 5.3 ANÁLISE DOS VINHOS

Após a fermentação houve uma diminuição nos índices de pH e uma diminuição da acidez total dos mostos para os vinhos. Essa redução no pH ocorre devido à precipitação de alguns sais com conseqüente redução principalmente dos cátions  $K^+$  e  $Ca^{2+}$ . A diminuição da acidez total ocorre também pela formação e precipitação dos mesmos sais, formados pelo cátions mais o ácido tartárico. As diferenças no índice de pH, acidez total, ácido tartárico e compostos fenólicos totais nos mostos e vinhos são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Diferenças do pH, acidez total (AT), ácido tartárico ( $C_4H_6O_6$ ) e compostos fenólicos totais (CFT) antes e depois da fermentação alcoólica

Tratamento	pH	pH	AT	AT	$C_4H_6O_6$	$C_4H_6O_6$	CFT	CFT
	mosto	vinho	mosto	vinho	mosto	vinho	mosto	vinho
<b>TP</b>	3,2	3,15	9,7	9,1	3,28	2,45	225,73	147,25
<b>TR0,1</b>	3,14	3,08	10	9,4	3,26	2,45	228,31	136,18
<b>TR0,2</b>	3,07	3,02	10,4	9,8	3,52	2,57	229,88	133,80
<b>TR0,3</b>	3,01	2,97	10,9	10,4	4,63	3,03	237,35	139,98
<b>TR0,4</b>	2,93	2,91	11,1	10,9	5,52	3,46	202,92	128,9

\*AT= Acidez Total expresso em g/L de ácido tartárico;  $C_4H_6O_6$ = Ácido Tartárico expresso em g/L; CFT=Compostos Fenólicos Totais expresso em mg/L de ácido gálico.

É possível que, por terem perdido mais cátions durante a passagem pela resina de troca iônica, os tratamentos TR0,3 e TR0,4 foram os que menos tiveram reduções no pH e diminuição da acidez total durante a fermentação alcoólica, porém foram os que mais tiveram redução no ácido tartárico. As diferenças do vinho controle para os demais tratamentos no índice de pH se mantiveram estatisticamente significativas sendo que: do TP para o TR0,1 foi de 0,07, para o TR0,2 foi de 0,13, para o TR0,3 foi de 0,18 e para o TR0,4 foi de 0,24. As diferenças de cada tratamento em sequência a partir do controle foram de: 0,07; 0,06; 0,05; 0,06. Essas diferenças permaneceram semelhantes com as dos mostos.

A redução do pH do mosto TP para o vinho TP foi de 1,6%, do mosto TR0,1 para o vinho TR0,1 foi de 1,9%, do mosto TR0,2 para o vinho TR0,2 foi de 1,6%, do mosto TR0,3 para o vinho TR0,3 foi de 1,3%, e o mosto TR0,4 para o vinho TR0,4 foi de 0,7%. Na acidez total a redução do mosto TP para o vinho TP foi de 6,1%, do mosto TR0,1 para o vinho TR0,1 foi de 6%, do mosto TR0,2 para o vinho TR0,2 foi de 5,7%, do mosto TR0,3 para o vinho TR0,3 foi de 4,5%, e o mosto TR0,4 para o vinho TR0,4 foi de 1,8%. Há uma menor porcentagem de mudanças no pH e na acidez total à medida que o tratamento com a resina aumenta a intensidade, podendo indicar uma maior estabilização tartárica e uma menor precipitação dos sais durante a fermentação alcoólica, porém não foi feita nenhuma análise específica que possa colaborar com essa discussão.

A Tabela 6 apresenta as análises físico-químicas dos vinhos realizadas após estabilização e engarrafamento, no período próximo ao que foi realizado a análise sensorial.

Tabela 6 - Análises físico-químicas dos vinhos

Análise dos vinhos					
Análise	TP	TR 01	TR02	TR03	TR04
AV* (g/L)	0,35 a ± 0,09	0,36 a ± 0,03	0,36 a ± 0,02	0,39 a ± 0,05	0,33 a ± 0,01
Álcool (%vol.)	10,23 a ± 0,078	10,36 a ± 0,094	10,37 a ± 0,094	10,23 a ± 0,087	10,24 a ± 0,159
Açúcar (g/L)	1,48 a ± 0,07	1,4 a ± 0,02	1,38 a ± 0,02	1,4 a ± 0,02	1,4 a ± 0,02
Extrato seco (g/L)	20,6 a ± 0,1	20,5 a ± 0,1	20,63 a ± 0,28	20,9 a ± 0,36	21,2 a ± 0,28
IPT* (280 nm)	4,416 a ± 0,069	4,222 a ± 0,164	4,157 a ± 0,018	4,24 a ± 0,139	4,168 a ± 0,194
CFT* (mg/L)	147,25 a ± 12,38	136,18 a ± 7,53	133,80 a ± 6,18	139,98 a ± 7,64	128,9 a ± 3,60
SO2 livre (mg/L)	7,3 a ± 0,40	7,4 a ± 0,51	7,1 a ± 0,49	7,2 a ± 0,14	7,2 a ± 0,17
SO2 comb. (mg/L)	30 a ± 2,94	33,8 a ± 3,96	32,6 a ± 4,55	35,63 a ± 7,28	23,65 a ± 3,61
SO2 total (mg/L)	37,36 ab ± 2,54	41,06 ab ± 3,97	40,06 ab ± 4,18	43,73 a ± 7,25	31,15 b ± 3,46
pH	3,15 a ± 0,006	3,08 b ± 0,006	3,02 c ± 0,012	2,97 d ± 0,012	2,91 e ± 0,014
AT* (g/L)	9,1 e ± 0,08	9,4 d ± 0,09	9,8 c ± 0,09	10,4 b ± 0,09	10,9 a ± 0,16
C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> * (g/L)	2,45 c ± 0,06	2,45 c ± 0,17	2,57 c ± 0,08	3,03 b ± 0,10	3,46 a ± 0,18

\* Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

\*AV= Acidez Volátil (expresso em ácido acético); AT = Acidez Total (expresso em ácido tartárico); C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub> = ácido tartárico; IPT=Índice de Polifenóis Totais (expresso em absorvância a 280 nm); CFT = Compostos Fenólicos Totais (expresso em mg/L de ácido gálico).

Os resultados referentes à acidez volátil, graduação alcoólica, açúcares redutores e extrato seco não tiveram diferenças significativas, sendo um resultado interessante, pois esses poderiam interferir na análise sensorial influenciando a percepção dos julgadores, e na apreciação dos vinhos, aumentando as variáveis. O fato de não ter sido encontrado mudanças significativas mostra que a passagem pelas resinas nesses níveis analisados não tem influência nesses parâmetros. Apesar de ter sido encontrado diferenças significativas nas concentrações de metais nos mostos e diferença na concentração de ácido tartárico, não foram suficientes para alterar o valor do extrato seco dos vinhos expresso em gramas por litro.

Nas análises de polifenóis (IPT e CFT), houve uma redução nos valores dos vinhos que tiveram passagem do mosto pela coluna de resina, porém não foram significativos no valor de probabilidade testado ( $P < 0,05$ ). No caso do IPT, os valores permaneceram próximos. Já na análise de CFT, um dos tratamentos do TP apresentou um valor mais baixo que as demais repetições, aumentando muito o desvio padrão. A diminuição dos compostos fenólicos totais do mosto TP para o vinho TP foi de 34,7%, do mosto TR0,1 para o vinho TR0,1 foi de 40,3%, do

mosto TR0,2 para o vinho TR0,2 foi de 41,7%, do mosto TR0,3 para o vinho TR0,3 foi de 41,02% e do mosto TR0,4 para o vinho TR0,4 foi de 36,4%, conforme a Tabela 5. As maiores reduções em porcentagem do mosto para o vinho dos compostos fenólicos totais, ocorreram nos vinhos que apresentaram os menores valores na coloração amarela (TR0,1; TR0,2; TR0,3). Esta constatação pode ter correlação com o fato desses tratamentos serem menos suscetíveis a oxidações ao longo do tempo (Tabela 9).

Em um estudo realizado por Melero (2009) com passagem por resina de troca iônica de vinhos tintos, também não houve mudanças significativas nos polifenóis. O mesmo encontrado por Bruijn (2009), uma vez que, utilizando vinhos brancos Chardonnay e passando-os por uma coluna em leito expandido com adsorvente de SP-Trisacryl-M (Sigma-Aldrich) de troca iônica também não teve resultados significativos de mudanças na composição fenólica.

Porém, resultados diferentes foram encontrados por Simões (2014), onde foi encontrado uma redução significativa nos índices de polifenóis em vinhos brancos com passagem pela resina. Nos resultados de Mira (2004) e Ibeas et al. (2015) foi relatado uma diminuição dos polifenóis de vinhos tintos que tiveram passagem por resinas iônicas. Nos resultados de Lasanta et al. (2013) com vinhos tintos, ocorreu uma diminuição dos taninos e antocianinas. Não foi encontrado nenhum trabalho com análises de polifenóis onde o foco do experimento fosse a passagem por resina do mosto de uvas brancas e não dos vinhos.

No caso do SO<sub>2</sub> livre foi decidido manter níveis baixos para que o mesmo não participasse de maneira influente na degustação e oxidação dos vinhos. Tanto o SO<sub>2</sub> livre como o combinado não tiveram diferenças significativas nas análises. Porém o SO<sub>2</sub> total para o TR0,3 com o maior valor se diferenciou do TR0,4 com menor valor, os restantes dos tratamentos não apresentaram diferenças significativas. As concentrações de SO<sub>2</sub> total, assim como no SO<sub>2</sub> livre foram mantidos relativamente baixos, justamente com a intenção de não terem muita influência nas análises, pois como visto na revisão bibliográfica, o pH tem uma influência considerável na fração livre e molecular do dióxido de enxofre nos vinhos (RIBEREAU-GAYON et al., 2007; MANFROI, 2009; COSTA, 2010).

Nas análises de pH e acidez total, as diferenças estatísticas se mantiveram como as dos mostos, sendo todos tratamentos com diferenças lineares e diferentes entre si. Na análise do ácido tartárico houve um aumento significativo e linear a partir dos tratamentos TR0,3 e TR0,4 (diferenças estatísticas como as dos mostos). Essa diferença nas concentrações do ácido tartárico, junto com a acidez total que também é um parâmetro interessante, diminuição dos cátions na análise de metais do mosto, e redução do índice de pH, demonstra um resumo

esperado do tratamento da passagem pela resina de troca catiônica, atestando o funcionamento da mesma.

A Tabela 7 apresenta os resultados das análises dos vinhos realizadas com o colorímetro e com o espectrofotômetro após estabilização e engarrafamento, no período próximo ao que foi realizado a análise sensorial.

Tabela 7 - Análise dos vinhos com colorímetro das coordenadas CIELab e com o espectrofotômetro em densidade ótica de 420 nm

Cor vinhos CIELab e D.O. 420 nm					
Análise	TP	TR 0,1	TR0,2	TR0,3	TR0,4
<b>L*</b>	75,16 <b>a</b> ± 0,064	75,39 <b>a</b> ± 0,087	75,53 <b>a</b> ± 0,153	75,55 <b>a</b> ± 0,12	75,17 <b>a</b> ± 0,093
<b>a*</b>	-2,089 <b>a</b> ± 0,04	-2,075 <b>a</b> ± 0,027	-2,034 <b>a</b> ± 0,013	-2,052 <b>a</b> ± 0,028	-2,05 <b>a</b> ± 0,029
<b>b*</b>	6,283 <b>a</b> ± 0,164	5,605 <b>b</b> ± 0,166	5,226 <b>b</b> ± 0,435	5,172 <b>b</b> ± 0,119	5,824 <b>ab</b> ± 0,155
<b>C*</b>	6,622 <b>a</b> ± 0,153	5,977 <b>b</b> ± 0,15	5,609 <b>b</b> ± 0,410	5,565 <b>b</b> ± 0,105	6,174 <b>ab</b> ± 0,156
<b>h</b>	108,4 <b>b</b> ± 0,635	110,32 <b>ab</b> ± 0,732	111,33 <b>a</b> ± 1,443	111,65 <b>a</b> ± 0,651	109,39 <b>ab</b> ± 0,218
<b>420 nm</b>	0,086 <b>a</b> ± 0,006	0,074 <b>bc</b> ± 0,002	0,073 <b>bc</b> ± 0,004	0,070 <b>c</b> ± 0,003	0,081 <b>ab</b> ± 0,001

\* Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

L\* = luminosidade; a\* = componente verde-vermelho; b\* = componente azul-amarelo; C\* = cromaticidade da cor; h = ângulo da tonalidade da cor; 420 nm = absorvância aos 420 nm com espectrofotômetro.

Na Tabela 7, a cor dos vinhos com os resultados expressos através do colorímetro na coordenada L\* que indica luminosidade, onde quanto mais alto o valor mais próximo da cor branca é a amostra, todos tratamentos tiveram valores muito próximos, não apresentado diferenças significativas. O mesmo ocorreu na coordenada a\* (vermelho/verde) onde não ocorreu diferenças relevantes.

Já na b\* (coordenada amarelo/azul) onde quanto maior o valor mais a coloração tende a cor amarela, a amostra TP teve maiores valores do que os tratamentos TR0,1, TR0,2 e TR0,3. Como na análise realizada com o espectrofotômetro em que o Tratamento TR0,4 não se diferenciou do TP, porém, nesse caso, também não se diferenciou dos demais tratamentos. Na análise da coordenada C, que indica cromaticidade (saturação), as diferenças significativas foram idênticas à coordenada b\*. O h que indica a tonalidade e classificação geral da cor o TR0,2 e TR0,3 se diferenciaram do TP, porém o TR0,1 e TR0,4 não tiveram diferenças relevantes nem do tratamento controle e nem dos demais tratamentos. Esses resultados indicam

uma maior oxidação do vinho testemunha e do TR0,4 com relação aos tratamentos TR0,1, TR0,2 e TR0,3 que tiveram valores estatisticamente menores na coordenada  $b^*$  e  $C^*$ .

Nas análises com o espectrofotômetro em densidade ótica de 420 nm o TP não se diferenciou do TR0,4 que no mosto se apresentou com o índice mais alto e diferente dos demais devido à uma maior oxidação do mosto. O TR0,1 e TR0,2 se diferenciaram do TP com valores mais baixos, mas não do TR0,4. O tratamento TR0,3 teve os valores mais baixos se diferenciando de todos significativamente e demonstrando maior proteção oxidativa.

Tanto nas análises realizadas com o colorímetro, quanto com o espectrofotômetro, os valores encontrados obtiveram, de maneira geral, diferenças estatísticas similares entre os tratamentos. Isso aumenta a robustez dos resultados, indicando que o tratamento com passagem pela resina catiônica, nesse caso específico até uma diminuição do pH do mosto de 0,19 (TR0,3), colaborou com a diminuição da cor e oxidações nos vinhos. No caso do TR0,4, é possível que a incorporação de oxigênio no mosto durante o tratamento de passagem pela resina tenha superado o efeito protetor causada pela redução do pH frente a oxidações.

Dando continuidade, é apresentada a Tabela 8, onde mostra os resultados das análises referentes às concentrações dos compostos voláteis analisados nos mostos após a fermentação. Na tabela, as análises foram separadas em compostos leves, álcoois, ácidos voláteis, acetatos, ésteres etílicos e outros. Os valores de cada classe foram somados sendo possível observar o total de cada uma nos diferentes tratamentos.

Tabela 8 - Concentração de compostos aromáticos nos vinhos

Concentração média (mg/L) dos compostos voláteis dos vinhos					
Tratamento	TP	TR 1	TR 2	TR 3	TR 4
<b>COMPOSTOS LEVES</b>	<b>118,535</b>	<b>141,065</b>	<b>167,830</b>	<b>120,230</b>	<b>120,640</b>
Metanol	112,893 <b>b</b> ± 10,57	136,663 <b>ab</b> ± 15,81	162,338 <b>a</b> ± 34,41	116,126 <b>b</b> ± 13,78	116,343 <b>b</b> ± 9,79
Acetaldeído	5,641 <b>a</b> ± 5,64	4,401 <b>a</b> ± 4,40	5,491 <b>a</b> ± 5,49	4,105 <b>a</b> ± 4,10	4,300 <b>a</b> ± 4,3
<b>ÁLCOOIS</b>	<b>159,291</b>	<b>166,131</b>	<b>169,354</b>	<b>167,005</b>	<b>190,440</b>
1-propanol	49,031 <b>a</b> ± 6,59	48,736 <b>a</b> ± 3,55	46,005 <b>a</b> ± 7,0	41,143 <b>a</b> ± 4,19	40,460 <b>a</b> ± 4,34
2-metil-1-propanol	17,351 <b>b</b> ± 1,83	18,961 <b>b</b> ± 1,15	19,468 <b>b</b> ± 2,10	19,936 <b>b</b> ± 1,83	25,393 <b>a</b> ± 0,19
2-metil-1-butanol	16,816 <b>c</b> ± 1,14	17,461 <b>bc</b> ± 1,19	18,581 <b>bc</b> ± 0,91	19,473 <b>b</b> ± 2,86	22,160 <b>a</b> ± 0,72
3-metil-1-butanol	65,928 <b>b</b> ± 7,69	70,898 <b>b</b> ± 5,24	73,766 <b>ab</b> ± 4,09	73,666 <b>ab</b> ± 8,90	84,930 <b>a</b> ± 5,40
2- Feniletanol	6,766 <b>b</b> ± 1,35	6,915 <b>b</b> ± 1,51	8,1266 <b>b</b> ± 1,24	9,363 <b>b</b> ± 4,04	14,232 <b>a</b> ± 4,13
Hexanol	3,395 <b>a</b> ± 0,24	3,156 <b>a</b> ± 0,15	3,405 <b>a</b> ± 0,29	3,421 <b>a</b> ± 0,62	3,265 <b>a</b> ± 0,39
Cis-3-hexan-1-ol	ND	ND	ND	ND	ND
Trans-3-hexen-1-ol	ND	ND	ND	ND	ND
<b>ÁCIDOS VOLÁTEIS</b>	<b>18,146</b>	<b>19,541</b>	<b>18,555</b>	<b>19,170</b>	<b>18,920</b>
Ácido Octanóico	8,625 <b>a</b> ± 0,83	9,710 <b>a</b> ± 1,44	8,898 <b>a</b> ± 1,93	9,526 <b>a</b> ± 0,77	9,575 <b>a</b> ± 1,84
Ácido Decanóico	7,491 <b>a</b> ± 0,18	7,523 <b>a</b> ± 0,39	7,298 <b>a</b> ± 0,31	7,370 <b>a</b> ± 0,21	7,145 <b>a</b> ± 0,43
Ácido Dodecanóico	2,030 <b>a</b> ± 0,29	2,308 <b>a</b> ± 0,36	2,358 <b>a</b> ± 0,74	2,273 <b>a</b> ± 0,55	2,200 <b>a</b> ± 0,58
Ácido Isobutírico	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido Butírico	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido Hexanóico	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido Isovalerânico	ND	ND	ND	ND	ND
<b>ACETATOS</b>	<b>6,065</b>	<b>5,255</b>	<b>4,956</b>	<b>2,105</b>	<b>2,041</b>
Acetato de isoamila	1,393 <b>a</b> ± 0,26	0,750 <b>b</b> ± 0,20	0,511 <b>bc</b> ± 0,34	0,164 <b>cd</b> ± 0,29	0,058 <b>d</b> ± 0,11
Acetato de hexila	2,450 <b>a</b> ± 0,19	2,495 <b>a</b> ± 0,10	2,336 <b>a</b> ± 0,20	0,001 <b>b</b> ± 0	0,001 <b>b</b> ± 0
Acetato de butila	2,221 <b>a</b> ± 0,29	2,010 <b>a</b> ± 0,11	2,108 <b>a</b> ± 0,52	1,940 <b>a</b> ± 0,23	1,982 <b>a</b> ± 0,46
Acetato de feniletila	ND	ND	ND	ND	ND
<b>ÉSTERES ETÍLICOS</b>	<b>8,101</b>	<b>7,651</b>	<b>7,475</b>	<b>7,605</b>	<b>6,718</b>
Hexanoato de Etila	1,988 <b>a</b> ± 0,08	1,991 <b>a</b> ± 0,17	1,968 <b>a</b> ± 0,08	2,031 <b>a</b> ± 0,13	1,837 <b>a</b> ± 0,13
Octanoato de Etila	5,385 <b>a</b> ± 0,12	5,331 <b>a</b> ± 0,25	5,128 <b>a</b> ± 0,44	5,158 <b>a</b> ± 0,22	4,880 <b>a</b> ± 0,70
Decanoato de Etila	0,728 <b>a</b> ± 0,49	0,328 <b>ab</b> ± 0,31	0,378 <b>ab</b> ± 0,39	0,415 <b>ab</b> ± 0,46	0,001 <b>b</b> ± 0
Dodecanoato de Etila	ND	ND	ND	ND	ND
<b>OUTROS</b>	<b>34,230</b>	<b>32,755</b>	<b>30,818</b>	<b>26,401</b>	<b>26,844</b>
Acetato de Etila	27,06 <b>a</b> ± 2,77	26,008 <b>a</b> ± 1,84	23,665 <b>a</b> ± 1,70	19,985 <b>b</b> ± 2,17	19,856 <b>b</b> ± 2,02
Hexanal	2,053 <b>a</b> ± 0,50	1,681 <b>a</b> ± 0,25	1,54 <b>a</b> ± 0,29	1,586 <b>a</b> ± 0,49	1,722 <b>a</b> ± 0,66
Dietil Succinato	5,116 <b>a</b> ± 0,94	5,065 <b>a</b> ± 1,35	5,61 <b>a</b> ± 1,69	4,830 <b>a</b> ± 0,64	5,265 <b>a</b> ± 0,92

\* Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P≤0,05). \* ND = Não Detectado.

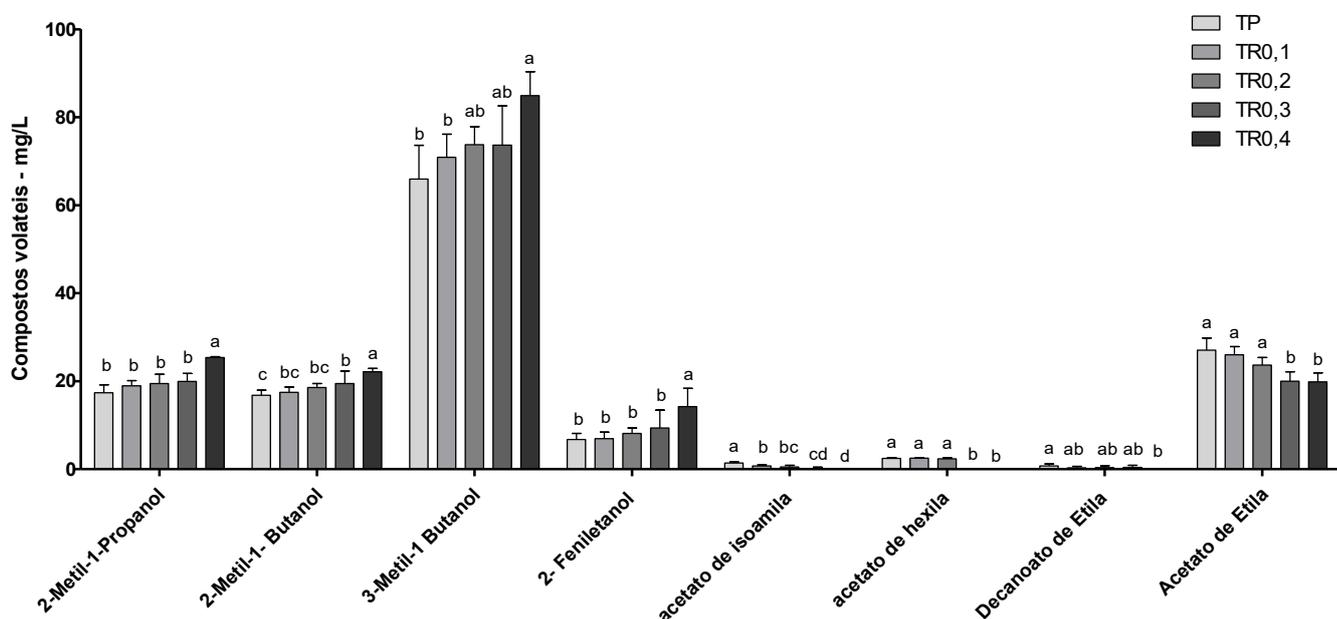
Nas análises dos compostos leves, o metanol apresentou os maiores valores, com diferença significativas no TR0,1 e TR0,2. Porém, essa diferença pode ser considerada algum erro da análise, visto que todos os tratamentos partiram de um mesmo mosto previamente clarificado e homogêneo. Os desvios padrão das médias desses dois tratamentos são os maiores, sendo que o TR0,2 (que teve os maiores valores) apresentou um desvio praticamente três vezes maior que os demais tratamentos. O composto acetaldeído não apresentou diferenças estatísticas.

Nas análises de álcoois superiores, o 1-propanol e o hexanol não se diferenciaram. Os compostos Cis-3-hexan-1-ol e Trans-3-hexen-1-ol foram analisados, porém não foram identificados em nenhum dos vinhos. O acetato de butila não teve diferenças e o Acetato de feniletila foi analisado, porém também não foi detectado em nenhuma amostra.

Os estéres hexanoato de etila e octanoato de etila não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, e o dodecanoato de etila não teve concentrações detectadas em nenhuma dos vinhos. Os compostos hexanal e dietil succinato também não apresentaram diferenças significativas nos níveis de probabilidade testados.

Os compostos aromáticos que tiveram diferenças significativas neste experimento (menos o metanol) são apresentados em forma de gráfico de barras verticais (Figura 24) com o intuito de facilitar a visualização e interpretação dos valores obtidos pela análise de cromatografia em fase gasosa.

Figura 24 - Representação gráfica dos compostos voláteis analisados que foram considerados com modificações importantes



\*Letras distintas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Para os compostos 2-metil-1-propanol e 2-Feniletanol as diferenças estatísticas ocorreram somente entre o TP e o TR0,4 em que o TR0,4 teve os maiores valores. O composto 2-metil-1-butanol teve um aumento gradativo, porém só o TR0,3 e TR0,4 tiveram diferenças significativas comparando com a tratamento padrão. E o 3-metil-1-butanol, teve diferenças do TP e TR0,1 em relação ao TR0,4. Esse aumento dos álcoois superiores pode ser visto como um fator negativo, pois a maioria deles possui descritores aromáticos vistos como desagradáveis como solvente ou gorduroso, porém alguns possuem aromas agradáveis como o 2-Feniletanol e são precursores de alguns ésteres importantes em vinhos brancos. Mas de acordo com Rapp e Versini (1996), a concentração dos álcoois superiores abaixo de 300 mg/L é considerada desejável e pode contribuir com os aromas dos vinhos. Apesar de não terem sido constatadas diferenças significativas individuais com TP perante aos tratamentos TR0,1, TR0,2 e TR0,3 (exceto no 2-metil-1-butanol onde o TR0,3 também se diferenciou do TP), observa-se uma tendência de aumento da concentração de álcoois superiores em vinhos oriundos de mostos tratados com resina.

Segundo Boulton et al. (2002) a deficiência de nitrogênio amínico livre obriga as células de leveduras a obter nitrogênio dos aminoácidos disponíveis formando, como parte desaminada, um álcool superior e, do mesmo modo, um excesso de componentes nitrogenados contribui para

que a formação de álcoois superiores diminua. Essa informação vai ao encontro do resultado da análise de nitrogênio amoniacal (NA) dos mostos, onde ocorreu uma diminuição do nitrogênio disponível com diferenças significativas a partir dos tratamentos TR0,3 e TR0,4.

Entre os acetatos, o acetato de isoamila teve um decréscimo significativo, onde a medida em que os mostos dos tratamentos passaram pela resina, a formação desse composto no vinho diminuiu progressivamente. Isso pode ser interpretado como um fator negativo, visto que este composto possui descritores aromáticos agradáveis como banana, frutado, verde, pera e possui um limiar de percepção baixo (0,03 mg/L). O acetato de hexila também teve um decréscimo significativo a partir no TR0,3 e TR0,4 que, da mesma maneira, contribui com aromas interessantes (possui descritores aromáticos como doce e perfume).

O acetato de etila que é o éster de maior concentração nos vinhos teve uma redução significativa onde os tratamentos TR0,3 e TR0,4 se diferenciaram dos demais tratamentos. Normalmente, este éster é descrito com aromas desagradáveis do tipo pungente, solvente, denominado “acescência” característico do vinagre (PEYNAUD; BLOUIN, 2010; RIBÉREAU-GAYON et al., 2007). Porém, em baixas concentrações, segundo Ribéreau-Gayon et al (2007) pode contribuir de maneira positiva para a complexidade aromática do vinho, com descritores do tipo frutado e doce.

Os acetatos de álcoois superiores, principais responsáveis dos aromas fermentativos de vinhos brancos, são sintetizados pelas leveduras através da reação da acetil-CoA com um álcool, o qual é formado a partir da degradação dos aminoácidos. Esta síntese é catalisada pelas enzimas aminotransferase, álcool desidrogenase e álcool acetil transferase (SAERENS et al., 2008).

O fato de ter sido encontrado uma maior concentração de álcoois superiores e menor concentração de acetatos de álcoois superiores nos vinhos com passagem pela resina pode ser explicado devido à retirada de alguns cátions que poderiam ter funções catalíticas como cofatores enzimáticos (STEHLIK-THOMAS et al., 2004). Isso pode ter causando variação no funcionamento das enzimas responsáveis por essa acetilação, diminuindo a formação desses acetatos e, conseqüentemente, com o composto volátil permanecendo na forma de álcool superior. De acordo com Boulton et al. (2002) o conteúdo de nitrogênio disponível também influi na quantidade de ésteres, onde a formação dos ésteres diminui em mostos com pouco nitrogênio disponível pois os esqueletos carbonados dos aminoácidos são os precursores dos ésteres.

No trabalho de Lasanta et al. (2013), ao analisar alguns compostos voláteis de vinhos tintos com passagens pela resina com diminuições dos índices de pH de 3,8 do vinho controle,

para 3,5 e 3,3, alguns compostos foram identificados com diferenças significativas nas suas concentrações, porém nenhum composto analisado com diferenças significativas teve resultados semelhantes. No caso do acetato de isoamila que teve uma redução importante no presente trabalho, no artigo analisado, apesar das concentrações serem maiores e as reduções do pH também serem maiores, não foi encontrado diferenças significativas entre as amostras.

O éster decanoato de etila teve diferenças significativas entre o TP e TR0,4 com uma redução praticamente total desse composto. Esse éster possui descritores aromáticos do tipo floral. Ao contrário, no trabalho de Lasanta et al. (2013), esse composto teve um aumento significativo com a redução do pH de 3,8 para 3,3. O octanoato de etila, não teve diferenças neste trabalho, porém, para Lassanta ocorreu um aumento significativo como o composto decanoato de etila. Compostos como Hexanal, hexanoato de etila, acetaldeído, dietil succinato analisados nos dois trabalhos, em ambos não houve diferenças relevantes.

Diferente do presente trabalho onde a utilização da resina iônica foi realizada no mosto, pré-fermentação, no trabalho de Lasanta et al. (2013) a passagem pela resina foi realizada no vinho, o que diferencia os resultados, sendo que os compostos encontrados nas análises já haviam se formado anteriormente durante a fermentação alcoólica. Segundo Cruz (2014), os ésteres, devido à sua elevada hidrofobicidade, são adsorvidos na superfície da matriz das resinas, também hidrofóbica, verificando-se perdas maiores à medida que a porcentagem de vinho que passa pela resina aumenta. Em um ensaio com vinhos tintos, rosés e vinhos base de espumantes brancos e rosés, realizado por Cruz (2014), foi observado uma tendência para uma diminuição dos compostos aromáticos, apesar de um número reduzido de compostos com diferenças estatísticas.

Os resultados da diferenciação da composição aromática dos vinhos mostraram-se muito interessantes visto que a resina provavelmente pode ter extraído alguns precursores aromáticos presentes no mosto, ou catalisadores da formação desses compostos, que possuem relação com a formação de determinado álcool ou éster. As leveduras fermentando com diferentes índices de pH e substratos disponíveis podem ter tido seu metabolismo modificado, produzindo diferentes compostos ao longo da fermentação alcoólica. A diminuição do nitrogênio amoniacal e redução de alguns cátions nos mostos dos tratamentos com passagem pela resina pode ter influenciado nas diferentes concentrações encontradas, como visto na revisão bibliográfica. Foi possível correlacionar os resultados encontrados nestas análises, com as diferenças da análise organoléptica desses vinhos descrita na sequência deste trabalho.

#### 5.4 EVOLUÇÃO DA COR E OXIDAÇÃO DOS VINHOS

A Tabela 9 apresenta as diferenças da evolução da cor e oxidação entre os tratamentos em quatro períodos com um intervalo de 3 meses entre cada análise (as análises foram realizadas nos meses de março, junho, setembro e dezembro do ano de 2016). As análises estatísticas foram realizadas comparando os tratamentos entre si em cada parâmetro nos meses em que foram realizadas as análises (diferenças significativas testadas por colunas). Foram realizadas análises com o colorímetro onde foram coletados os resultados das coordenadas CIELab e espectrofotômetro com absorbância aos 420 nm característico da cor amarela.

Tabela 9 - Comparação da evolução da cor entre os tratamentos a cada três meses durante um período de nove meses

Coordenadas		Março	Junho	Setembro	Dezembro
<b>L*</b>	TP	72,5 <b>b</b> ± 0,048	75,39 <b>a</b> ± 0,165	74,65 <b>b</b> ± 0,138	73,87 <b>a</b> ± 0,262
	TR0,1	72,93 <b>ab</b> ± 0,065	75,57 <b>a</b> ± 0,083	74,89 <b>ab</b> ± 0,119	74,05 <b>a</b> ± 0,099
	TR0,2	72,87 <b>ab</b> ± 1,790	75,62 <b>a</b> ± 0,239	74,96 <b>a</b> ± 0,107	74,13 <b>a</b> ± 0,104
	TR0,3	73 <b>ab</b> ± 0,535	75,63 <b>a</b> ± 0,114	74,99 <b>a</b> ± 0,027	74,60 <b>a</b> ± 0,133
	TR0,4	73,92 <b>a</b> ± 0,705	75,67 <b>a</b> ± 0,276	74,87 <b>ab</b> ± 0,106	74,13 <b>a</b> ± 0,033
<b>a*</b>	TP	-1,234 <b>b</b> ± 0,037	-1,864 <b>bc</b> ± 0,026	-2,074 <b>a</b> ± 0,029	-2,218 <b>ab</b> ± 0,057
	TR0,1	-1,291 <b>b</b> ± 0,041	-1,898 <b>a</b> ± 0,052	-2,114 <b>a</b> ± 0,063	-2,285 <b>a</b> ± 0,069
	TR0,2	-1,303 <b>b</b> ± 0,029	-1,794 <b>ab</b> ± 0,045	-2,013 <b>ab</b> ± 0,028	-2,170 <b>ab</b> ± 0,041
	TR0,3	-1,29 <b>b</b> ± 0,069	-1,731 <b>c</b> ± 0,005	-1,930 <b>b</b> ± 0,036	-2,066 <b>b</b> ± 0,028
	TR0,4	-1,451 <b>a</b> ± 0,178	-1,839 <b>abc</b> ± 0,032	-1,997 <b>ab</b> ± 0,057	-2,110 <b>b</b> ± 0,055
<b>b*</b>	TP	5,033 <b>a</b> ± 0,199	6,759 <b>a</b> ± 0,305	8,079 <b>a</b> ± 0,221	11,232 <b>a</b> ± 0,499
	TR0,1	4,684 <b>b</b> ± 0,066	6,563 <b>ab</b> ± 0,186	7,871 <b>ab</b> ± 0,094	10,884 <b>a</b> ± 0,059
	TR0,2	4,412 <b>bc</b> ± 3,607	6,092 <b>b</b> ± 0,174	7,385 <b>bc</b> ± 0,141	10,341 <b>a</b> ± 0,263
	TR0,3	4,345 <b>c</b> ± 0,906	6,026 <b>b</b> ± 0,21	6,953 <b>c</b> ± 0,174	8,813 <b>b</b> ± 0,623
	TR0,4	4,731 <b>ab</b> ± 1,953	6,115 <b>ab</b> ± 0,279	7,312 <b>bc</b> ± 0,338	9,784 <b>ab</b> ± 0,623
<b>C*</b>	TP	5,183 <b>a</b> ± 0,195	7,012 <b>a</b> ± 0,287	8,3413 <b>a</b> ± 0,207	11,45 <b>a</b> ± 0,478
	TR0,1	4,858 <b>b</b> ± 0,071	6,832 <b>ab</b> ± 0,193	8,151 <b>ab</b> ± 0,106	11,12 <b>a</b> ± 0,059
	TR0,2	4,601 <b>bc</b> ± 3,565	6,351 <b>b</b> ± 0,159	7,655 <b>bc</b> ± 0,132	10,56 <b>a</b> ± 0,266
	TR0,3	4,532 <b>c</b> ± 0,895	6,27 <b>b</b> ± 0,2	7,216 <b>c</b> ± 0,166	9,05 <b>b</b> ± 0,609
	TR0,4	4,949 <b>ab</b> ± 1,927	6,386 <b>ab</b> ± 0,277	7,58 <b>bc</b> ± 0,341	10,01 <b>ab</b> ± 0,620
<b>h</b>	TP	103,79 <b>b</b> ± 0,576	105,44 <b>a</b> ± 0,864	104,40 <b>a</b> ± 0,559	101,18 <b>b</b> ± 0,767
	TR0,1	105,40 <b>ab</b> ± 0,259	106,13 <b>a</b> ± 0,085	105,03 <b>a</b> ± 0,277	101,86 <b>ab</b> ± 0,359
	TR0,2	106,47 <b>a</b> ± 2,612	106,42 <b>a</b> ± 0,749	105,25 <b>a</b> ± 0,434	101,85 <b>ab</b> ± 0,100
	TR0,3	106,54 <b>a</b> ± 0,621	106,04 <b>a</b> ± 0,583	105,52 <b>a</b> ± 0,511	103,22 <b>a</b> ± 0,836
	TR0,4	107,06 <b>a</b> ± 1,212	106,74 <b>a</b> ± 0,44	105,28 <b>a</b> ± 0,255	102,18 <b>ab</b> ± 0,447
<b>420 nm</b>	TP	0,092 <b>a</b> ± 0,004	0,090 <b>a</b> ± 0,004	0,098 <b>a</b> ± 0,003	0,130 <b>a</b> ± 0,008
	TR0,1	0,069 <b>b</b> ± 0,003	0,081 <b>b</b> ± 0,003	0,096 <b>a</b> ± 0,004	0,125 <b>a</b> ± 0,003
	TR0,2	0,077 <b>b</b> ± 0,010	0,078 <b>b</b> ± 0,001	0,088 <b>b</b> ± 0,003	0,117 <b>ab</b> ± 0,006
	TR0,3	0,07 <b>b</b> ± 0,003	0,079 <b>b</b> ± 0,004	0,087 <b>b</b> ± 0,001	0,106 <b>b</b> ± 0,004
	TR0,4	0,076 <b>b</b> ± 0,003	0,078 <b>b</b> ± 0,001	0,088 <b>b</b> ± 0	0,116 <b>ab</b> ± 0,008

\* Médias seguidas por letras distintas nas colunas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

L\* = luminosidade; a\* = componente verde-vermelho; b\* = componente azul-amarelo; C\* = cromaticidade da cor; h = ângulo da tonalidade da cor; 420 nm = absorvância aos 420 nm com espectrofotômetro.

Analisando os dados obtidos através do colorímetro na Tabela 9, na coordenada L\* (luminosidade) todos os tratamentos tiveram um aumento dos valores do mês de março para junho e, em seguida, em setembro, houve uma redução. Na primeira análise no mês de março teve diferenças entre o TP e TR0,4 onde o TP teve o menor valor. No mês de setembro foi possível verificar diferenças estatísticas entre os tratamentos onde os tratamentos TR0,2 e TR0,3 se mantiveram com valores maiores de luminosidade apesar dos resultados serem extremamente próximos. No mês de junho e dezembro, os tratamentos não tiveram diferenças estatísticas. No caso dessa coordenada, os valores obtidos são próximos e as diferenças encontradas são relativamente baixas em todos os meses, inclusive nos que se obtiveram diferenças estatísticas.

Seguindo a tabela, na coordenada a\* todos os vinhos tiveram um aumento significativo ao longo dos meses da coloração tendendo para a cor verde (maiores valores negativos). Em março, o TR0,4 teve o maior valor sendo diferente estatisticamente de todos os demais tratamentos. Em junho, todos os tratamentos aumentaram suas cores, porém os que se diferenciaram foram o TR0,1 que teve o maior valor, o TR0,3 obteve o menor valor, o TR0,4 não teve diferenças com o TP, TR0,2 e TR0,3. No ponto 3, mês de setembro, houve diferença significativa entre o TR0,3 com menor valor e o TP e TR0,1 que tiveram os valores mais altos, o restante não se diferenciou estatisticamente. Já em dezembro, o TR0,3 e TR0,4 se diferenciaram do TR0,1, o restante não teve diferenças. Observando esses dados, é possível relacionar uma maior resistência ao aumento de cor aos tratamentos que tiveram o índice de pH com as maiores reduções (TR0,3 e TR0,4) e, conseqüentemente, menor oxidação dos tratamentos ao longo do tempo.

Na coordenada b\* onde é possível acompanhar a evolução dos vinhos através da oxidação e aumento da cor amarela das amostras, é significativo as diferenças dos vinhos testemunha para os demais tratamentos, sendo que à medida que os meses vão passando os tratamentos vão se aproximando da testemunha gradativamente, porém, em dezembro o TR0,3 continua ainda diferente dos demais estatisticamente, o que indica uma maior resistência à oxidação ao longo do tempo.

Os resultados da coordenada b\* tiveram um aumento gradativo já esperado devido à oxidação química que ocorre nos vinhos. Porém, os maiores valores, como visto nas tabelas, são do tratamento controle seguindo uma sequência quase que linear do aumento (TR0,1 seguido do TR0,2 e após TR0,3 e TR0,4). O TR0,4 é o que menos difere nos três primeiros meses, porém ele inicia com um valor um pouco mais elevado. Na coordenada C

(cromaticidade), as diferenças significativas são exatamente iguais ao  $b^*$ , onde há um aumento significativo ao longo dos meses em todos os tratamentos, exceto no TR0,4.

No ângulo de tonalidade (h), pelos resultados expressos na tabela, as diferenças significativas ocorreram nos meses de março em que o TP teve o menor valor e se diferenciou dos tratamentos TR0,2, TR0,3 e TR0,4, o tratamento TR0,1 não teve diferenças significativas com nenhum tratamento. Nos meses seguintes de junho e setembro os tratamentos não se diferenciaram, porém ocorreu uma redução geral dos valores. No quarto ponto, mês de dezembro, o TP tem diferenças estatísticas com o TR0,3, onde o último possui maior valor. Os demais não se diferem de nenhum dos dois.

Na análise com o espectrofotômetro na densidade ótica de 420 nm que é utilizada para ver a evolução da oxidação de vinhos, ficou nítida a diferença que o tratamento com a passagem pela resina causou nas amostras ao longo do tempo, onde nos três primeiros meses (pontos de março e junho) o TP permaneceu com um valor maior e diferente estatisticamente de todos os tratamentos. No mês de setembro o TP e o TR0,1 foram iguais e diferentes dos demais. Em dezembro o único que permaneceu diferente do TP e TR0,1 com um valor menor foi o TR0,3, porém o TR0,2 e TR0,4 não se diferenciaram do TR0,3.

As análises de absorvância em 420 nm vão ao encontro das análises obtidas com o colorímetro, principalmente as da coordenada  $b^*$  do eixo CIElab onde valores positivos representam a cor amarela. Nas duas análises é possível verificar maior proteção contra oxidações ao longo do tempo dos vinhos que tiveram seus mostos com passagem pela resina de troca iônica. Isso os deixa com uma maior aptidão, por exemplo, para uma passagem dos vinhos por barricas com mais segurança, inibição da fermentação malolática se essa for a opção, e possível estocagem do vinho para os anos seguintes, o que é estrategicamente importante para as vinícolas pois, assim, independente da safra, conseguem permanecer com o produto no mercado e manter um padrão.

Além do pH menor do tratamento, a diminuição de alguns cátions catalisadores de oxidação como o cobre analisado no mosto, pode ter tido influência na maior estabilidade oxidativa dos vinhos com passagem pela resina. Apesar das análises de polifenóis não apresentarem diferenças significativas, talvez algum polifenol específico tenha sido modificado, porém não detectado nas análises realizadas onde foi possível apenas verificar a sua totalidade.

Lasanta et al. (2013), em um experimento com vinhos tintos onde o pH do vinho controle era de 3,8 e os tratamentos 3,5 e 3,3 fez um teste de oxidação forçada onde todos os vinhos tratados têm uma melhora significativa na estabilidade oxidativa, do mesmo jeito que

visualizado neste trabalho, onde os tratamentos tiveram uma menor oxidação ao longo do tempo. Lassanta explica que, além da diminuição do pH, a retirada de compostos como Cu e Fe podem ter influenciado em seu experimento. Melero (2009) comparou a estabilidade oxidativa de vinhos tintos com passagem pela resina do mosto (pré-fermentativo) e do vinho. Todos os vinhos tratados com a resina melhoram significativamente sua estabilidade.

Benítez et al. (2002) realizou um ensaio eletroquímico em 12 vinhos brancos Chardonnay, para um escurecimento acelerado dos vinhos antes e depois do tratamento com resinas de troca iônica. Os vinhos tratados com a resina foram menos suscetíveis ao escurecimento e oxidação, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho. Os autores atribuem essa menor suscetibilidade à redução de alguns cátions relacionados à oxidação e à diminuição de alguns polifenóis específicos analisados.

## 5.5 ANÁLISE SENSORIAL DOS VINHOS

Tendo em vista que o vinho é um produto para consumo humano, a sua caracterização através de uma análise organoléptica é importante. A maioria das decisões tomadas na prática em enologia passam por uma análise sensorial e, normalmente, é realizada com mais do que um julgador. Neste experimento foram encontrados resultados interessantes que vão ao encontro das análises realizadas nos vinhos desse experimento.

A Tabela 10 apresenta os resultados da análise descritiva quantitativa (ADQ) realizada com os vinhos deste experimento. Foram avaliadas características consideradas interessantes como parâmetros de vinhos base de espumantes de qualidade, separados por análise visual, olfativa e gustativa.

Tabela 10 - Resultados da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

TRATAMENTO	ANÁLISE VISUAL							
	Intensidade de Cor							
TP	5,3 a ± 1,75							
TR 01	4,4 a ± 1,37							
TR 02	4,8 a ± 1,42							
TR 03	4,6 a ± 1,58							
TR 04	4,3 a ± 1,86							

TRATAMENTO	ANÁLISE OLFATIVA							
	Nitidez (fineza)	Intensidade	Qualidade	Frutado	Floral	Cítrico	Vegetal	Acidez Volátil
TP	6 a ± 1,59	6 a ± 1,45	6,4 a ± 1,2	5,9 a ± 1,59	5,6 a ± 1,84	4,9 a ± 2,1	2,6 a ± 2,07	0,7 a ± 0,66
TR 01	5,2 a ± 1,64	5,2 ab ± 1,47	5,3 ab ± 1,39	4,8 b ± 1,83	4,5 ab ± 1,91	4,5 ab ± 2,2	2,7 a ± 2,15	0,8 a ± 0,71
TR 02	5,4 a ± 1,51	5,4 ab ± 1,39	5,3 ab ± 1,45	4,8 b ± 1,78	4,4 ab ± 2,04	4,2 ab ± 2,1	3,1 a ± 2,14	0,8 a ± 0,59
TR 03	5,1 a ± 1,63	5,2 ab ± 1,63	5,1 ab ± 1,56	4,8 b ± 1,94	4,5 ab ± 2,04	4,5 ab ± 1,9	2,9 a ± 2,10	0,7 a ± 0,83
TR 04	4,2 a ± 1,91	4,6 b ± 1,58	4,3 b ± 1,86	4,0 b ± 2,18	3,6 b ± 2,23	3,5 b ± 2,0	3,0 a ± 2,07	0,9 a ± 0,81

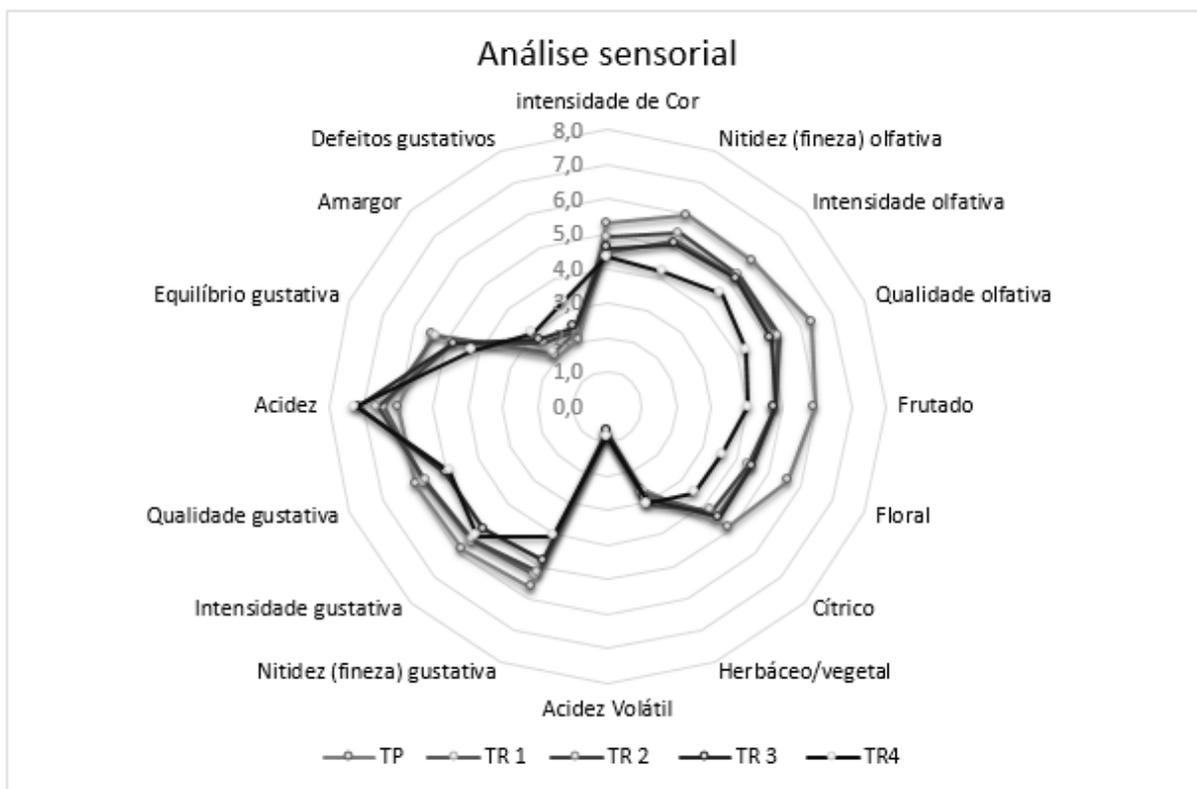
  

TRATAMENTO	ANÁLISE GUSTATIVA						
	Nitidez (fineza)	Intensidade	Qualidade	Acidez	Equilíbrio	Amargor	Defeitos
TP	5,7 a ± 1,5	5,9 a ± 1,3	5,9 a ± 1,4	6,0 b ± 1,6	5,4 a ± 1,5	2,1 b ± 1,7	2,0 b ± 2,3
TR 01	5,3 a ± 1,7	5,5 a ± 1,3	5,7 ab ± 1,5	6,4 ab ± 1,7	5,3 ab ± 1,4	2,1 b ± 2,0	2,3 ab ± 2,4
TR 02	5,2 ab ± 1,7	5,4 a ± 1,2	5,6 abc ± 1,6	6,6 ab ± 1,3	4,8 ab ± 1,6	2,6 ab ± 2,4	2,3 ab ± 2,3
TR 03	4,8 ab ± 1,9	5,5 a ± 1,6	5,0 bc ± 1,6	7,1 a ± 1,5	4,8 ab ± 1,6	2,7 ab ± 2,4	2,4 ab ± 2,4
TR 04	4,1 b ± 1,9	5,3 a ± 1,9	4,9 c ± 1,7	7,2 a ± 1,5	4,2 b ± 1,8	3,0 a ± 2,3	3,3 a ± 2,4

\* Os dados estão apresentados como média ± desvio-padrão. Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, dentro de cada descritor, apresentam diferença significativa ao nível de 5% de significância.

Os resultados estatísticos expressos na Tabela 10, junto com o gráfico de radar da Figura 25, mostram as diferenças entre os tratamentos nas características sensoriais avaliadas consideradas relevantes na qualidade dos vinhos base de espumante.

Figura 25 - Comparação entre as médias dos atributos dos vinhos encontrados na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)



No quesito visual, a intensidade de cor, apesar do tratamento controle ter recebido um valor maior na média dos julgadores, os resultados não foram significativos no valor de probabilidade testado. Já nas análises físico-químicas de cor o TP teve diferenças significativas com os demais tratamentos, obtendo valores maiores na intensidade da cor amarela.

Na análise olfativa, os quesitos nitidez, vegetal e acidez volátil não tiveram diferenças estatísticas. No caso do descritor frutado, o TP obteve o maior valor e se diferenciou de todos os demais tratamentos, que não tiveram diferença entre si. Nos itens intensidade, qualidade, floral e cítrico o TP obteve os maiores valores se diferenciando somente do TR0,4. Os demais tratamentos TR0,1, TR0,2, TR0,3 não tiveram diferenças significativas com nenhum dos outros dois. Esses resultados vão ao encontro de alguns dados encontrados nas análises dos compostos voláteis onde analitos como acetato de isoamila, acetato de hexila e decanoato de etila, que tem como descritores frutas e flores, tiveram uma diminuição quanto maior foi a intensidade do tratamento com a resina, chegando a desaparecer no caso do acetato de hexila (TR0,3 e TR0,4) e decanoato de etila (TR0,4). A diminuição desses compostos provavelmente alterou a percepção de intensidade, qualidade, frutado, floral e cítrico na análise olfativa.

Na análise gustativa somente o quesito intensidade não apresentou diferenças. Na nitidez o TP se diferenciou do TR0,4. Os demais foram iguais aos outros dois. Na qualidade, os valores foram diminuindo à medida que o tratamento com a resina aumentou. A sensação de acidez aumentou como nas análises químicas, o TP se diferenciou estatisticamente do TR0,3 e TR0,4. No equilíbrio, amargor e defeitos foi encontrado diferenças entre o TP e TR0,4, os demais não se diferenciaram. Provavelmente, a sensação ácida provocada pela concentração de ácido tartárico maior dos tratamentos teve influência no equilíbrio e esse “excesso” pode ter sido considerado como um defeito. O aumento do ácido tartárico progressivo nas amostras tratadas a partir do TR0,3 pode também ter causado uma sensação maior de amargor.

No trabalho de Lassanta et al. (2013) com vinhos tintos com passagem pela resina tendo o pH reduzido de 3,8 para 3,5 e 3,3 os vinhos com pH reduzidos foram melhor avaliados. A intensidade do gosto e apreciação global também foi preferida entre os vinhos com o pH reduzido. Porém, os mesmos resultados foram encontrados na qualidade do aroma, pois os vinhos com passagem pela resina não foram os favoritos. Como analisado neste experimento, Lassanta também observou uma diminuição dos ésteres com descritores aromáticos frutados nas análises realizadas.

Na análise sensorial realizada por Ibeas et al. (2015) os vinhos tintos tratados com redução do pH (pH inicial 3,55) que teve uma redução de 0,03 não apresentou diferenças em relação ao controle. Porém os com redução de 0,1, 0,16, 0,19 e 1,09 foram avaliados negativamente em comparação com o controle. Os critérios de avaliação que tiveram impacto negativo na percepção dos julgadores foram: fineza aromática, intensidade do sabor, corpo, equilíbrio e persistência.

Benítez et al. (2002) testou 12 vinhos brancos da variedade Chardonnay e, nos ensaios de degustação no qual os vinhos foram apresentados, em todos os casos os vinhos tratados com resina de troca iônica receberam classificação mais baixa. Neste experimento não foi divulgado com qual índice de pH os vinhos controle e tratados com passagem pelas resinas se encontravam.

Em um estudo com vinhos tintos onde ocorreu a passagem pela resina do mosto e também do vinho, Melero (2009) obteve resultados diferentes, sendo que os vinhos tratados com a resina antes e depois da fermentação foram melhor avaliados pelos julgadores em todos os quesitos, exceto na intensidade aromática (vinhos com passagem pré-fermentativa e pós-fermentativa) e qualidade aromática (passagem pós-fermentativa) onde o testemunha foi melhor pontuado corroborando com os resultados obtidos em outros estudos onde sempre ocorreu uma diminuição da intensidade aromática e em muitas vezes na qualidade.

A intensidade aromática é um ponto a se levar em conta pois, tanto neste estudo quanto em outros relacionados, esse quesito foi melhor avaliado nos vinhos controle tanto em vinhos brancos como em vinhos tintos. No caso de vinhos base para espumante onde não se busca uma intensidade aromática muito elevada e sim fineza e qualidade do aroma, a perda de alguns aromas pode ser bem interpretada.

## 6 CONCLUSÕES

O controle do pH através do tratamento pré-fermentativo com resinas de troca iônica mostrou-se eficiente, aumentando a acidez dos mostos, diminuindo os metais e tornando os mostos mais estáveis perante a oxidações.

A diminuição do nitrogênio amoniacal com o tratamento de passagem pela resina catiônica foi um dado analisado que teve reduções significativas, e não foi encontrado documentado na literatura análises relacionadas.

Através do modelo Gompertz para o controle da cinética fermentativa foi encontrado diferenças significativas, ocorrendo interferências em todos os parâmetros analisados. As fermentações tiveram diferenças de até quatro dias para serem finalizadas.

Os vinhos após a fermentação não tiveram diferenças significativas nas análises de álcool, açúcares, acidez volátil e extrato seco, mostrando que a passagem pela resina do mosto nestas condições apresentadas não tem influência nestes indicadores. As diferenças no pH, acidez total e ácido tartárico se mantiveram nos vinhos, e uma menor oxidação dos tratamentos também foi constatada.

Em relação à composição aromática, a tecnologia estudada modificou o perfil aromático dos vinhos, tendo uma maior concentração de determinados álcoois superiores analisados e diminuição da formação de alguns ésteres nos mostos que realizaram a troca iônica.

Os vinhos oriundos de mostos tratados com resina apresentaram maior estabilidade oxidativa que o tratamento padrão ao longo do tempo por um período de nove meses. Portanto, além do tratamento com resinas tornar o processo de fermentação mais seguro e estável, torna os vinhos mais aptos para o envelhecimento, sendo menos oxidáveis. Porém, tanto nos mostos como nos vinhos, as análises de compostos fenólicos totais não tiveram diferenças significativas.

A constatação da redução de determinados compostos com descritores agradáveis teve influência negativa na percepção olfativa durante a degustação, principalmente no tratamento com redução no índice de pH do mosto de 0,27. O aumento da acidez influenciou a análise gustativa negativamente a partir de mudanças do índice de pH no mosto de 0,19. Isso deve ser levado em consideração para utilização das resinas, sendo necessário otimizar o tratamento para cada produto pretendido. De um modo geral, os tratamentos moderados levam a alterações menores na composição de compostos voláteis e aumento da acidez, mantendo as vantagens de estabilidade do vinho.

## 7 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Tendo em vista que o espumante se tornou um dos produtos mais importantes do setor vitivinícola do país, é essencial que sejam realizadas pesquisas relacionadas à viticultura e enologia com o intuito de entender melhor o nosso produto e melhorá-lo constantemente. O fato que a utilização de resinas de troca iônicas em mosto e vinhos seja uma tecnologia permitida recentemente abre possibilidades para que novos estudos sejam realizados, refeitos e modificados, para que se possa entender o máximo possível da influência dessa técnica, dando ao enólogo maior poder de gestão na elaboração dos seus vinhos.

De maneira geral, a maioria das diferenças encontradas consideradas negativas aconteceu somente nos extremos (TP para o TR0,4). Sendo assim, cabe aos técnicos avaliarem os benefícios da utilização das resinas, pois talvez a pequena perda sensorial onde é pouco perceptível nos tratamentos TR0,1, TR0,2 e TR0,3 pode ser vantajosa em contrapartida de uma redução do pH de até 0,19 unidades (TP para TR0,3). Provavelmente esse tratamento aplicado em vinhos base para espumante com um pH mais alto resulte em diferenças ainda menores, não tendo a influência do excesso de acidez na análise gustativa, podendo conferir maior frescor e equilíbrio.

Numa perspectiva otimista do processamento do vinho, a acidificação com ácido tartárico poderia ser evitada e substituída por um processo desta natureza, que simultaneamente corrige a acidez e baixa o pH. As diferenças entre os mostos em fermentação do TP para o TR0,3 e TR0,4 de 4 dias para finalizar a fermentação são bastante importantes em se tratando de vinhos base para espumante onde a “janela” para o recebimento das uvas é curta, são poucas variedades de uvas utilizadas e o ponto de maturação e colheita não muda muito entre elas, por isso é um fator que se deve levar em consideração.

Acredita-se que os objetivos iniciais dessa dissertação tenham sido alcançados, uma vez que foi possível ampliar os conhecimentos sobre a utilização de resinas de troca iônica em mostos. Foi possível também comparar diversos parâmetros e observar vantagens e desvantagem que a técnica possui. No entanto, é evidente que para um maior embasamento dos dados e constatação da pesquisa são necessários estudos mais aprofundados e diversas repetições para confirmarem ou contraprovarem os resultados obtidos neste estudo.

## 8 SUGESTÕES DE MELHORIAS E COMPLEMENTOS DO ESTUDO

Para valorizar este trabalho e sugerir possíveis futuros estudos seria de interesse a realização de investigação em diversos pontos não abordados, como:

- comparação de custos detalhados e possíveis redução da utilização de ácido tartárico, composto que cada vez se encontra mais valorizado economicamente devido à escassez de matéria prima.
- um estudo aprofundado sobre a interação das resinas iônicas (catiônicas) com proteínas, enzimas e aminoácidos pois essas são carregadas positivamente.
- um estudo aprofundado sobre a interação das resinas iônicas (catiônicas) com os polifenóis e fenóis existentes em diferentes tipos de vinhos.
- passagem pela resina de mostos prensa e após analisar os polifenóis nesses vinhos bases de espumantes onde as quantidades são maiores que as do mosto flor.
- comparação organoléptica de adição de ácido tartárico e passagem por resina de troca iônica (tratamento pré-fermentativo).
- analisar mais quantidade de metais (macro e microelementos) fazendo um estudo aprofundado das modificações que ocorrem nos mostos com a utilização de resinas comerciais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, I. M.; MILLAR, J. R.; **A history of the origin and development of macroporous ion-exchange resins.** *Reactive and Functional Polymers*, v. 35, n. 1-2, p. 7-22, 1997.

AEB-Group. **pH STAB: Resina de troca iônica.** Informativo técnico disponível em: <<http://www.acenologia.com/aeb/fichas.asp>>. Acesso em: ago. 2015.

ALVARENGA, A. M. A.; **Absorption des nutriments et croissance des porte-greffes de vigne en présence d'aluminium.** *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, v. 38, n. 2, p. 119-129, 2004.

ALVES, M. E. B.; TONIETTO, J.; **Condições Meteorológicas e sua Influência na Safra Vitícola de 2016 em Regiões Produtoras de Vinhos Finos do Sul do Brasil.** Comunicado técnico 187. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 2016.

ANDRADE, M. J. C.; **Estabilização Tartárica de Vinhos Tintos por Combinação de Nanofiltração e Permuta Catiônica.** Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Vinho. Escola Superior de Biotecnologia. Universidade Católica Portuguesa. Porto, 2012.

ANOCIBAR BELOQUI A.; BERTRAND, A.; **Study on sulfur compounds in wine: preliminary results.** *Italian journal of food science*, v. 7, n. 3, p. 279-289, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 958.06). Arlington: A.O.A.C. chapter 39. p. 21, 1995.

AZEVEDO, L. C.; REIS, M. M.; DA SILVA, L. A.; ANDRADE, J. B.; **Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos.** *Quím. Nova* vol.30, n.8. São Paulo, 2007.

AZEVEDO, S. M. D.; CARDOSO, M. D. G.; PEREIRA, N. E.; RIBEIRO, C. D. F. S.; SILVA, V. D. F.; AGUIAR, F. D. C.; **Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais.** Ciência e Agrotecnologia, v. 27, n. 3, p. 618-624, 2003.

BERTRAND, A.; **Formation des substances volatiles au tours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualite des vins.** Colloque .Soc. Fr. Microbiol.. Reims, p. 251-267, 1981.

BEROVIC, M.; KOSMERL. T.; **Monitoring of Potassium Hydrogen Tartrate Stabilization by Conductivity Measurement.** Acta chimica slovenica, v. 55, n. 3, p. 535-540, 2008.

BELTAN, G. e GUILLAMON, J. M.; **Relacion entre el contenido nitrogenado em mosto/uva y la sintesis de aromas: efecto sobre la produccion de sulfhidrico.** Seminario tecnico: Compuestos azufrados volatiles en vinos, Madrid, 2009.

BENITEZ, P.; CASTRO, R.; BARROSO, C. G.; **Removal of iron, copper and manganese from white wines through ion exchange techniques: effects on their organoleptic characteristics and susceptibility to browning.** Analytica Chimica Acta, v. 458, n. 1, p. 197-202, 2002.

BLOUIN, J.; PEYNAUD, E.; **Enología Práctica: Conocimiento y elaboración del vino** 4 ed. Mundi- Prensa: Madrid, 2006.

BORDEU, E.; CRISTI, X.; **Estabilización tartárica de vinos tintos mediante resinas de intercambio catiónico.** Ciencia e Investigación Agraria, v. 28, n. 2, p. 60-114, 2001.

BOSCHETTI, W.; **Estratégias analíticas para determinação sequencial de metais em vinhos por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua por chama.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

BOULTON, R. B.; SINGLETON, V. L.; BISSON, L. F.; KUNKEE, R. E.; **Principles and practices of winemaking.** Davis: Champman & hall, 1996.

BOULTON, R. B; SINGLETON, V. L.; BISSON, L. F.; KUNKEE R. E.; **Teoría y práctica de la elaboración del vino**. Editorial Acribia, S.A.; Edición 1, 2002.

BRASIL. **Ministério da Agricultura. Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 nov. 1986.

CEJUDO-BASTANTE, M. J.; HERMOSIN-GUTIERREZ, I.; CASTRO-VASQUEZ L. PÉREZ-COELLO M.S.; **Hyperoxygenation and bottle storage of Chardonnay white wines: Effects on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics**. Journal of agricultural and food chemistry, v. 59, n. 8, p. 4171-4182, 2011.

CHATONNET, P., DUBOURDIEU, D., BOIDRON, J.N.; **Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur constitution en substances cedées par le bois**. Science des Aliments, 1992.

CHAVES, L., C.; BOSELLI, E.; PIVA, A.; NDAGHIJIMANA, M.; PAPARELLA, A.; SUZZI, G.; MASTROCOLA, D.; **Influence of quinoxifen residues on Saccharomyces cerevisiae fermentation of grape musts**. Food Technology and Biotechnology, v. 42, n. 2, p. 89-97, 2004.

CHRISTENSEN, C. M.; **Effects of color on aroma, flavor and texture judgments of foods**. Journal of Food Science, v. 48, n. 3, p. 787-790, 1983.

CLARKE, R. J.; BAKKER, J.; **Wine flavour chemistry**. Oxford: Blackwell, 2004.

COSTA, G. P.; **Implantação de sistema de qualidade e segurança na produção de espumante charmat**. UFRGS, Porto Alegre, 2010.

CRESWELL, K. J.; ESCHENBRUCH, R.; **The variation in magnesium levels of some experimental grapes, grape juices and wines**. Food Technology, v. 16, n. 1, p. 37-43, 1981.

CRUZ, A. dos S.; **Estabilização tartárica de vinhos com resinas de troca catiónica: avaliação da eficiência das resinas e alteração das características físico-químicas e composição volátil dos vinhos.** Dissertação de Mestrado. Universidade de Aveiro, 2014.

CURVELO-GARCIA, A. S.; CATARINO, S.; **Os metais contaminantes dos vinhos: origens da sua presença, teores, influência dos factores tecnológicos e definição de limites (revisão bibliográfica crítica).** Ciência e Técnica Vitivinícola, v. 13, n. 1-2, p. 49-70, 1998.

DANILEWICZ, J. C.; **Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper.** American Journal of Enology and Viticulture, v. 54, n. 2, p. 73-85, 2003.

DARDEL, F.; ARDEN, T.; **Echange d'ions. Principes et applications. Rohm and Haas Separation Technologies.** Paris, 1989.

DARRIET, P.; LAVIGNE-GRUEGE, V.; TOMINAGA, T.; **A paradox: the volatile sulfur compounds responsible for both defects and qualities in wines.** Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1999.

DEL NOBILE, M.A.; D'AMATO, D.; ALTIERI, C.; CORBO, M.R.; SINIGAGLIA, M.; **Modeling the yeast Growth-Cycle in a model wine system.** Journal of Food Science, v. 68, n.6, p. 2080–2085, 2003.

DE ÁVILA, L. D.; **Metodologias Analíticas Físico-químicas.** Laboratório de Enologia. Bento Gonçalves, Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves (CEFET), 2002.

DELAS, J.; POUGET, R.; **Action de la concentration de la solution nutritive sur quelques caractéristiques physiologiques e technologiques chez Vitis vinifera L. cv. Cabernet Sauvignon.** II. Composition minérale des organes végétatifs, du moût et du vin. Agronomie, v. 4, n. 5, p. 443-450, 1984.

DO NASCIMENTO, E. S. P.; **Ésteres em aguardente de cana: seu perfil.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2007.

DOROKHOV, Y. L., SHINDYAPINA, A. V., SHESHUKOVA, E. V., & KOMOROVA, T. V.; **Metabolic methanol: molecular pathways and physiological roles.** *Physiological reviews*, v. 95, n. 2, p. 603-644, 2015.

DU TOIT, M.; PRETORIUS, I. S.; **Microbial spoilage, and preservation of wine: using weapons from nature's own arsenal—a review.** *S Afr J Enol Vitic*, v. 21, n. Special Issue, p. 74-96, 2000.

DUTCOSKY, S. D.; **Análise sensorial de alimentos.** 2<sup>a</sup> ed. Curitiba: Champagnat, 2007.

DYER, A.; HUDSON, M. J.; WILLIAMS, P. A.; **Ion exchange processes: advances and applications.** 1993.

ESCUADERO, A.; ASECIO, E.; CACHO, J.; FERREIRA, V.; **Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants.** *Food chemistry*, v. 77, n. 3, p. 325-331, 2002.

FALCÃO, L.D.; ROSIER, J.P.; BORDIGNON, M.T.; **Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (gc-olfactometry).** *Food chemistry*, v.107, p.497-505, 2008.

FERREIRA, V.; **A base química do aroma do vinho: moléculas e sensações olfatórias.** Parte 1: Álcool e efeito do tampão aromático. *Revista Internet de Viticultura e Enologia*, n. 09, 2009.

FERREIRA, V.; LÓPEZ, R.; CACHO, J. F.; **Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, n. 11, p. 1659-1667, 2000.

FERREIRA, D. M. L.; **Pesquisa de compostos voláteis de enxofre varietais em vinhos brancos elementares de castas Portuguesas.** Tese de Doutorado. ISA/UTL, 2011.

FLANZY, C.; **Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos.** Mundi-Prensa, Madrid, 2003.

FOGAÇA, J. R. V.; **Reação de esterificação**: As reações de esterificação ocorrem entre um ácido carboxílico e um álcool, formando um éster e água. Disponível em: <<http://mundoeducacao.bol.uol.com.br/quimica/reacoes-esterificacao.htm>>. Acesso em: out., 2016.

FONSECA, F. J. R. da; PULCINELI, A.; **Análise de Cobre em Destilados e Vinhos**. Instrução de trabalho – Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA). Goiás, 2013.

GABBARDO, M.; CELOTTI, E.; **Caracterização físico-química de espumantes Brasileiros**. Ciência e Técnica Vitivinícola, v. 30, n. 2, 2015.

GALVAN, D. C.; **Avaliação de diferentes parâmetros de nitrogênio orgânico na fermentação alcoólica de mostos com alto teor de açúcar**. Instituto Federal de Educação e Tecnologia, campus Bento Gonçalves, 2016.

GARCÍA-RUIZ, A.; BARTOLOMÉ, B.; CUEVA, C.; RODRIGUEZ-BECOMO, J.J.; REQUENA, T.; MARTÍN-ALVAREZ, P. J.; MORENO-ARRIBAS, M. V.; **Polifenoles como una alternativa natural a los sulfitos en el control del crecimiento de bacterias lácticas en vinos: eficacia tecnológica y mecanismos bioquímicos y moleculares implicados**. 2012.

GIBERTINI. **Metodi di analisi dei vini e delle bevande spiritose**. 9ª ed. Milano: Itália. 2007.

GIOVANINNI, E.; MANFROI, V.; **Viticultura e Enologia**: Elaboração de grandes vinhos nos *terroirs* brasileiros. Bento Gonçalves, IFRS, 2009.

GIESE, J.; **Color measurement in foods as a quality parameter**. Food Technology, v. 54, n. 2, p. 62-63, 2000.

GÓMEZ BENÍTEZ, J.; PALACIOS MACÍAS, V. M.; PÉREZ RODRÍGUEZ, L.; **Estimación de los costes directos de la estabilización tartárica mediante tratamiento por frío, intercambio protónico y electrodiálisis**. Tecnología del vino, p. 45-49, 2002.

GOSSINGER, M.; MAYER, F.; RADOCHA, N.; HOFER, M.; BONER, A.; GROLL, E.; NOSKO, E.; BAUER, R.; BERGHOFER, E.; **Consumers color acceptance of strawberry nectars from puree.** Journal of Sensory Studies, v. 24, p. 78-92, 2008.

GRANES, D.; MEDINA, E.; BLATEYRON, L.; ROMERO, C.; BRU, E.; ROUX, C.; BONNEFOND, C.; PIPERNO, A.; ROUANET, M.; OUI, T.; **Nitrogen nutritional yeast.** ICV Harvest Flash Info. ICV Montpellier, France, p. 1 – 7, 2006.

GUGEL, G. M.; **Perfil analítico e sensorial de vinhos finos varietais cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.) de uvas provenientes de cinco regiões vitivinícolas do estado do Rio Grande do Sul.** Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves (CFET), 2007.

HENSCHKE, P.A.; JIRAKEN, V.; **Wine Microbiology and Biotechnology.** Sydney: Harwood academic publishers. 1994.

HERNÁNDEZ, P.; MINUÉS, S.; **Uso de resinas de intercambio iónico en enología. Estabilización tartárica.** Revue Française d'oenologie, p. 32 – 35, 1997.

HSIA, C., PLANCK, R., NAGEL, C.; **Influence of must processing on iron and copper contents of experimental wines.** American Journal of Enology and Viticulture, 26: 57-61.

IBEAS, V.; CORREIA, A. C.; JORDÃO, A. M.; **Wine tartrate stabilization by different levels of cation exchange resin treatments: impact on chemical composition, phenolic profile and organoleptic properties of red wines.** Food Research International, v. 69, p. 364-372, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, p. 49- 50, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Informativo Sacarolha.** Ano 6, n.15. Bento Gonçalves, RS. Dezembro de 2015. Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/admin/arquivos/sacarolhas/146835080.pdf>. Acesso em: out. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Steven Spurrier, renomado crítico de vinhos, diz que o Brasil tem o melhor espumante do Hemisfério Sul.** Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/noticias/136-steven-spurrier-renomado-critico-de-vinhos-diz-que-o-brasil-tem-o-melhor-espumante-do-hemisferio-sul>. Acesso em: ago. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO (IBRAVIN). **Comercialização e importação.** Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/dados-estatisticos>. Acesso em: ago. 2015.

JACKSON, R. S.; **Wine Science: Principles and Applications.** San Diego: Academic Press, 1993.

JACKSON, R. S.; **Wine tasting: a professional handbook.** Academic Press, 2009.

JESUS, R. M. de. **Desenvolvimento de método analítico para a determinação de cádmio em vinho e estudo preliminar de especiação de cádmio, ferro, manganês, zinco e cobre em vinho.** Universidade Federal da Bahia, 2009.

KALARUBAN, M.; LOGANATHAN, P.; SHIIM, W. G.; KANDASAMY, J.; NAIDU, G.; NGUYEN, T. V.; VIGNESWARAN, S.; **Removing nitrate from water using iron-modified Dowex 21K XLT ion exchange resin: Batch and fluidised-bed adsorption studies.** Separation and Purification Technology, v. 158, p. 62-70, 2016.

KONICA MINOLTA. **Colorimetria: como medir as diferenças de cor.** Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/learning-center/white-papers/colorimetry/KMSA-Colorimetry-White-Paper.pdf>. Acesso em: jan. 2017.

KONICA MINOLTA. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation.** Japan: Minolta, 1994.

KONICA MINOLTA. **Comunicação precisa da cor: Controle de Qualidade da percepção à instrumentação.** USA, 1998.

KUNIGK, L.; DOS SANTOS, M. C. R.; JURKIEWICZ, C.; **Remoção de íons de cobre de aguardente utilizando carvão ativo e resinas de troca iônica**-doi: 10.4025/actascitechnol.v33i1.7751. Acta Scientiarum. Technology, v. 33, n. 1, p. 101-106, 2011.

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

LAFON-LAFOURCADE, S.; GENEIX, C.; RIBEREAU-GAYON, P.; **Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts**. Applied and Environmental Microbiology, v.47, n.6 p.1246–1249, 1984.

LAMBRECHTS, M.G.; PRETORIUS, I.S.; **Yeast its Importance to Wine Aroma: A Review**. S. Afr. J. Enol. Vitic. 21: p. 97-129, 2000.

LANÇAS, F. M.; **Cromatografia em fase gasosa**. Acta, 1993.

LASANTA, C.; CARO, I.; PÉREZ, L.; **The influence of cation exchange treatment on the final characteristics of red wines**. Food chemistry, v. 138, n. 2, p. 1072-1078, 2013.

LINARES, A. G.; **Necesidades nitrogenadas de cuatro levaduras vínicas comerciales durante la fermentación alcohólica**. Tese mestrado. Universidade Politécnicas de Valência, Espanha, 2012.

LONA, A.; **Elaboração de vinhos brancos**. Disponível em: [http://adolfolona.blogspot.com.br/2012\\_01\\_01\\_archive.html](http://adolfolona.blogspot.com.br/2012_01_01_archive.html). Acesso em: ago. 2016.

LOUW, L.; TREDoux, A.G.J.; VAN RENSBURG, P.; KIDD, M.; NAES, T.; NIEUWOUDT, H.H.; **Fermentation-derived Aroma Compounds in Varietal Young Wines from South Africa**. S. Afr. J. Enol. Vitic. 31: p. 213-225, 2010.

MALAJOVICH, M. A.; **Biotechnologia 1: Fundamentos**. Rio de Janeiro, Edições Leon Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2009.

MARTÍ, M. P.; MESTRES, M.; SALA, C.; BUSTO, O.; GUASCH, J.; **Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography Olfactometry Analysis of Successively Diluted Samples. A New Approach of the Aroma Extract Dilution Analysis Applied to the Characterization of Wine Aroma.** Journal of agricultural and food chemistry, 2003.

MARTINS, P. A.; **Análises físico-químicas utilizadas nas empresas de vinificação necessárias ao acompanhamento do processo de elaboração de vinhos brancos.** Instituto Federal do Rio Grande do Sul, campus Bento Gonçalves, 2007.

MATEUS, M. B. P. V.; **Estudo do desempenho fermentativo de leveduras do vinho em cultura pura e mista.** Tese de Doutorado. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2013.

MELERO, C. M. L.; **Estudio y aplicación de nuevos procesos para la mejora de la elaboración de vinos tintos en zonas de clima cálido.** Tese de Doutorado. Universidad de Cádiz, 2009.

MENEGUZZO, J.; **Caracterização físico-química e sensorial dos vinhos espumantes da serra gaúcha.** Universidade de Caxias do Sul, 2014.

MELLO, L. M. R. de; MACHADO, C. A. E.; FIALHO, F. B; GUZZO L. C.; HOFF, R.; ZANESCO R.; SILVA, S. M. R. da. **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015.** 1ª edição, publicação digitalizada. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

MIELE, A.; **Efeito do Terroir na composição da uva e do vinho Cabernet Franc da Serra Gaúcha.** Seminário Franco-Brasileiro de Viticultura, Enologia e Gastronomia, Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 27-30, 1998.

MESTRES, M.; BUSTO, O.; GUASCH, J.; **Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma.** Journal of Chromatography A, v. 881, n. 1, p. 569-581, 2000.

MIRA, H.; LEITE, P.; DA SILVA, J. M. R.; CURVELO GARCÍA, A. S.; **Resinas permutadoras de iões para estabilização tartárica de vinhos.** 6º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, Lisboa. p. 15-24, 2004.

MIRA, H.; LEITE, P.; DA SILVA, J. M. R.; CURVELO GARCÍA, A. S.; **Use of ion exchange resins for tartrate wine stabilization.** Journal international des sciences de la vigne et du vin= International journal of vine and wine sciences, v. 40, n. 4, p. 223-246, 2006.

MOURGUES, J.; **Utilisation des résines échangeuses d'ions.** Revue OEnologues, 69, p. 51-54, 1993.

NUNES, M. D. A.; **A electrodiálise na estabilidade tartárica dos vinhos. Comparação com o método clássico.** Tese de Doutorado. ISA/UTL, 2011.

OLIVEIRA, L. C. de; SOUZA, S. O. de; MAMEDE, M. E. de O.; **Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil.** Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso), v. 70, n. 2, p. 158-167, 2011.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). **Ammonium (Method OIV-MA-AS322-01).** Compendium of International Methods of Analysis. OIV, 2009.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). RESOLUCIÓN OIV-OENO 442. **Acidificación por tratamiento com intercambiador de cationes - mosto.** OIV, 2012.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). RESOLUCIÓN OIV-OENO 443. **Acidificación por tratamiento com intercambiador de cationes - vino.** OIV, 2012.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). **Codex Enológico Internacional. (Oeno 43/2000).** Resinas Permutadoras de cationes, 2000.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). **Pratiques et traitements oenologiques: Ajustement de l'acidite des vins** Fiche- Code OIV - Edition 01, II.3.1-9, p. 12, 2012.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). **Codex Enologique International.** Organisation Internationale de la vigne et du vin. Paris, 2011.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). **Codex Enológico Internacional**. Disponível em: <file:///C:/Users/msimoes/Downloads/CODEX\_2014\_EN.pdf>  
Acesso em: set. 2016.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DA VINHA E DO VINHO (OIV). **Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis**. Vol. 2. International Organization of Vine and Wine. Paris, 2012.

OUGH, C.S. AMERINE, M. A.; **Methods for Análisis of Musts and Wine**. 2º ed., 1988, 377p.  
PALMA, M.; BARROSO, C. G.; **Acid–base and precipitation equilibria in wine**. J. Chem. Educ, v. 81, n. 1, p. 94, 2004.

PERRY, R. H. G.; MALONEY, D. W., JAMES, O.; ED ROBERT H PERRY, D. W. G. **Manual del ingeniero químico**. McGraw-Hill, 2001.

PEYNAUD, É.; BLOUIN, J.; **O gosto do vinho**. WMF Martins Fontes: São Paulo, 2010.

PINHEIRO, D.M.; PASTORE, G.M.; **Produção biotecnológica de compostos de aromas**. In: FRANCO, M.R.B. Aroma e sabor de alimentos: temas atuais. São Paulo: Livraria Varela, p. 195-206, 2003.

PRIEST, F.G.; CAMPBELL, I.; **Brewing microbiology**. 2ª edição. London: Champman & hall, 1996.

POERNER, N.; RODRIGUES, E.; CELSO, P. G.; MANFROI, V.; HERTZ, P. F.; **Diferenciação analítica de vinhos-base para espumantes de duas regiões vitícolas do Rio Grande do Sul**. Ciência rural. Santa Maria. Vol. 40, n. 5 (maio 2010), p. 1186-1192., 2010.

PRIPIS-NICOLAU, L.; DE REVEL, G.; BERTRAND, A.; MAUJEAN, A. **Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions**. Journal of Agricultural and Food chemistry, v. 48, n. 9, p. 3761-3766, 2000.

RAPP, A.; VERSINI, G.; **Influence of nitrogen on compounds in grapes on aroma compounds in wines.** Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, v.51, p.193–203, 1996.

RÈGLEMENT (CE) n° 606/2009 DE LA COMMISSION. **Journal officiel de l'Union européenne**, 10 juillet, 2009.

REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) n°144/2013 **Jornal oficial da união Europeia**, 19 de fevereiro de 2013.

RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A.; **Trattato di enologia I: Microbiologia del vino Vinificazioni** 3.ed. Edagricole: Italia, Bologna, 2007.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D.; **Trattato di enologia II: Chimica del vino Stabilizzazione Trattamenti** 3.ed. Edagricole: Italia, Bologna, 2007.

RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P.; **Sciences et Techniques du Vin.** Vol. IV: Clarification et Stabilization. Matériels et Installations. Dunod, Paris, 1977.

RICHTER, G; T.; **Nitrogênio Total em Pecíolo de Videiras e Nitrogênio Amoniacal, Assimilável e Total em Uvas e Mostos.** Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

RIPA, J. S.; MENDONZA, M.C.; MARTINEZ, N.; ECHEVERRÍA, C.; AGUIRRE LOPES, L.; DIESTRO, M.; VANO, L.; BETET, X.; ESCUDERO, G.; **Estabilización Tartárica de Vinos Tintos de Navarra por Resinas de Intercambio Catiónico (RIC): Análisis Físico-químico e Organoléptico**, España, 2013.

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

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; **Características analíticas de vinhos Merlot da Serra Gaúcha.** Ciência Rural, v. 3, n. 6, p. 1913-1916, 2009.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; SCOPEL, G.; **Características analíticas de vinhos Chardonnay da Serra Gaúcha**. *Ciência Rural*, v. 39, n. 8, p. 2555-2558, 2009.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; **Concentração de ácido tartárico dos vinhos da Serra Gaúcha**. *Ciência Rural*, v. 31, n. 5, p. 893-895, 2001.

RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G.; MIELE, A.; **Teores de cátions dos vinhos da Serra Gaúcha**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 3, p. 635-641, 2008.

RIZZON, L. A.; SGANZERLA, V. M. A.; **Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves-RS**. *Ciência Rural*, v. 37, n. 3, p. 911-914, 2007.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L. da; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; **Influência do solvente no conteúdo de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinífera*) variedades Tannat e Ancelota**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.28, p. 238-244, 2008.

SAERENS, S.; DELVAUX, F.; VERSTREPEN, K.; VAN DIJCK, P.; THEVELEIN, J.; DELVAUX, F.; **Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation**. *Applied and Environmental Microbiology*, v.74, p.454-461, 2008.

SANTOS, P. C. dos; PEREIRA, O. M.; GONÇALVES, F.; SIMÕES, J. T.; DE PINHO, M. N.; **Ensaio de estabilização tartárica em vinhos portugueses: Estudo comparativo da electrodiálise e de um método tradicional**. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, v. 15, n. 2, p. 95-108, 2000.

SANZ SANZ, D.; **Revisión sobre técnicas actuales de estabilidad tartárica en los vinos**. Universidad de Valladolid. Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias, España, 2012.

SIMÕES, M.; **Estabilização tartárica em vinhos**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Évora, Portugal, 2014.

SIMÕES, D. R. S.; WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G.; **Aromas em maçãs, suco e sidra: revisão**. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 27, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. N. T. A.; TIMOTHY, A. D. A.; **Princípios de análise instrumental**. Cengage Learning, 2008.

SPERANZA, A.; **Influência da prensagem na elaboração de vinho base para espumante**. Bento Gonçalves: Instituto Federal do Rio Grande do Sul, campus Bento Gonçalves, 2012.

SOARES, R. D.; WELKE, J. E.; NICOLLI, K. P., ZANUS, M., CAMARÃO, E. B.; MANFROI, V.; ZINI, C. A.; **Monitoring the evolution of volatile compounds using gas chromatography during the stages of production of Moscatel sparkling wine**. Food chemistry., 183: 291–304, 2015.

SOUZA, A. L. da C.; **Uso de metodologias combinadas de análise sensorial e químico-analíticas para controle de qualidade de vinhos espumantes nacionais**. Universidade Federal da Bahia, 2013.

SOUZA A. S.; **Desenvolvimento de estratégias analíticas visando determinação e especiação de metais em vinhos: análise de amostras do vale do sub-médio Rio São Francisco**. Tese de Doutorado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

STEHLIK-TOMAS, V.; GRBA, S.; STANZER, D.; VAHCIC, N.; GULAN ZETIC, V.; **Uptake of iron by yeast cells and its impact on biomass production**. Acta Alimentaria, v. 32, n. 3, p. 279-287, 2003.

SWIEGERS, J. H.; BARTOWSKY, E. J.; HENSCHKE, P. A.; PRETORIUS, I. S.; **Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour**. Australian Journal of grape and wine research, v. 11, n. 2, p. 139-173, 2005.

TOGORES, J. H.; **Tratado de Enologia**. Mundi-Prensa: Madrid (Espanha), 2011.

TOMASSET, L. U.; **Química Enológica**. Ediciones Mundi-prensa: Madri, 1998.

UNIÃO BRASILEIRA DE VITICULTURA (UVIBRA). **Legislação**. Disponível em: <[http://www.uvibra.com.br/legislacao\\_portaria229.htm](http://www.uvibra.com.br/legislacao_portaria229.htm)> Acesso em: ago. 2016.

USSEGLIO-TOMASSET, L.; BERTRAND, A.; **Chimie oenologique**. Technique & documentation, 1995.

VÁSQUEZ GARZÓN, M. L.; **Estabilização tartárica de vinhos produzidos na serra gaúcha através da eletrodiálise**. Universidade federal do Rio Grande do Sul, 2011.

VIDAL, J. C.; MOUTOUNET, M.; **La Maîtrise des apports d'oxygène au conditionnement**. Revue Française d'oenologie, n. 229, p. 19-29, 2009.

VIGARA, J. J. M.; AMORES, R. A. P.; **Química Enológica**. Mundi-Prensa: Madrid (Espanha), 2010.

WALKER, G. M. **The roles of magnesium in biotechnology**. Critical reviews in biotechnology, v. 14, n. 4, p. 311-354, 1994.

WALKER, G. M. **Metals in yeast fermentation processes**. Advances in applied microbiology, v. 54, p. 197-229, 2004.

WALKER, T.; MORRIS, J.; THRELFALL, R.; MAIN, G.; **Control of Cynthiana wine attributes using ion exchange on different prefermentation treatments**. American Journal of Enology and Viticulture, 54, 67-71, 2003.

WELKE, J. E.; **Uso da microextração em fase sólida e da cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente na caracterização de voláteis de vinhos gaúchos**. Universidade federal do Rio Grande do Sul, 2012.

ZAMBONELLI, C.; **Microbiologia e biotecnologia dei vini: I processi biologici e lê tecnologie della vinificazione**. Edizione Agricole de il Sole, v. 24, 2003.

ZANUS, M.C.; PEREIRA, G.E.; **Degustação de vinhos e espumantes**. Informe Agropecuário, Vinhos finos: rumo à qualidade, Belo Horizonte, v. 27, n. 234, p. 126-132, 2006.

## ANEXOS

## ANEXO A

## FICHA TÉCNICA DA RESINA DE TROCA IÔNICA pH - STAB

FICHA TÉCNICA



## pH-STAB

.....

Estabilizante das precipitações tartáricas

.....

### → DESCRIÇÃO TÉCNICA

**pH-Stab** permite diminuir os Sais de K e Ca no vinho tornando-o estável do ponto de vista das precipitações tartáricas; a diminuição de íons eletropositivos contribui para diminuir o pH dos vinhos tratados. A ação das resinas de permuta iônica baseia o seu funcionamento na alteração das características químico-físicas do vinho através de simples contato.

**pH-Stab** apresenta-se sob forma de microesferas com diâmetros que variam de 0,3 e 1,2 mm que podem ser utilizadas soltas no interior de um suporte ou em sacos de 7,5 L (5 kg) que permitem a sua reação com o vinho. As esferas também podem ser colocadas diretamente no depósito a tratar, soltas, tendo o cuidado de recuperá-las durante o seu esvaziamento.

**pH-Stab** é obtido a altas temperaturas (e em % específica para uso enológico) através de um processo de polimerização de Estireno e DVB com grupos activos sulfônicos, que lhes conferem uma elevada estabilidade químico-física e uma estrutura física em gel que não permite a adsorção de substâncias orgânicas. **pH-Stab** é capaz de permutar reversivelmente os catiões, como K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, com o íon H<sup>+</sup>.

**pH-Stab** retém uma quantidade estequiométrica de Sais, depois do que, deve ser regenerado para uma sucessiva utilização; esta operação é efetuada com ACID+, ativador higienizante à base de ácido sulfúrico, o qual volta a trazer a resina para a forma ácida.

Após 5 lavagens ácidas de **pH-Stab** deve ser feita uma lavagem alcalina com ALCA (detergente à base de KOH ativado com fosfatos específicos) para remover eventuais estratificações de substância orgânica que podem estar depositadas sobre a superfície das esferas.

### → COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Resinas catiónicas fortes, em forma de gel, específicas para vinho.

### → DOSES RECOMENDADAS

De 0,5 g/L a 10 g/L, em função do resultado pretendido. 1 g de **pH-Stab** permuta 1,4 meq de íons H<sup>+</sup>.



AEB BIOQUÍMICA LATINO AMERICANA S/A • Rua Tavares de Lyra, 3728 Afonso Pena, 83065-180, São José dos Pinhais - PR (BR) • +55 4138885200 • aeb@aeb-brasil.com.br • www.aeb-group.com

Referência: PH\_STAB\_TD-5\_PT\_010116\_C08NO\_Brazil

## ANEXO B

## FICHA TÉCNICA DA RESINA DE TROCA IÔNICA pH - STAB

## FICHA TÉCNICA



## pH-STAB

## → MODO DE APLICAR

**pH-Stab** pode ser adicionado directamente no vinho, ou através de um suporte ou por recirculação; as doses podem variar de 0,5 g/L a 10 g/L, em função do resultado pretendido. A ação acontece entre 1 - 2 horas após a adição, até um máximo de 12 horas, momento em que os 100% dos iões permutáveis estarão permutados. Se o tratamento não for suficiente podem ser feitas posteriores adições. Importante 1 g de **pH-Stab** permuta 1,4 meq de iões H+ (meq é a massa, em g, de substância que pode reagir com 1 mol de electrões).

## → INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Procedimento de lavagem antes da primeira utilização

Frequência: após cada utilização  
 Fase: enxaguamento  
 Utilizar: Água desmineralizada  
 Concentração/ % água: 2 vezes o volume de pH-água

Fase: regeneração  
 Utilizar: ACID+  
 Concentração/ % água: em 1,5 do volume da solução total 17,5 % de regenerante

Fase: lavagem enxaguamento  
 Utilizar: Água desmineralizada  
 Concentração/ % água: 5 vezes o volume de **pH-stab**

Procedimento de lavagem após 5 utilizações

Frequência: após 5 utilizações lavagem alcalina  
 Fase: Enxaguamento  
 Utilizar: Água desmineralizada  
 Concentração / % água: 2 vezes o volume de **pH-Stab** Após

Fase: remoção orgânica  
 Utilizar: ALCA-  
 Concentração / % água :2 volumes água 6% de detergente

Fase: lavagem/ enxaguamento  
 Utilizar: Água desmineralizada  
 Concentração / % água: 3 volumes **pH-Stab**



AEB BIOCQUÍMICA LATINO AMERICANA S/A • Rua Tavares de Lyra, 3728 Afonso Pena,  
 83065-180, São José dos Pinhais - PR (BR) • +55 4138885200 • aeb@aeb-brasil.com.br • www.aeb-group.com

## ANEXO C

## FICHA TÉCNICA DA RESINA DE TROCA IÔNICA pH - STAB

## FICHA TÉCNICA



## pH-STAB

Fase: regeneração de regenerante

Utilizar: ACID +

Concentração / % água: em 1,5 o volume de solução total 17,5%

Fase: lavagem/ enxaguamento

Utilizar: Água desmineralizada

Concentração / % água: 5 vezes o volume de **pH-Stab**

**→ À CONSERVAÇÃO E EMBALAGENS**

Armazenar em local fresco e seco, ao abrigo da luz e de calor direto.

Sacos de 5 kg (em caixas com 25 kg).



AEB BIOQUÍMICA LATINO AMERICANA S/A • Rua Tavares de Lyra, 3728 Afonso Pena,  
83065-180, São José dos Pinhais - PR (BR) • +55 4138885200 • aeb@aeb-brasil.com.br • www.aeb-group.com

Referência: PH\_STAB\_TDS\_PT\_0150016\_CENQ\_Brazil

## ANEXO D

## FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA DOS VINHOS

**Análise sensorial ADQ**

Nome: \_\_\_\_\_

Data: 23/06/2016

Grupo: \_\_\_\_\_

**Avalie a amostra e indique na escala abaixo a intensidade do atributo avaliado.****APARÊNCIA****Intensidade de Cor:**

Nº da amostra

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

Pouco

Muito

**AROMAS****Nitidez (fineza)**

Nº da amostra

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

Pouca

Muita

**Intensidade**

Nº da amostra

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

| \_\_\_\_\_ | ( )

Pouca

Muita

**Qualidade**

Nº da amostra

_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)

Pouca

Muita

**Frutado**

Nº da amostra

_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)

Pouco

Muito

**Floral**

Nº da amostra

_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)

Pouco

Muito

**Cítrico**

Nº da amostra

_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)
_____	(_____)

Pouco

Muito

**Herbáceo/vegetal**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouco

Muito

**Acidez Volátil**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouco

Muito

**SABOR E SENSAÇÕES****Nitidez (fineza)**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouca

Muita

**Intensidade**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouca

Muita

**Qualidade**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouco

Muito

**Acidez**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouco

Muito

**Equilíbrio**

Nº da amostra

_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)
_____	(____)

Pouco

Muito

**Amargor**

Nº da amostra

_____	( _____ )
_____	( _____ )
_____	( _____ )
_____	( _____ )
_____	( _____ )

Pouco

Muito

**Defeitos**

Nº da amostra

_____	( _____ )
_____	( _____ )
_____	( _____ )
_____	( _____ )
_____	( _____ )

Pouca

Muita