



UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO AROMÁTICA DE ESPUMANTES

MOSCATÉIS DE FARROUPILHA (RS) DURANTE O

ARMAZENAMENTO E INFLUÊNCIA DAS LEVEDURAS NOS VINHOS

MOSCATOS

ÂNGELA ROSSI MARCON

Caxias do Sul

2018

ÂNGELA ROSSI MARCON

**CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO AROMÁTICA DE ESPUMANTES
MOSCATÉIS DE FARROUPILHA (RS) DURANTE O
ARMAZENAMENTO E INFLUÊNCIA DAS LEVEDURAS NOS VINHOS
MOSCATOS**

“Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de Doutor em Biotecnologia”.

Orientador: Dr. Sérgio Echeverrigaray

Caxias do Sul

2018

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

M321c Marcon, Ângela Rossi

Caracterização e evolução aromática de espumantes moscatéis de Farroupilha (RS) durante o armazenamento e influência das leveduras nos vinhos moscatos / Ângela Rossi Marcon. – 2018.

177 f. : il. ; 30 cm

Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2018.

Orientação: Sergio Echeverrigaray.

1. Vinhos espumantes - Farroupilha. 2. Moscatel (vinho) - Farroupilha. 3. Leveduras. 4. Aromas. 5. Vinho e vinificação. I. Echeverrigaray, Sergio, orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 663.223(816.5FARROUPILHA)

Catálogo na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Ana Guimarães Pereira - CRB 10/1460

ÂNGELA ROSSI MARCON

CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO AROMÁTICA DOS ESPUMANTES MOSCATÉIS DE FARROUPILHA (RS) DURANTE O ARMAZENAMENTO E A INFLUÊNCIA DAS LEVEDURAS NOS VINHOS MOSCATOS

“Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de Doutor em Biotecnologia”.

TESE APROVADA EM 25 de junho de 2018.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Echeverrigaray

Dr. Francisco Carrau

Dr. Jorge Tonietto

Dr. Sidnei Moura e Silva

Às pessoas mais especiais em minha vida: meus pais Jones João e Jones Teresinha, minha irmã Paula, minha vó Rosalina e meu grande amor e marido João Carlos Taffarel.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde e força diária para realizar esta tese.

Aos meus pais, à minha irmã e à minha vó pelo carinho, apoio e incentivo e a todos os familiares.

Ao amor da minha vida, João Carlos Taffarel, pessoa muito especial que está sempre ao meu lado, me incentivando e me motivando a fazer sempre o que é melhor para mim.

Ao meu orientador professor Dr. Sérgio Echeverrigaray pela oportunidade de trabalharmos juntos, pela colaboração e auxílio.

À minha orientadora da Universidade de Bologna (Itália), Campus de Cesena, Departametro de Ciência e Tecnologia Agroalimentar, professora Dra. Giuseppina Paola Parpinello por ter me aceitado e contribuído para o desenvolvimento desta pesquisa. Ao querido técnico do laboratório de enologia Luca Pasini, que me auxiliou muitas vezes nas análises e também na parte emocional, sempre com bastante humor, carinho e amizade. Ao Prof. Dr. Andrea Versari e ao técnico Federico Feriolo pelo apoio. À Dr^a. Arianna Ricci, à Dr^a Vilma Guarazzi e à Dr^a Aline Palma pela amizade e companheirismo.

Ao corpo docente do curso de Pós-Graduação pelos conhecimentos passados e troca de experiências. Aos professores Dr. Sidnei Moura e Silva e Dr. Maurício Moura da Silveira pelo acompanhamento e sugestões para a melhoria deste trabalho. À Prof^a. Dr^a. Ana Paula Longaray Delamare por estar sempre disposta a colaborar e à secretária Lucimara Serafini Rech, por sempre atender as dúvidas. Ao Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos, principalmente à Dr^a. Fabiana Agostini pelo auxílio técnico nas análises cromatográficas.

Ao Dr. Francisco Carrau e ao Dr. Jorge Tonietto por terem disponibilizado seu tempo e conhecimento para participarem da Banca Examinadora.

À Dr^a. Sandra Valduga Dutra pela importante colaboração, incentivo, auxílio e amizade em todas as etapas deste trabalho.

Ao amigo e Mestre Bruno Bergamin pelo auxílio na correção gramatical desta tese.

Aos colegas, amigos e estagiários do Laboratório de Microbiologia Aplicada, Suziane Bonatto, Luísa Vivian, Fernando Scariot, Gabriel Martins, Morgana Menegotto, Morgana Contini, Luciane Jahn e Luciane Silva.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – Uva e Vinho), na pessoa do Sr. Raul Bem por ter colaborado na realização das microvinificações dos vinhos Moscatos. Ao Dr. Mauro Celso Zanus, Sra. Odinei Louzada Corrêa e Sra. Magda Gatto Salvador pelo auxílio nas degustações.

À Associação Farroupilhense dos Produtores de Vinho (AFAVIN) pela disponibilidade das amostras de espumantes, em especial às vinícolas: Adega Chesini, Cave Antiga Vitivinícola, Cooperativa Vinícola São João, Basso Vinhos e Espumantes, Vinícola Colombo, Vinícola Capelletti, Vinícola Perini e Vinícola Tonini.

Aos produtores de uva que doaram as uvas para a realização das microvinificações, em especial: Benildo Perini, Jair Gheno, Sandro Giacomelli, Nair Tonini e Natalino Tonini, bem como os amigos Leandro Santini, Paulo Tesser e Fernanda Tonini, por sempre me auxiliarem na coleta das amostras de uvas.

Aos participantes dos painéis de degustação, pelo seu tempo e dedicação para realização da análise sensorial dos vinhos e espumantes.

À Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação do Estado do Rio Grande do Sul (SEAPI), principalmente à Dr^a Caren Regina Cavichioli Lamb e à Mestre Fernanda Spinelli pela disponibilidade dos equipamentos.

Ao Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (PROSUP-CAPES) pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
RESUMO.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 Classificação e definição dos vinhos moscatéis.....	22
2.2 Variedades utilizadas para elaboração de vinhos moscatéis no Brasil.....	24
2.2.1 Moscato Branco.....	25
2.2.2 Moscato Giallo.....	26
2.2.3 Moscato Bianco clone R2 (Moscato R2).....	26
2.3 Leveduras utilizadas para elaboração de vinhos moscatéis no Brasil.....	27
2.4 Aspecto sensorial dos vinhos moscatéis.....	30
2.5 Elaboração do vinho espumante moscatel.....	31
2.6 Elaboração do vinho branco tranquilo.....	33
2.7 Compostos voláteis.....	35
2.8 Compostos fenólicos totais e índice de cor.....	43
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
3.1 ARTIGO 1 Evolução das características sensoriais de espumantes moscatéis durante o armazenamento	47
3.2 ARTIGO 2 Composição aromática de espumantes moscatéis de Farroupilha ao longo do tempo de armazenamento.....	63
3.3 ARTIGO 3 Composição química e sensorial de vinhos elaborados com as variedades Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco de Farroupilha.	91
3.4 ARTIGO 4 Characterization of selected volatile compounds in Brazilian and Italian Muscat sparkling wines using CG-FID profiling and sensory analysis.....	123
3.5 ARTIGO 5 Contribution of a Brazilian <i>Torulaspota delbrueckii</i> isolate and a commercial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> to the aroma profile and sensory characteristics of Moscato Branco wines.....	143
4 CONCLUSÕES.....	152
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	155
6. BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR.....	154
7. ANEXOS.....	167

7.1 Metodologias das Análises Físico-Químicas	167
7.1.1 Teor alcoólico.....	167
7.1.2 Acidez total.....	167
7.1.3 Análise de pH.....	167
7.1.4 Dióxido de enxofre total ($SO_2 T$).....	168
7.1.5 Dióxido de enxofre livre. ($SO_2 L$).....	168
7.1.6 Açúcares redutores e totais.....	169
7.1.7 Acidez volátil.....	170
7.2 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais, Escurecimento e Índice De Cor	170
7.3 Ficha de análise sensorial dos vinhos moscatéis	171
7.4 Análises Cromatográficas	174
7.4.1 Análises de Etanal, Acetato de Etila, Metanol e Álcoois Superiores	174
7.4.2 Análises de Ácidos Graxos, Ésteres, Ácidos Voláteis e Acetatos.....	175
7.4.3 Análises de Terpenos.....	177

LISTA DE TABELAS

Lista de Tabelas do Artigo 2

Tabela 1: Análises físico-químicas dos espumantes moscatéis durante 6 anos de armazenamento.....	72
Tabela 2: Limiar de percepção, concentração e descritor aromático encontrados na literatura.....	76
Tabela 3: Concentração compostos voláteis (mg.L^{-1}) nos espumantes moscatéis ao longo do tempo de armazenamento.....	77

Lista de Tabelas do Artigo 3

Tabela 1: Médias e desvios padrão das análises físico-químicas dos mostos e vinhos Moscatos	104
Tabela 2: Valores médios (mg.L^{-1}) e desvio padrão dos compostos voláteis nos vinhos Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco	108
Tabela 3: Média dos valores médios das intensidades de aroma percebidas nos vinhos Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco	113
Tabela 4: Soma das médias das intensidades	114

Lista de Tabelas do Artigo 4

Table 1: Physicalchemical properties of commercial muscat sparkling wines from the DS Farroupilha (Brazil) and DOCG Asti (Italy)	137
Table 2: Mean concentrations (mg x L^{-1}) and relative standard deviations of volatile compounds of the three groups determined by principal components analysis.....	138
Table 3: Sensory evaluation of Brazilian and Italian muscat sparkling wines separated by the groups defined by principal component analysis of sensory attributes	139

Lista de Tabelas do Artigo 5

Table 1: Mean values and standard deviation of the composition of Moscato Branco wines fermented with monocultures of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Torulaspora delbrueckii</i> , and co-fermented with various proportions of <i>S. cerevisiae</i> and <i>T. delbrueckii</i>	147
Table 2: Mean values and standard deviation of the concentration volatile compounds of Moscato Branco wines fermented with monocultures of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Torulaspora delbrueckii</i> , and co-fermented with various proportions of <i>S. cerevisiae</i> and <i>T. delbrueckii</i>	148
Table 3: Sensory analysis of Moscato Branco wines fermented with monocultures <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Torulaspora delbrueckii</i> , and co-fermented with various proportions of <i>S. cerevisiae</i> and <i>T. delbrueckii</i>	149

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cacho da uva da variedade Moscato Branco	25
Figura 2: Cacho da uva da variedade Moscato Giallo	26
Figura 3: Cacho da uva da variedade Moscato Bianco R2	27
Figura 4: Estruturas químicas dos principais álcoois, aldeídos e ésteres de acetatos responsáveis pelos aromas dos vinhos.....	37
Figura 5: Estruturas químicas dos principais ácidos, ésteres etílicos e terpenos responsáveis pelos aromas dos vinhos.....	40
Figura 6: Fluxograma dos ensaios.....	47
Figura 7: Ficha descritiva de análise sensorial para os vinhos brancos moscatos tranquilos	172
Figura 8: Ficha descritiva de análise sensorial para os vinhos espumantes moscatéis	173
Figura 9: Cromatograma de etanal, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil- 1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol	174
Figura 10: Cromatograma dos ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis e acetatos analisados	176
Figura 11: Cromatograma de terpenos analisados: limoneno, rose oxide, linalol, linalil acetato, terpineol, citronelol, nerol e geraniol	177

Lista de Figuras do Artigo 1

Figura 1: Ficha de degustação para espumantes moscatéis.....	60
Figura 2: Qualidade geral de espumantes moscatéis durante seis anos de armazenamento em garrafa. Médias com letras iguais não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).....	61
Figura 3: Médias da evolução da intensidade de cor (A), intensidade de aroma (B), qualidade de aroma (C), nitidez/franqueza (D) e intensidade de sabor (E) em espumantes moscatéis estocados em garrafa por uma a seis anos. Médias com letras iguais não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).....	62
Figura 4: Distribuição dos espumantes moscatéis (A) e das variáveis (B) na análise de	

componentes principais. Legenda: IC- intensidade de cor; IP- intensidade de perlage; QE- qualidade de espuma; IA- intensidade de aroma; QA- qualidade de aroma; FC- frutas cítricas; FL- floral; EQ- ervas de quintal; CR- cravo da índia; ME- mel, batata doce, caramelo; MA- mamão; FR- frutas frescas; HE- herbáceo; OI- odores indesejáveis; IS- intensidade de sabor; NF- nitidez/franqueza; CR- cremosidade; DO- doçura; AC- acidez; AM- amargor; GI- gostos indesejáveis; PR- persistência; QG- qualidade geral.....63

Lista de Figuras do Artigo 2

Figura 1: Compostos fenólicos totais (mg.L ⁻¹ ác. gálico) e índice de cor ao longo do tempo de armazenamento.....	74
Figura 2: Análise de componentes principais (PCA) com base nos compostos voláteis.	
PC 1: Correlação positiva com etanal, metanol, 2-metil-1-butanol, soma álcoois isoamílicos, butanoato de etila, hexanol, hexanal e geraniol. Correlação negativa com acetato de isoamila, ácido octanoico, ácido decanoico, acetato de linalil, terpineol e nerol.	
PC 2: Correlação positiva com 2-metil,1-propanol, 2-feniletanol, rose oxide e linalol. Correlação negativa com 1-propanol, succinato de dietila, ácido dodecanoico.....	80

Lista de Figuras do Artigo 3

Figura 1: Ficha descritiva para análise sensorial de vinhos brancos moscatos tranquilos.....	102
Figura 2: Análise de Componentes Principais (PCA) com base nos compostos voláteis com diferenças significativas em Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco.	
CP1- correlação positiva com: acetato de etila, metanol, 1-propanol, acetato de isoamila, linalol e terpineol. Correlação negativa com: hexanoato de etila. .	
CP2- correlação positiva com decanoato de etila e nerol. Correlação negativa com etanal.....	110
Figura 3: Média da soma das intensidades dos aromas percebidos nos vinhos Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco	115

Lista de Figuras do Artigo 4

- Figure 1: Principal component analysis biplot of physicochemical characteristics of commercial muscat sparkling wines from Farroupilha, Brazil (open diamonds) and Asti, Italy (grey circles).....140
- Figura 2: Principal component analysis based on the concentration of volatile compounds of muscat sparkling wines from Farroupilha, Brazil (open circles) and Asti, Italy (grey circles). Roman numbers represent the three groups141
- Figura 3: Principal component (PC) analysis based on sensory attributes of muscat sparkling wines from the DS Farroupilha, Brazil (open circles), and DOCG Asti (grey circles). Roman numbers correspond to the three groups formed by PC analysis. Light and dark circles represent the Italian wines differentiated by PC analysis of volatile compounds142

Lista de Figuras do Artigo 5

- Figure 1: Fermentation profiles, determined by the reduction of the specific gravity (density), of Moscato Branco wines fermented with *Torulaspora delbrueckii* TPI-4 (●), *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 (●), and with mixed cultures containing 75% TPI-4/25% EC1118 (●), 50% TPI-4/50% EC1118 (●), and 25% TPI-4/75% EC1118 (●)146
- Figure 2: Principal component analysis based on the odour activity values of volatile compounds in Moscato Branco wines fermented with *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 (●), *Torulaspora delbrueckii* TPI-4 (●), and co-fermented with *S. cerevisiae*, and *T. delbrueckii* [EC1118 (25%) + TPI-4 (75%) (●); EC1118 (50%) + TPI-4 (50%) (●); and EC1118 (75%) + TPI-4 (25%) (●), (a) wines distribution, and (b) variables contribution. Rose oxide (RO), isoamyl acetate (IA), ethyl hexanoate (EH), linalyl acetate (LA), 2-phenylethanol (PE), nerol (NE), 2-phenylethyl acetate (PA), ethyl decanoate (ED), terpineol (TE), linalool (LI), hexyl acetate (HAc), geraniol (GE), ethyl octanoate (EO), octanoic acid (OA) and hexanoic acid (HA)148
- Figure 3: Dendrogram based on the sensory attributes of Moscato Branco wines fermented with *Saccharomyces cerevisiae* EC1118, *Torulaspora delbrueckii* TPI-4, and co-fermented with EC1118 (50%) + TPI-4 (50%), EC1118 (75%) + TPI-4 (25%) and EC1118 (25%) + TPI-4 (75%). The dendrogram was constructed using the average linkage between groups algorithm149

RESUMO

Farroupilha, localizado na Serra Gaúcha, é o município que possui a terceira maior produção de uvas para processamento do Brasil e o maior produtor de uvas moscatéis, representando quase a metade da produção brasileira. Nos últimos dez anos, a produção e comercialização de espumantes moscatéis no Brasil aumentaram significativamente, demonstrando um crescente consumo anual. Esse produto vem conquistando diversas medalhas em concursos internacionais e agrada muito o paladar do brasileiro devido seus aromas frescos e frutados. Outro aspecto importante foi a conquista em 2015, da Indicação de Procedência de vinhos finos moscatéis Farroupilha, contribuindo ainda mais para o destaque desses produtos no mercado brasileiro e no exterior. Dentre as principais variedades cultivadas e utilizadas para a elaboração de vinhos finos tranquilos e espumantes moscatéis estão a Moscato Branco, Moscato Giallo, Moscato R2 e Malvasia de Candia. O conhecimento mais aprofundado das características sensoriais, aromáticas e qualitativas destes produtos, são importantes pois permite caracterizar o perfil dos vinhos e espumantes dessa região. O objetivo desse trabalho foi: determinar a composição aromática dos espumantes moscatéis de Farroupilha; sua evolução durante o armazenamento; caracterizar os vinhos elaborados com variedades moscatos e determinar a influência das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Torulaspora delbrueckii* na composição química e sensorial de vinhos Moscato Branco. Foram realizadas análises físico-químicas, cromatográficas e sensoriais. Os resultados permitem atribuir aos espumantes com menor tempo de armazenamento aromas cítricos e frutados e aos espumantes com maior tempo, notas de maçã, trufas, amêndoas, rosas e mel. Cada variedade de uva com a qual estes espumantes foram elaborados aportam diferentes aromas para os mesmos, contribuindo para uma grande complexidade aromática. A variedade Moscato Giallo aportou aos vinhos aromas que remetem a frutas como pera e pitanga, e ervas de quintal como alecrim.

Os vinhos da variedade Moscato R2 destacaram-se pelas notas de frutas cítricas e alecrim, e os vinhos da variedade Moscato Branco apresentaram notas cítricas, pera e pitanga. As leveduras utilizadas também influenciaram na composição aromática. Os vinhos elaborados com leveduras puras de *T. delbrueckii* apresentaram maiores teores de acetato de isoamila (banana), hexanoato de etila (frutas, anis), 2-metil-1-propanol (alcoólico) e 2-feniletanol (rosas). Essas concentrações tendem a diminuir nas fermentações mistas. Vinhos produzidos com *S. cerevisiae* 100% EC 1118 se destacaram pelos maiores teores de etanal (maçã verde), 1-propanol (pungente), octanoato de etila (abacaxi, pera) e linalol (rosas). Dessa forma, este estudo demonstra que apesar da tendência do consumo de espumantes moscatéis e vinhos moscatos serem no período de 12 a 18 meses, esses produtos têm potencial para serem consumidos com maior tempo. Verificou-se também que os espumantes moscatéis de Farroupilha apresentaram uma qualidade geral equivalente aos espumantes elaborados na região de Asti, região de Denominação de Origem tradicionalmente conhecida com quase cem anos de história.

Palavras chave: vinhos moscatéis, aromas, armazenamento, leveduras.

ABSTRACT

Farroupilha, located in the Serra Gaúcha region, is the county that owns the third largest production of grapes for processing in Brazil and the largest producer of muscat grapes, representing almost a half part of Brazilian production. In the last ten years, the production and commercialization of sparkling wines muscat in Brazil increased significantly, demonstrating a growing annual consumption. This product pleases the palate of the Brazilian and also of consumers from other countries, because every year sparkling Brazilian muscat win several medals in international competitions. Another important aspect was the achievement in 2015, of the Geographical Indication of Origin of wines from Farroupilha, contributing even more to the highlight of these products in the Brazilian and abroad market. Among the main varieties cultivated and used for the elaboration of quiet wines and sparkling wine muscat are Moscato Branco, Moscato Giallo, Moscato R2 and Malvasia de Candia. The more detailed knowledge of the sensorial, aromatic and qualitative characteristics of these products are important as they allow to characterize the profile of the wines and sparkling wines of this region. Therefore, the objective of this work was to determine the aromatic composition of the sparkling Farroupilha muscat; their evolution during storage; characterize wines elaborated with muscato varieties and determine the influence of yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii* on the chemical and sensorial composition of Moscato Branco wines. Physicochemical, chromatographic and sensorial analyzes were performed. The results allow to attribute to the sparkling wines with less time of storage citrus and fruity aromas and to the sparkling ones with more time, notes of apple, truffles, almonds, roses and honey. Each grape variety provides different aromas for each sparkling wines, contributing to a higher aromatic complexity. The Moscato Giallo variety attributes to the wine aromas that refer to fruits such as pear and pitanga, and herbs such as rosemary. The wines of the variety

Moscato R2 stood out for the notes of citrus fruits and rosemary, and the wines of the variety Moscato Branco presented citric notes, pear and pitanga. The yeasts used also influenced the aromatic composition. The wines elaborated with pure yeasts of *T. delbrueckii* presented higher levels of isoamyl acetate (banana), ethyl hexanoate (fruits, anise), 2-methyl-1-propanol (alcoholic) and 2-phenylethanol (roses). These concentrations tend to decrease in mixed fermentations. Wines produced with *S. cerevisiae* 100% EC 1118 showed the highest levels of ethanal (green apple), 1-propanol (pungent), ethyl octanoate (pineapple, pear) and linalool (roses). Thus, this study demonstrates that, although the consumption tendency of muscat wine and muscat sparkling wine being between 12 and 18 months, these products have the potential to be consumed with greater storage time, without losing their typical characteristics. It was also verified that the sparkling wines of Farroupilha presented similar quality to the sparkling wine produced in the region of Asti, region of Denomination of Origin traditionally known with almost one hundred years of wine history.

Key words: muscat wines, aromas, storage, yeasts.

1. INTRODUÇÃO

A vitivinicultura brasileira tem suas origens na Serra Gaúcha no Estado do Rio Grande do Sul e é considerada a maior região produtora de vinhos tranquilos e espumantes brasileiros.

O município de Farroupilha, localizado na Serra Gaúcha, é o segundo maior produtor no Estado do Rio Grande do Sul de uvas *Vitis vinifera*. Também é o terceiro maior produtor vitivinícola do País e o maior produtor nacional de uvas moscatéis, utilizadas para elaboração de vinhos tranquilos e espumantes. A produção de uvas moscatéis de Farroupilha representa quase 38% da produção brasileira. Em 2015 foram produzidas mais de 7,8 milhões de quilos de uvas em 296 hectares. As principais variedades cultivadas são a Moscato Branco, Moscato Giallo, Malvasia de Candia e Moscato Bianco clone R2 (Cadastro vitícola, 2015).

O espumante moscatel tem sua origem na Itália, em 1850, na província de Asti, no Piemonte, e é denominado espumante Asti (Rizzon *et al.* 2008). No Brasil, a elaboração de espumante moscatel iniciou-se na Serra Gaúcha em 1978, pela empresa Martini e Rossi, que possuía sede na Itália, e se motivou com o conhecimento e o apoio técnico de profissionais da cidade natal (Lona, 2013).

Segundo a legislação brasileira, decreto nº 8198, o vinho moscato espumante ou moscatel espumante e mais conhecido popularmente como espumante moscatel, é o vinho cujo gás carbônico provém de uma única fermentação em recipiente fechado, de mosto ou de mosto conservado de uva moscatel, com uma pressão mínima de 4 atmosferas a 20°C e com um teor alcoólico de 7 a 10% v/v e no mínimo 20g/L de açúcares remanescentes (Brasil, 2014). Essa vinificação tem por objetivo conservar as características aromáticas tão singulares das variedades moscatéis, bem como parte do açúcar natural da uva. Essas práticas conferem leveza e jovialidade à bebida, tornando-a distintamente frutada e adocicada.

O espumante moscatel vem ganhando espaço no mercado nacional e internacional. A comercialização no mercado interno, no período de janeiro a dezembro de 2012, foi de 3,5

milhões de litros, enquanto que, em 2017, foi de 5,5 milhões, representando um aumento de aproximadamente 160%. Percebe-se um aumento anual de aproximadamente 1 milhão de litros (Cadastro vinícola, 2017). O favorecimento do clima para a produção de uvas moscatéis e o gosto do brasileiro pela bebida são os responsáveis por esse aumento.

Muitas leveduras selecionadas em vinhedos da região estão disponíveis comercialmente para a elaboração de vinhos tranquilos e espumantes. Tais cepas apresentam atributos específicos, como tolerância ao etanol, ao dióxido de enxofre e à carência de nitrogênio, baixa produção de compostos indesejáveis (acetatos e compostos sulfurosos), boa produção de ésteres, habilidade para dominar condições de fermentação diversas, entre outras (Ehsani, 2007). Estas leveduras são principalmente da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, responsáveis principalmente pela fase de fermentação alcoólica. Porém leveduras não-*Saccharomyces*, presentes em muitas variedades de uvas e ultimamente muito estudadas, produzem metabólitos específicos e podem atribuir características peculiares ao vinho (Jolly *et al.* 2006), contribuindo para a complexidade e a diversidade aromática (Benedicts *et al.* 2011; Ciani *et al.* 2011; Domizio *et al.* 2011).

A composição química dos diferentes aromas dos espumantes e vinhos tranquilos moscatéis é complexa. Alguns existem em estado livre na uva e outros se formam a partir de precursores aromáticos presentes no mosto. Esses aromas são liberados, principalmente, na fase pré-fermentativa e na fermentação alcoólica pela ação de enzimas existentes na uva. A composição volátil de origem fermentativa, responsável pelas notas aromáticas dos vinhos, está relacionada com o metabolismo das leveduras e com a ação enzimática durante o processo de vinificação. As variedades moscatéis são as que mais apresentam compostos terpênicos, dentre eles monoterpenos, álcoois terpênicos e terpenos glicosilados. Esses compostos voláteis formados no processo de elaboração, são oriundos das diferentes variedades de uvas

utilizadas e diferentes tecnologias aplicadas, os quais proporcionam aos vinhos tranquilos e espumantes características distintas até hoje pouco conhecidos na região.

O conhecimento mais aprofundado da composição química e aromática destes vinhos moscatéis elaborados em Farroupilha e a evolução desses aromas são muito importantes para o desenvolvimento regional. Este trabalho poderá contribuir para o desenvolvimento de novas tecnologias de elaboração e para a escolha da utilização das variedades capazes de melhorar e preservar aromas e contribuir para que a vida útil desses produtos seja maior. Os objetivos desse trabalho foram determinar a composição aromática de espumantes moscatéis de Farroupilha e sua evolução durante o armazenamento; caracterizar os vinhos elaborados com três variedades moscatos e determinar a influência das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Torulaspóra delbrueckii* na composição química e sensorial de vinhos Moscato Branco. Comparou-se também as características de espumantes moscatéis de Farroupilha com os espumantes da região de Asti, os quais permitem caracterizar o perfil qualitativo das duas regiões de produção. Avaliou-se também, vinhos elaborados com as variedades Moscato Branco, Moscato Giallo e Moscato Bianco clone R2, nas condições de Farroupilha, para conhecer as características dessas, auxiliando os produtores na elaboração dos vinhos e espumantes moscatéis.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Classificação e definição dos vinhos moscatéis

Os vinhos tranquilos elaborados com as variedades moscatéis fazem parte da categoria dos vinhos finos de mesa, os quais possuem teor alcoólico de 8,6% a 14% v/v (Brasil, 2004).

O vinho moscato espumante ou moscatel espumante é o vinho cujo gás carbônico provém da fermentação em recipiente fechado, de mosto ou de mosto conservado de uva moscatel, com uma pressão mínima de 4 atmosferas a 20°C e com um teor alcoólico de 7 a 10% v/v, no mínimo 20g.L⁻¹ de açúcar remanescente e 60 g.L⁻¹ de açúcares totais. Deve ser elaborado com mosto de cultivares de *Vitis vinifera* (Brasil, 2004), podendo ser adicionado de açúcar até 2% v/v em álcool para correção (Brasil, 2014). Na Serra Gaúcha, o espumante moscatel apresenta um teor alcoólico de aproximadamente 7,2% v/v, açúcar de 75 g.L⁻¹ e uma acidez total de 90 meq. L⁻¹ (Rizzon & Gasparin, 2008).

A produção de espumantes na Itália teve início em 1850, na cidade de Canelli, no Piemonte, norte da Itália. A região possui atualmente cerca de cinquenta quilômetros de Leste a Oeste e possui cinquenta e dois municípios das províncias de Cuneo, Alexandria e Asti, abrangendo quase dez mil hectares de vinhedos (Wine Searcher, 2014; Pivetta, 2014). O vinho moscatel mais típico e tradicional é o Asti, espumante protegido por Denominação de Origem. É elaborado com uvas Moscato Bianco, com características organolépticas próprias de moscato. É doce, de baixo teor alcoólico, entre 7 e 9,5% e 4 atmosferas de pressão (Wine Searcher, 2014; Pivetta, 2014).

A primeira demarcação da zona produtiva ocorreu em 1932, no município de Canelli, o qual deu nome à variedade Moscato Canelli, também conhecida como Moscato Bianco. Canelli está localizada no coração da área de produção de Asti (Wine Searcher, 2014). Em

1993, ao lado do Moscato d'Asti (frisante), o espumante foi elevado à condição de DOCG (Denominação de Origem Controlada e Garantida).

No Brasil, Farroupilha é uma das principais regiões produtoras de vinhos moscatéis, tendo obtido o registro de Indicação de Procedência para vinhos finos moscatéis em 2015. Para utilização desse selo, os produtos elaborados devem ser elaborados dentro da área geográfica delimitada, com as variedades autorizadas, sistema de produção, produtividade e cultivo das uvas em conformidade com o Regulamento de Uso estabelecidos e possuir as características de qualidade química definida, bem como serem aprovados sensorialmente por uma comissão de degustação (Zanella & Scarton, 2015).

Na Itália, a técnica utilizada para elaborar o Asti espumante tornou-se conhecida como o "Método Asti". É elaborado em grandes tanques de aço inox para se obter um espumante doce e pouco alcoólico. As uvas moscatéis são colhidas, desengaçadas e prensadas suavemente para reter os aromas florais delicados. O mosto é filtrado e mantido refrigerado para a fermentação ou colocado em tanque pressurizado onde uma certa quantidade de gás é deliberadamente mantido "preso" no tanque. Quando o mosto em fermentação atinge cerca de 7% v/v a 9,5%v/v de álcool, a fermentação é interrompida por meio de resfriamento, inativando as leveduras, onde ocorre uma parada da fermentação para manter uma boa quantidade de açúcar no vinho. O produto resultante é doce com aromas florais e notas de pêssego, damasco e suco de uva fresco. É um dos vinhos mais famosos e populares da Itália.

A variedade Moscato, também conhecida em francês como Muscat Blanc à Petits Grains, é cultivada em todo o Mediterrâneo. Suas uvas dão origem a vinhos secos e doces, tipicamente caracterizados pelo seu frescor, aromas florais e vinoso (Wine Searcher, 2014).

2.2 Variedades utilizadas para elaboração de vinhos moscatéis no Brasil

Na Serra Gaúcha, os vinhos tranquilos e espumantes Moscatéis são elaborados a partir das variedades *Vitis vinifera* com sabor e aromas de moscato. Entre as principais variedades estão a Moscato Branco ou Moscato Italiano, Moscato Giallo, Malvasia de Cândia e Moscato Branco clone R2 que é um clone da Moscato Branco. Além do clone R2, a Moscato Branco possui outros 4 clones (VCR3, VCR221, VCR315, VCR419). Essas variedades possuem uma aptidão natural para a produção desses vinhos, principalmente devido às características de aroma e frescor dos mesmos (Vivai Rauscedo, 2013; Rizzon & Gasparin, 2008).

Apesar de ser conhecida como Moscato Italiano, a variedade Moscato Branco cultivada no Brasil desde 1931 difere de todos os clones existentes. Através de estudos baseados no detalhamento genético e molecular comparados com as coleções de germoplasma francesa e das centenas de variedades de uvas aromáticas descritas pela ampelografia italiana, comprovam que a variedade Moscato Branco cultivada no Brasil é única (Baccin *et al.* 2016; Ritschel *et al.* 2012; Guerra *et al.*, 2009).

Essas uvas são de maturação tardia e sensíveis à podridão do cacho (*Botrytis cinerea*). Geralmente, essas variedades apresentam baixo potencial de produção de açúcar nas condições de cultivo da Serra Gaúcha. Produzem vinho branco relativamente ácido, com aroma varietal característico e de elevada tipicidade. Essas uvas proporcionam a elaboração de vinhos brancos finos tranquilos, geralmente comercializados como varietais. Além desse tipo de vinho, as uvas dessas cultivares são usadas, também, na elaboração de vinho moscatel espumante e de vinho licoroso (Rizzon & Dall’Agnol, 2009; Vivai Rauscedo, 2013).

2.2.1 *Moscato Branco*

É uma variedade muito resistente à antracnose, porém suscetível ao apodrecimento da uva. Apresenta alta fertilidade e é muito bem adaptada às condições do Sul do Brasil. O cacho é de tamanho médio, compacto, de formato cilindro-cônico (Figura 1). A baga apresenta tamanho médio, de formato esférico, umbigo saliente e persistente; a casca é pouco pruinosa, de cor amarelo dourado, tornando-se âmbar na parte exposta ao sol. O sabor do mosto, além de doce, apresenta o típico gosto moscatel (Camargo, 2003). Seu ciclo vegetativo é de 153 dias, peso médio do cacho 276,5g, produtividade 39,9 t/ha, pH de 3,1, °Brix de 13,3 e acidez total de 124 meq.L⁻¹ (Burin & Toniato, 2011).

A produção de Moscato Branco no Rio Grande do Sul (RS) em 2015 foi de 13,345 milhões de quilos plantados em 540 hectares e, no município de Farroupilha, foi de 6,1 milhões de quilos em 213 ha (Cadastro vitícola, 2015).



Figura 1: Cacho da uva da variedade Moscato Branco.

2.2.2 *Moscato Giallo*

A Moscato Giallo produz um vinho branco de cor amarelo-palha com agradável aroma e sabor de moscato. A uva apresenta cacho de tamanho médio a grande, com 20 cm a 25 cm de comprimento, de formato piramidal, grãos soltos, pedúnculo longo e visível (Figura 2). A baga é de tamanho médio, esférica, com a película pruinosa, de cor amarela intensa. A polpa é carnosa e bastante sucosa (Rizzon & Gasparin, 2008).



Figura 2: Cacho da uva da variedade Moscato Giallo.

A produção de Moscato Giallo no RS em 2015 foi de 2,082 milhões de quilos (146ha) e em Farroupilha 702 mil quilos (40,5 ha) (Cadastro vitícola, 2015).

2.2.3 *Moscato Branco clone R2 (Moscato R2)*

A variedade Moscato Bianco R2 possui um ciclo vegetativo de 141 dias, peso médio do cacho de 225 g (Figura 3), produtividade de 21 t/ha, pH de 3,2, °Brix de 15,5 e acidez total

de 129,5 meq.L⁻¹. A produtividade é menor que na Moscato Branco, porém apresenta maior graduação de açúcar (Burin & Toniato, 2011). Em 2015, a produção no RS foi de 814 mil quilos (48 ha) e em Farroupilha, 294 mil quilos em 16 ha (Cadastro vitícola, 2015).

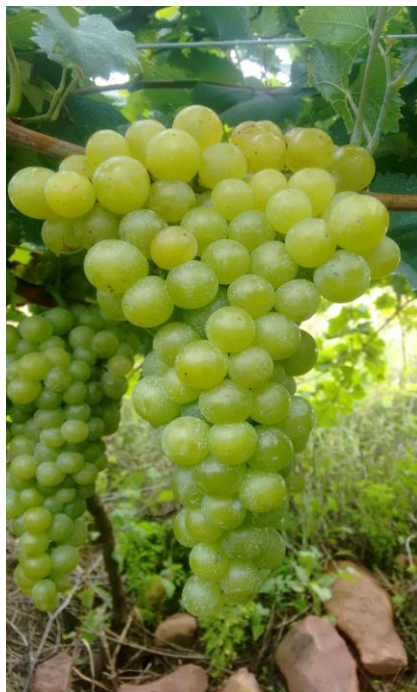


Figura 3: Cacho da uva da variedade Moscato Branco R2.

2.3 Leveduras utilizadas para elaboração de vinhos moscatéis no Brasil

Louis Pasteur, em 1876, demonstrou que as leveduras são responsáveis pela fermentação espontânea da uva prensada ou do mosto e que, além destas existem muitas variedades e espécies que podem ser isoladas. Verificaram também que as características gustativas dos vinhos podem ser influenciadas pela natureza das leveduras e que o efeito do oxigênio na assimilação dos açúcares pelas leveduras produz, além do álcool e gás carbônico, outros produtos em menor quantidade, como por exemplo a glicerina (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006a).

As leveduras são fungos unicelulares que se reproduzem por brotação e por cissiparidade. Podem ser classificadas como *Ascomicetos*, *Basidiomicetos* e fungos

imperfeitos. As leveduras da uva e dos vinhos pertencem aos *Ascomycetos* e fungos imperfeitos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006a). Na fermentação espontânea do mosto de uva, predominam células na forma de limão (leveduras apiculadas). À medida que a fermentação avança, essas células perdem sua forma apiculada e transformam-se em células de forma globosa, às vezes alargadas e, finalmente, algumas de forma elíptica que, ao consumir todos os açúcares do meio, floculam e se depositam. As leveduras apiculadas produzem baixa quantidade de álcool e notável produção de compostos voláteis secundários, enquanto que as leveduras elípticas formam mais álcool e menos compostos secundários (Lepe & Leal, 2004).

As leveduras presentes na fermentação do vinho podem ser divididas em dois grupos: *Saccharomyces*, responsáveis principalmente pela fase de fermentação alcoólica e não-*Saccharomyces*, presentes em maior abundância no início da fermentação, produzindo metabólitos específicos, atribuindo características peculiares ao vinho (Jolly *et al.* 2006).

As leveduras mais utilizadas na vinicultura são do gênero *Saccharomyces*, espécies *cerevisiae*, *bayanus*, *uvarum*, *chevalieri*. As espécies *bailii* e *rosei* foram retiradas do gênero *Saccharomyces* e passaram a integrar o gênero *Zygosaccharomyces bailii* e *Torulaspota delbrueckii*, respectivamente (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006a). A principal característica das leveduras do gênero *Torulaspota delbrueckii* é sua capacidade de degradar o açúcar lentamente, assim produzindo menores níveis de acidez volátil (Cañas *et al.* 2011). Porém em outro estudo, algumas cepas de *Torulaspota delbrueckii* produziram quantidades iguais ou até maiores de acidez volátil do que leveduras comerciais *S. cerevisiae* (Renault *et al.* 2009). Neste mesmo estudo, foi constatado que ocorreu um declínio considerável de etanol. A mesma tendência foi observada para aldeídos e cetonas. O uso dessas leveduras no início da fermentação alcoólica, produz o aumento dos acetatos do vinho (acetatos totais e acetato de etila), os quais são responsáveis pelos aromas frutados (Rojas *et al.* 2003).

Ao longo do tempo, houve uma reavaliação do papel das leveduras não-*Saccharomyces* na vinificação, tendo-se efetuado cada vez mais estudos, de forma a se compreender qual o impacto dessas espécies nas propriedades químicas e sensoriais do vinho (Pretorius, 2000; Ciani *et al.* 2010; Styger *et al.* 2011). Cada vez mais, se tem verificado que as estirpes de não-*Saccharomyces* contribuem positivamente para o processo de vinificação, pois possuem algumas características enológicas específicas que estão ausentes em espécies de *S. cerevisiae*, conduzindo a efeitos sinérgicos e aditivos no produto final (Rojas *et al.* 2003; Viana *et al.* 2008; Comitini *et al.* 2011; Domizio *et al.* 2011).

A razão para essa complexidade aromática é que, ao contrário de espécies *Saccharomyces*, que geralmente não produzem quantidades de enzimas extracelulares, leveduras não-*Saccharomyces* secretam um grande número de enzimas (esterases, glicosidases, β - glicosidases, proteases, celulasas, etc.) (Strauss *et al.* 2001). Estas enzimas podem interagir com o substrato presente no mosto, melhorando alguns estágios no processo de vinificação e nas características do vinho, especialmente no aroma (Charoenchai *et al.* 1997, Fernandez *et al.* 2000).

Leveduras não-*Saccharomyces* geralmente produzem altas concentrações de ésteres, álcoois superiores, aldeídos e glicerol. Esses compostos desempenham um papel importante na determinação do perfil sensorial do vinho e variam de acordo com as diferentes espécies de leveduras. Por exemplo, estirpes pertencentes às espécies *Candida stellata* e *Kloeckera apiculata* foram selecionadas para produzirem altas concentrações de glicerol; estirpes pertencentes às espécies *Candida colliculosa* produzem altas concentrações de acetaldeído e de n-propanol (Heard, 1988).

Em vinhos elaborados com a variedade Moscato Giallo com misturas de leveduras não-*Saccharomyces* e *S. cerevisiae* detectaram-se aproximadamente um aumento de 30% na

concentração de terpenos, baseado no total de terpenos livres e ligados analisados antes e depois da fermentação (Carrau, 2003).

Devido à alta sensibilidade ao etanol, espécies não-*Saccharomyces* podem ser apenas usadas como culturas “starter” na produção do vinho em conjunto com leveduras etanol-tolerantes, como *S. cerevisiae*, assegurando a completa fermentação alcoólica. O mosto de uva pode ser inoculado com uma cultura mista de leveduras não- *Saccharomyces* e uma *S. cerevisiae*, ou com uma inoculação sequencial de uma série de leveduras não-*Saccharomyces* seguido por inoculação de uma estirpe de *S. cerevisiae* (Rainieri & Pretorius, 2000).

As leveduras utilizadas para elaboração do vinho espumante moscatel devem suportar altas pressões, em média 5 atmosferas e ter capacidade de fermentação a baixa temperatura, entre 12° e 15°C, para favorecer a tomada de espuma e a combinação do dióxido de carbono no vinho espumante. A variedade de levedura mais utilizada na elaboração do vinho espumante moscatel é *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* que, além das características enumeradas, apresenta boa capacidade de multiplicação, produz pouco dióxido de enxofre, ácido sulfídrico e acidez volátil. É recomendada também porque transforma lentamente o açúcar em álcool e dióxido de carbono, formando uma quantidade média de produtos secundários da fermentação alcoólica tais como: glicerina, aldeído acético e ácido pirúvico (Rizzon *et al.* 2008).

2.4 Aspecto sensorial de vinhos moscatéis

O vinho espumante moscatel apresenta cor amarelo-palha com pouca intensidade, límpido e brilhante. Em relação ao "perlage", que corresponde ao desprendimento lento do dióxido de carbono, quanto menores forem as bolhas que iniciam no fundo ou nas paredes da taça, mais apreciado é o espumante. É interessante que a espuma apresente cor branca e as bolhas que a formam sejam pequenas e permaneçam por maior tempo possível. Quanto ao

olfato, o espumante moscatel deve apresentar aroma primário nítido de Moscato, originário da uva, e um aroma sutil de levedura, formado por ocasião da tomada de espuma. Na boca, deve apresentar gosto franco de Moscato, sem nenhuma sensação estranha ou desagradável. Deve possuir bom corpo e persistência. A sensação final deixada pelo vinho espumante moscatel é devida aos estímulos produzidos pela reação química da saliva com o resto de vinho que fica na boca. Esta sensação é positiva quando se percebe um aroma fino, frutado e suave, formando um conjunto harmônico e equilibrado (Rizzon *et al.* 2008).

Os vinhos elaborados com uvas moscatéis possuem elevada intensidade aromática, destacando-se aromas florais e frutados, cravo-da-índia e especiarias, baixa acidez, bom volume de boca e elevada persistência de sabor (Guerra & Zanus, 2004).

A concentração e diversidade dos açúcares, ácidos orgânicos, polifenóis e compostos aromáticos expressam as características particulares dos vinhos. Tais características podem ser determinadas por análises químicas ou pela percepção dos atributos visuais, aromáticos e de sabor obtidos a partir de uma avaliação sensorial (Lesschaeve, 2007).

2.5 Elaboração do vinho espumante moscatel

Para elaboração do espumante moscatel, a uva pode ser colocada inteira (Lona, 2013) ou separada da ráquis e esmagada em máquina equipada com rolos de borracha, reduzindo ao máximo a maceração e conduzida para prensa horizontal de esgotadores, que podem ser estáticos ou dinâmicos ou prensa pneumática que funciona como esgotador contínuo. O mosto é clarificado com gelatina, sol de sílica ou bentonite e adicionado dióxido de enxofre e enzimas pectolíticas. Após, coloca-se o mosto em recipiente de aço inoxidável durante 8 a 12 horas; realiza-se uma sifonagem para retirada da parte límpida que é filtrada com filtro à terra e

resfriado a 0°C por 5 a 7 dias para precipitação de cristais. O mosto, então, é filtrado novamente, podendo então, ser fermentado (Rizzon *et al.* 2008).

A fermentação alcoólica corresponde à transformação do açúcar do mosto em álcool, dióxido de carbono e outros componentes secundários pela ação das leveduras (*S. cerevisiae*) (Rizzon *et al.* 2008).

A fermentação pode ser realizada em autoclaves ou em tanques de aço inoxidável, sempre com dispositivo para o controle da temperatura. A fermentação deve ocorrer a temperaturas baixas, de 13 a 15°C, de modo que o tempo de fermentação seja entre 15 a 30 dias de duração. No mosto, no início da fermentação alcoólica, geralmente é utilizada bentonite e caseinato de potássio na proporção de 50 g.hL⁻¹ e 100 g.hL⁻¹, respectivamente, a fim de protegê-lo de oxidações, contribuindo com a estabilidade do espumante. Nessas condições, a fermentação segue normalmente até a formação de 6% v/v de álcool. Nesse momento, quando o processo se desenvolve em autoclave, é necessário fechar a válvula para aproveitar o dióxido de carbono. Caso o processo de fermentação tenha se desenvolvido até aqui em tanque de aço inoxidável, é necessário passar o vinho para autoclave a fim de adquirir a pressão necessária. O teor de açúcar deve estar entre 80 e 90 g.L⁻¹ (Rizzon *et al.* 2008). Caso o teor de açúcar estiver abaixo desse teor, deve-se corrigir com sacarose. No Brasil, a legislação estabelece em 2% v/v de álcool o máximo de correção do açúcar para espumante moscatel (Brasil, 2014). A pressão mínima é de 4 atmosferas, mas recomenda-se a produção de 5 atmosferas por causa das perdas que acontecem durante o processo. Para alcançar essa pressão, é necessário fermentar entre 20 e 24 g/L de açúcar, o qual origina entre 1,2 e 1,4% v/v de álcool que, acrescido aos 6% v/v iniciais, resulta em 7,2-7,4% v/v que será a graduação alcoólica final (Rizzon *et al.* 2008).

Quando o vinho Moscatel espumante alcançar a pressão esperada de 5 atmosferas e a graduação alcoólica de 7 a 9% v/v, a temperatura é reduzida para -2°C para provocar a parada

de fermentação e favorecer a estabilização tartárica. Nessas condições, o espumante é filtrado com filtro a placa ou com cartucho e, por ocasião do engarrafamento, filtrado novamente com os mesmos materiais, mas com porosidade de 0,55 μm , com o cuidado de perder a menor quantidade possível de dióxido de carbono. Para efetuar a filtração a placa, é necessário ter disponíveis duas autoclaves, para atuar em condições isobarométricas (Rizzon *et al.* 2008).

2.6 Elaboração do vinho branco tranquilo

Para elaboração do vinho branco, deve-se ter bastante cuidado no recebimento da uva, pois é o momento em que deve ser controlada a sua sanidade. O primeiro passo para a elaboração do vinho branco é a separação da ráquis e esmagamento da uva, a qual deve ser realizada no menor tempo possível a fim de proteger o mosto de oxidações e início prematuro da fermentação alcoólica. Neste momento, adiciona-se o metabissulfito de potássio (50 a 60 mg.L^{-1} , dependendo do estado sanitário da uva). Este conservante possui ação antisséptica, antioxidante, antioxidásica, solubilizante e desinfetante (Rizzon & Dall’Agnol, 2009).

Após esta etapa, pode-se realizar a clarificação do mosto. A maneira mais simples é utilizando o processo estático, isto é, pela sedimentação natural das borras, seguida de decantação. Este processo pode ser realizado em temperatura baixa (menos de 10°C) durante 18 a 24 horas. Após esse período, o mosto límpido é cuidadosamente transferido para os tanques de aço inox onde ocorrerá a fermentação alcoólica. Pode-se adicionar enzimas pectolíticas para hidrolisar as pectinas e favorecer a precipitação, e sol de sílica que possui grande afinidade com as substâncias protéicas de carga positiva e ajudam na sedimentação.

A fim de assegurar o início rápido da fermentação alcoólica, adiciona-se leveduras selecionadas, evitando assim, problemas de parada de fermentação e formação reduzida de ácido acético, acetato de etila e de fenóis voláteis, componentes prejudiciais à qualidade do

vinho. Na fermentação alcoólica, através da ação das leveduras e da degradação anaeróbica da glicose e da frutose da uva, ocorre a transformação do açúcar do mosto em álcool, gás carbônico e outros compostos secundários como por exemplo, os compostos voláteis que atribuem aromas agradáveis aos vinhos. Para facilitar a formação destes compostos aromáticos, recomenda-se uma fermentação lenta abaixo de 20°C (Rizzon & Dall’Agnol, 2009). A fermentação alcoólica tem como subprodutos o acetaldeído, o glicerol e os ácidos láctico, succínico e cítrico, que contribuem para o sabor do vinho. Nessa fase, são formados também os ésteres, principais responsáveis pelo “bouquet”, que conferem notas frutadas ao vinho (Santos, 2006).

A maioria dos processos de produção do vinho utilizam cepas de *S. cerevisiae*, pois estas produzem fermentações mais rápidas e confiáveis, além de evitarem contaminações microbianas. Dessa forma, essas culturas são selecionadas tendo como base a característica de aperfeiçoar o processo e intensificar a qualidade da matéria-prima, tendo como consequência um produto de melhor qualidade e de boa aceitabilidade. Além disso, *S. cerevisiae* são produtoras de etanol e são mais tolerantes aos produtos da fermentação e mudanças de pH no decorrer do processo fermentativo (Duarte *et al.* 2010). No entanto, a principal crítica que ainda recebe é em relação às propriedades, por vezes ordinárias, de culturas puras comerciais, que resultam em vinhos de qualidade e complexidade medianas (Rainieri & Pretorius, 2000).

Uma vez concluída a fermentação alcoólica, para determinados vinhos brancos com acidez elevada, é importante se proceder à fermentação malolática. Para vinhos brancos com baixa acidez, ou que apresentem acidez equilibrada, não se recomenda esse tipo de fermentação, pois ela reduz os aromas frutados e florais descritores importantes da qualidade desses vinhos. O efeito principal da fermentação malolática é a transformação do ácido málico em láctico e a consequente redução da acidez total. Além dessa transformação, ocorrem

igualmente reações secundárias, como o desprendimento de dióxido de carbono, além de pequeno aumento da acidez volátil e do pH do vinho (Rizzon & Dall'Agnol, 2009).

Após a fermentação e antes do engarrafamento, ainda pode-se realizar mais uma filtração ou clarificação para total sedimentação de substâncias proteicas, borras, ácido tartárico. Esta limpeza pode ser realizada através de trasfegas, estabilização a frio, uso de bentonite (argila mineral disponível no mercado em pó ou granulada) ou filtração (Rizzon & Dall'Agnol, 2009).

2.7 Compostos voláteis

Os compostos responsáveis pelos aromas dos vinhos são provenientes da uva (compostos primários ou varietais), da fermentação alcoólica e malolática (secundários) ou adquiridos durante o amadurecimento, tanto em barrica quanto na garrafa (terciários). Podem ser oriundos de precursores voláteis não aromáticos (glicosídicos, ácidos fenólicos, ácidos graxos) ou de compostos aromáticos voláteis instáveis, como terpenos e dióis terpênicos ou constituintes dos fenômenos bioquímicos pré-fermentativos (oxidações, hidrólises), da fermentação alcoólica e malolática e das reações químicas e enzimáticas ocorridas durante a conservação e envelhecimento em garrafa. Os compostos odoríferos, estão sob a forma livre, e são determinantes na qualidade e tipicidade dos vinhos. (Fregoni *et al.* 2008; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

Em vinhos jovens, o aroma é essencialmente determinado pelos constituintes voláteis provenientes das uvas e da vinificação. Os álcoois, ácidos graxos, ésteres, acetatos, ácidos voláteis e o 2-feniletanol (Figura 4 e 5) constituem a base dos aromas dos vinhos, podendo, estes compostos serem formados no transcurso da fermentação alcoólica ou, alguns deles, ser

originários da própria uva. No entanto, observa-se que a maior parte deles é formada no transcurso da fermentação alcoólica (Flanzy, 2000).

As características aromáticas dos vinhos dependem da interação de diversos fatores, desde a localização geográfica do vinhedo (aspectos como solo e clima), variedade da uva e práticas vitícolas até as técnicas utilizadas no processo de elaboração como escolha das leveduras, prensagens, remontagens, clarificações, tratamentos térmicos, estabilização e amadurecimento (Crouzet, 2000; Welke *et al.* 2012). Nesses processos, ocorre a oxigenação e consequente ativação das reações de oxidação enzimática que, normalmente, resultam no escurecimento enzimático (marrom), como as enzimas de formação de álcoois e aldeídos hexacarbonados responsáveis pelos aromas verdes, herbáceos e amargos (Crouzet, 2000).

Com exceção do metanol, as substâncias voláteis e os aromas secundários são formados durante a fermentação alcoólica pela ação das leveduras e bactérias lácticas e apresentam um importante papel na definição dos aromas dos vinhos, essencialmente tratando-se dos álcoois superiores, aldeídos, ácidos e seus ésteres, compostos carbonilados, mercaptanos, compostos nitrogenados, lactonas, fenóis voláteis, entre outros (Flanzy, 2000; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). A levedura tem um papel fundamental na produção de etanol a partir do açúcar nas reações gliceropirúvica (Crouzet, 2000).

Os álcoois de três ou quatro carbonos, denominados álcoois superiores conferem aromas principalmente de creme de amêndoas e álcool fusel (Catania e Avagnina, 2010) que podem favorecer a qualidade sensorial, pois contribuem para a melhoria do buquê dos vinhos (Ebeler & Thorngate, 2009). Sua formação está ligada ao metabolismo dos aminoácidos, catabolizado pelas leveduras, através das reações de transaminação, descarboxilação e desidrogenação (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). Os principais álcoois superiores são: 1-propanol, 2-metil-1-propanol (isobutílico), 2-metil-1-butanol (amílico ativo) e 3-metil-1-butanol (isoamílico) (Figura 4). O composto 2-metil-1-propanol representa cerca de 1/4 dos

álcoois superiores em vinhos tintos e cerca de 1/3 nos vinhos brancos (Jackson, 2008). Em doses elevadas, os álcoois superiores aportam aromas desagradáveis, exceto pelo aroma de rosas do 2-feniletanol (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

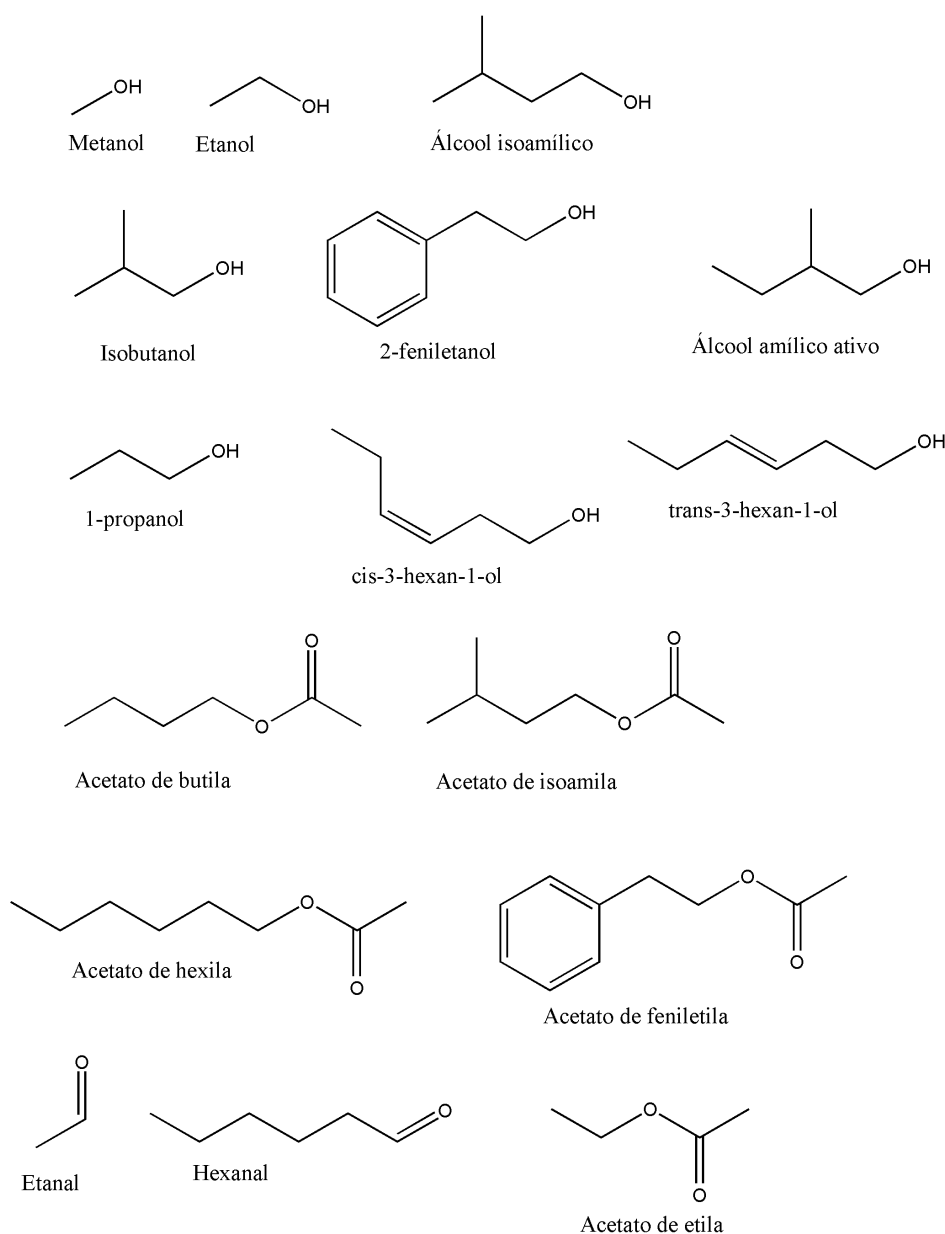


Figura 4: Estruturas químicas dos principais álcoois, aldeídos e ésteres de acetatos responsáveis pelos aromas dos vinhos.

O metanol, formado exclusivamente através da hidrólise enzimática de grupos metoxilo das pectinas durante a fermentação, está presente em pequenas quantidades nos

vinhos (60 a 150 mg.L^{-1}) e não causa impacto organoléptico. Sua concentração de metanol depende do tempo de contato das cascas durante a maceração. Vinhos elaborados a partir de variedades híbridas possuem maior teor de metanol do que aqueles elaborados a partir de *Vitis vinifera*, devido ao conteúdo mais elevado de pectina. O uso de enzimas pectolíticas para facilitar a extração ou clarificação do mosto podem causar um aumento do metanol como um resultado da atividade da pectina esterase. O metanol ingerido em excesso (350 mg.Kg^{-1}) pode ser tóxico, pois ele oxida-se para produzir aldeído fórmico e ácido fórmico, afetando o sistema nervoso central, podendo causar cegueira (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

Entre os voláteis derivados do metabolismo da levedura, do ponto de vista sensorial, os ésteres são os mais importantes para o sabor do vinho (Swiegers & Pretorius, 2005), pois conferem os aromas frescos e frutados (abacaxi, pera, maçã, banana, etc.).

Os ésteres oriundos da fermentação alcoólica se dividem basicamente em duas classes, dos ésteres etílicos (Figura 5), provenientes da reação do etanol com uma acil-CoA, derivados dos ácidos graxos de cadeia média e os ésteres de acetato (Figura 4), provenientes da condensação de um álcool superior com acetil-CoA, derivado do ácido acético (Cordente *et al.* 2012). Os ésteres determinados no vinho são majoritariamente produzidos pelas leveduras, no entanto, podem também derivar das uvas e dessas esterificações entre os álcoois e ácidos durante o envelhecimento do vinho (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). Os ésteres etílicos de ácidos graxos caracterizam-se por apresentarem aromas agradáveis (floral, frutado, mel) e encontram-se em menores concentrações nos vinhos. Os principais ésteres etílicos presentes nos vinhos são: o hexanoato de etila (aroma a maçã), octanoato de etila (aroma a pera, banana) e decanoato de etila (aroma floral). Já os principais ésteres de acetato quantificados nos vinhos são: acetato de etila (vegetal, frutado), acetato de feniletila (aroma frutado, mel), acetato de isoamila (aroma a banana) e acetato de hexila (aroma a maçã, pera). O acetato de etila também é um indicador da ação das bactérias lácticas e acéticas e, em concentrações elevadas, é

detectado organolepticamente pelo odor desagradável. Teores de até 50 mg.L⁻¹ são considerados baixos (Lambrechts & Pretorius, 2000; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

No que se refere a vinhos e espumantes moscatéis, é importante que se produza vinhos com teor mais baixo possível de etanal ou aldeído acético e acetato de etila. Esses são formados pela ação de bactérias lácticas e acéticas durante o processo de elaboração. Concentrações mais elevadas (acima de 100 mg.L⁻¹), aportam aroma desagradável. Isso pode acontecer devido à utilização de maior quantidade de dióxido de enxofre ou da participação de *Saccharomyces uvarum*, leveduras que suportam temperatura de fermentação mais baixa e que se caracterizam por formar maior quantidade destes compostos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b; Rizzon *et al.* 2008).

A função do dióxido de enxofre no vinho ainda não está totalmente elucidada, porém são atribuídas a essa substância a participação nos fenômenos de óxido-redução que interferem no mecanismo da fermentação alcoólica. O dióxido de enxofre, também auxilia os processos de copolimerização dos compostos fenólicos (antocianos e catequinas) do vinho durante o período de conservação (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

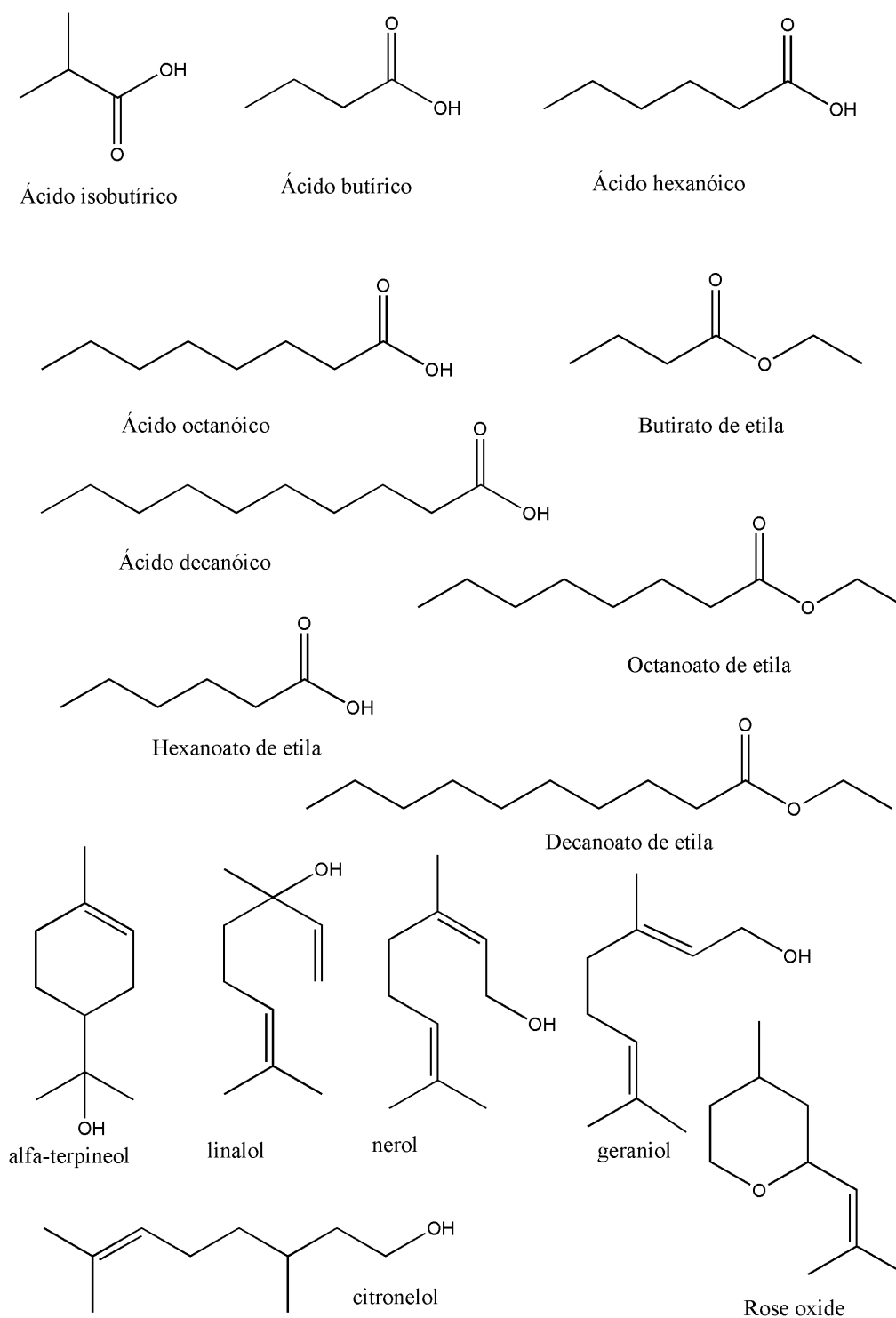


Figura 5: Estruturas químicas dos principais ácidos, ésteres etílicos e terpenos responsáveis pelos aromas dos vinhos.

Nos vinhos brancos, além da influência da cepa de levedura, da clarificação e da “deboubrage” também ocorre a interferência da temperatura de fermentação, onde

temperaturas em torno de 15°C favorecem a formação de ésteres voláteis. No entanto em temperaturas abaixo disso, não se constata essa tendência (Bulton *et al.* 1996).

A contribuição de todos esses compostos no aroma final, depende se a sua concentração no vinho está acima do limiar de percepção. Vários estudos têm identificado compostos voláteis em diferentes variedades (Rocha *et al.* 2004) para estabelecer o impacto que os aromas causam, individualmente, na apreciação global do vinho (Kotseridis *et al.* 2000; Guth, 1997; Arrhenius *et al.* 1996).

As variedades aromáticas, tais como as moscatéis, originam mostos odoríferos, cujos aromas se parecem aos seus vinhos. Os compostos mais importantes responsáveis por esses aromas pertencem à família química dos terpenos (Figura 5) (aproximadamente 40), os quais encontram-se na uva e nos espumantes sob a forma livre e sob a forma de precursores inodoros, principalmente glicosilados. Dentre esses terpenos, os compostos mais aromáticos são os monoterpenos, compostos de dez átomos de carbono (aromas primários) e os sesquiterpenos (quinze átomos de carbono) formados a partir de duas e três unidades isoprênicas, respectivamente. Os monoterpenos se apresentam sob a forma de hidrocarbonetos simples (limoneno, mirceno), de aldeídos (linalal, geranial), de álcoois (linalol, geraniol), de ácidos (ácido linálico, gerânico) e de ésteres (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b, Moreno Arribas, *et al.* 2009).

Em 1946, Austerweil foi o primeiro a relatar a influência dos compostos terpênicos no aroma Moscatel. Em 1956, a presença de três álcoois monoterpênicos (linalol, α -terpineol e geraniol) foi encontrada por Cordonnier nas uvas moscatéis (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). Linalol, geraniol, nerol, citronelol e α -terpineol são encontrados em muitos vinhos de caráter floral, como os moscatos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b), Gewürztraminer (Guth, 1997), Riesling (Simpson & Miller, 1983) e Chardonnay (Duchêne *et al.* 2009).

A biossíntese de monoterpeno nas plantas é realizada pela enzima monoterpeno sintase (MTPs) (Chen *et al.* 2011). As espécies de leveduras *S. cerevisiae* produzem apenas pequenas quantidades de monoterpenos (por exemplo, até 1,2 ou 4 µg/L de geraniol e linalol, respectivamente) pois não possuem essa enzima (Carrau *et al.* 2005). *S. cerevisiae* possuem a capacidade de metabolizar monoterpenos e podem ser responsáveis pelas bioconversões de: geraniol em citronelol; linalol e nerol em acetato de geraniol; nerol em geraniol; linalol em α -terpineol e citronelol em acetato de citronelila (Gamerro *et al.* 2011).

Além das propriedades naturais das variedades de uva, o conteúdo de monoterpenos também é influenciado por fatores incontrolláveis, como clima e solo. Uma grande proporção desses monoterpenos estão presentes em mostos de uva como glicoconjugados de açúcar inodoro não voláteis que podem ser liberados através de enzimas glicosidásicas ou cepas de leveduras recombinantes que expressam tais atividades (Pardo *et al.* 2015). A concentração de monoterpenos no vinho pode diminuir durante sua conservação devido ao aparecimento de seus óxidos e à hidrólise ácida dos glicosídeos terpênicos. O óxido de linalool e o β -mirceno, por exemplo apresentam aromas de casca de laranja ao invés do aroma de rosas e laranja, respectivamente (Voirin *et al.* 1990).

Os constituintes pós-fermentativos incluem todos os compostos voláteis que se formam durante a maturação e o armazenamento do vinho, podendo ocorrer a perda de aromas varietais e frutados, produzindo aromas mais complexos ou por vezes desagradáveis. Essas transformações são decorrentes basicamente da deterioração oxidativa ou por reações de redução. Podem ser originados de compostos enxofrados ou ácidos graxos (etanal- maçã assada; ácidos butíricos, isobutíricos- queijo, ranço; sulfetos- repolho, ovo podre); degradação de carotenoides e antocianinas (β -damascenona- frutas muito maduras; β -ionona- casca de laranja estragada e rosas) ou alterações causadas por *Bretanomyces* (4-etilfenol- couro,

animal, estábulo; 4-etilguaiacol- fumaça, especiarias) (Escudero *et al.* 2002; Silva Ferreira *et al.* 2002; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b, Papadopoulou & Roussis, 2008).

Vários compostos fermentativos (ésteres etílicos de ácidos graxos, acetatos e ácidos graxos) diminuem com o envelhecimento oxidativo, enquanto outros, como sotolon e derivados de furfural, aumentam. Além disso, o perfil de aroma pode mudar devido às variações no conteúdo de norisoprenoides C13 (Loscos *et al.* 2010; Nasi *et al.* 2010). Fatores como transformações químicas ou bioquímicas, são apontados como possíveis causas da redução de aromas, podendo ser identificados após a fermentação malolática ou armazenamento (Bartowsky & Pretorius, 2009).

Certos compostos, mesmo presentes em quantidades-traço, podem desempenhar um importante papel no aroma final de um vinho, enquanto outros, muito mais abundantes, podem ter uma pequena contribuição (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). A participação de cada um dos componentes no aroma final de um vinho depende da correlação entre a composição química e o limiar de percepção de cada um desses compostos, pois a maioria dos compostos voláteis encontra-se abaixo ou muito próximo ao limiar sensorial individual (Falqué *et al.* 2000).

2.8 Compostos fenólicos totais e índice de cor

A coloração dos vinhos está estreitamente relacionada com a sua composição em pigmentos fenólicos, particularmente as antocianinas. Esses pigmentos apresentam uma variação de cor de acordo com certos parâmetros físico-químicos do meio onde se encontram. Um dos aspectos principais a se ter em conta é o pH do vinho, uma vez que, em meio ácido, as antocianinas apresentam uma coloração vermelha que se dissipa à medida que sobe o pH, apresentando uma cor azul-arroxeadada quando o pH é superior a 4 e uma cor amarela quando o pH é neutro ou básico (Ribéreau-Gayon, *et al.* 2006b).

Os compostos fenólicos são substâncias de grande importância para a enologia, sendo responsáveis pelas diferenças entre os vinhos brancos e tintos. São encontrados na película, especialmente nas células epidérmicas e nas sementes (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

Os fenóis são um grande grupo de compostos presentes na natureza, que possuem anéis aromáticos com substituintes hidroxilas. Esses compostos são, em sua maioria, potentes antioxidantes devido a sua estrutura química (doadores de H⁺ ou de elétrons), sendo encontrados em frutas, verduras e em bebidas como chá e vinho (Leighton & Urquiaga, 2001). O vinho contém muitos compostos fenólicos, alguns originários da uva e outros formados durante a vinificação. Dentre esses compostos podem ser citados os estilbenos, a catequina e seus derivados, as antocianinas, o ácido cumárico, o ácido cafeico, o ácido ferúlico, o ácido gálico, entre outros. Essas substâncias apresentam uma importância muito grande, pois conferem aos vinhos a coloração, grande parte do sabor e aroma, além de ter ação conservante (Castellari *et al.* 2002; Waterhouse, 2002; Landrault *et al.* 2001).

A quantidade e a qualidade de polifenóis na uva dependem principalmente da variedade, do clima, do solo e das práticas de cultivo. A concentração total dos compostos fenólicos no vinho é em média de 2,57 g.L⁻¹ em equivalentes de ácido gálico para vinhos tintos e 0,24 g.L⁻¹ para vinhos brancos. As uvas tintas possuem maior quantidade de compostos fenólicos em decorrência das antocianinas, moléculas responsáveis pela pigmentação, ausente nas uvas brancas (Leighton & Urquiaga, 2001).

Atualmente, existe um crescente interesse pelos compostos fenólicos do vinho, pois muitos deles possuem efeitos biológicos importantes não apenas nas plantas, mas também no ser humano, prevenindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e inibindo a formação de tumores cancerosos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). Os componentes fenólicos do vinho com capacidade antioxidante são os derivados de ácidos benzoicos, ácidos cinâmicos, tirosina, estilbenos, procianidinas e antocianinas (Leighton & Urquiaga, 2001).

Os sistemas de condução da videira e os processos de vinificação, que variam conforme o país e a região, determinam o teor dos compostos fenólicos no vinho. Durante a vinificação, o tempo de maceração, a temperatura, a presença da ráquis, sementes e enzimas exercem influência sobre os teores desses compostos. Além disso, fatores como a variedade da uva, o clima, a origem geográfica e infecções causadas por patógenos também influenciam a concentração dos compostos fenólicos que se acumulam na uva (Burns *et al.* 2001).

Polifenóis são compostos extremamente instáveis. Suas reações começam assim que a uva é esmagada ou prensada e continuam durante o processo de vinificação e envelhecimento, resultando uma diversidade grande de novos produtos. Tais produtos apresentam propriedades organolépticas específicas, frequentemente diferentes daquelas de seus precursores. A composição fenólica nos vinhos depende da uva utilizada e das condições de vinificação que influenciam na extração de vários compostos da uva e das subsequentes reações (Cheynier *et al.* 2006).

Durante o armazenamento ocorre uma mudança de cor do amarelo pálido para amarelo-marrom (Cejudo-Bastante *et al.* 2011). O aumento da concentração dos compostos fenólicos ao longo do tempo é atribuído às reações de oxidação e polimerização, onde também ocorre um aumento na absorbância de 420 nm, diretamente relacionada com o escurecimento dos vinhos (Barón *et al.* 1997).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados através de 5 artigos: 1)Evolução das características sensoriais de espumantes moscatéis durante o armazenamento; 2)Composição aromática de espumantes moscatéis de Farroupilha ao longo do tempo de armazenamento; 3)Caracterização aromática e sensorial de vinhos elaborados com as variedades Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco de Farroupilha; 4) Caracterização do perfil aromático de espumantes Moscatéis Brasileiros e Italianos através dos compostos voláteis realizados por CG-FID e análise sensorial e 5) Contribuição da levedura *Torulasporea delbrueckii* (isolado regional) e uma levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* no perfil aromático e sensorial de vinhos Moscato Branco.

Avaliou-se as características físico-químicas, composição volátil e análise sensorial de: espumantes de Farroupilha de 6 anos de armazenamento, espumantes de Farroupilha comerciais, espumantes Asti comerciais, vinhos tranquilos microvinificados elaborados com as principais uvas utilizadas para a elaboração dos espumantes moscatéis e vinhos tranquilos microvinificados com diferentes leveduras (Figura 6).

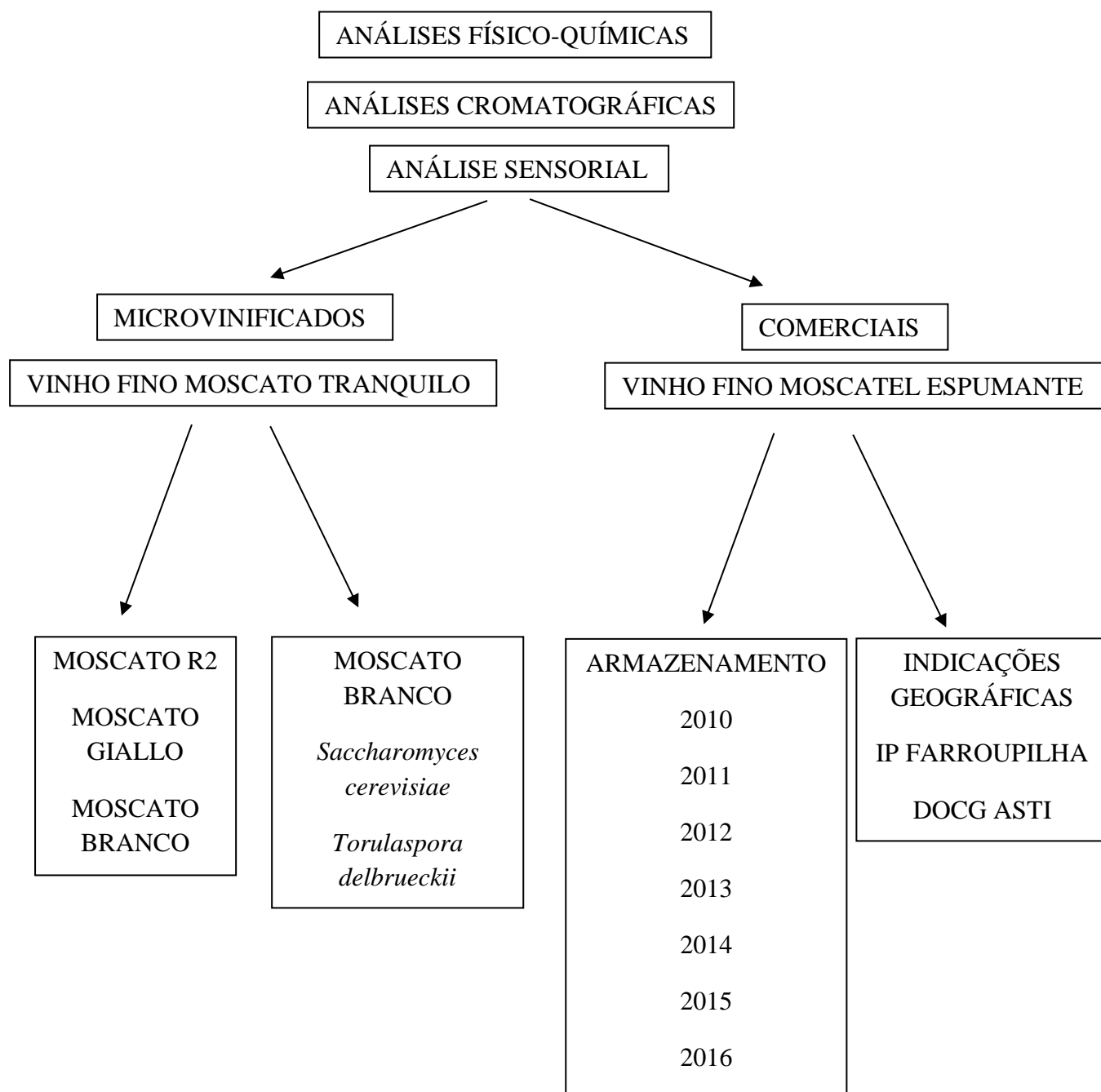


Figura 6: Fluxograma dos ensaios.

3.1 ARTIGO 1

EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE ESPUMANTES

MOSCATÉIS DURANTE O ARMAZENAMENTO

Artigo aceito pela Revista Brasileira de Viticultura e Enologia em 01 de março de 2018.

EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE ESPUMANTES MOSCATÉIS DURANTE O ARMAZENAMENTO

Ângela Rossi Marcon¹, Luisa Vivian Schwarz¹, João Carlos Taffarel², Mauro Celso Zanus², Ana Paula Longaray Delamare¹, Sergio Echeverrigaray¹.

¹Universidade de Caxias do Sul (UCS) / Instituto de Biotecnologia. Rua: Francisco Getúlio Vargas, 1130; 95070-560 Caxias do Sul, RS. rossimarcon@gmail.com (autor correspondente), luisa.vivian@gmail.com, apldelam@ucs.br, selaguna@yahoo.com.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Uva e Vinho). Rua Livramento, 515 CEP 95700-000 Bento Gonçalves - RS. joao.taffarel@embrapa.br, mauro.zanus@embrapa.br.

Resumo

A região de Farroupilha tem mostrado uma grande aptidão para a produção de uvas e espumantes moscatéis, principalmente devido às características de aroma e frescor que tais uvas proporcionam ao espumante. O espumante moscatel é elaborado a partir das variedades *Vitis vinifera* com sabor e aromas moscatéis. Entre as principais variedades estão a Moscato Branco, Moscato Giallo, Moscato R2 e Malvasias. As características sensoriais dos moscatéis são fatores determinantes da sua qualidade e sucesso frente ao mercado. Este trabalho tem como objetivo avaliar a evolução sensorial de espumantes moscatéis ao longo do armazenamento por seis anos. Foram avaliados espumantes da região de Farroupilha (safra 2010 a 2015) de uma mesma vinícola, utilizando uma ficha de análise sensorial descritiva desenvolvida ao longo do trabalho para um melhor entendimento, caracterização e

avaliação dos espumantes moscatéis. Os resultados mostram que durante o armazenamento em garrafas, os espumantes moscatéis sofrem importantes modificações nas características sensoriais, principalmente diminuição na qualidade dos aromas e aumento na intensidade de cor. A ficha de degustação descritiva desenvolvida e adotada neste trabalho é eficiente e adequada para a análise sensorial dos espumantes moscatéis.

Palavras-chave: espumante moscatel, análise sensorial, armazenamento, ficha de degustação.

EVOLUTION OF THE SENSORY CHARACTERISTICS OF MUSCAT SPARKLING WINES DURING STORAGE

Abstract

The Farroupilha region shows excellent aptitude for the production of muscat grapes and sparkling wines, mainly due to the characteristics of aroma and freshness that these grapes provide to the sparkling wine. Muscat sparkling wine is made from *Vitis vinifera* varieties with flavors and aromas of muscat. Among the main varieties are Moscato Branco, Moscato Giallo, Moscato R2 and Malvasias. The sensory characteristics of these wines are determinants of their quality and commercial success. This work aimed to evaluate the sensory evolution of muscat sparkling wines along a six years storage in bottle. Wines (2010 to 2015 vintages) of a Farroupilha winery were evaluated using a specific descriptive card already used in regional concourses. The results showed that during the storage in bottles the muscat sparkling wine occur important modifications in the sensorial characteristics, mainly decrease in the quality of the aromas and increase in the intensity of color. The descriptive tasting sheet developed and adopted in this work is efficient and adequate

for the sensorial analysis of muscat sparkling wines.

Keywords: muscat sparkling wine, sensorial analysis, storage, evaluation card.

Introdução

O espumante moscatel na Serra Gaúcha é elaborado principalmente com a variedade Moscato Branco, com uma produção em Farroupilha, na safra de 2015, de 5.337.876 Kg, representando 42% da produção do Rio Grande do Sul, seguida da variedade Moscato Giallo (615 mil Kg) e Moscato R2 (274 mil Kg) (CADASTRO VITÍCOLA, 2015). A comercialização de espumantes no Rio Grande do Sul em 2017 teve um crescimento de 423% em relação a 2006, representando 5,5 milhões de litros (CADASTRO VINÍCOLA, 2017).

Este aumento de consumo e produção reflete o gosto do consumidor por um produto jovem, fresco e doce. Estes aspectos sensoriais são oriundos principalmente das variedades moscatos, além da viticultura, dos processos enológicos e do *terroir* que estas estão inseridas. Destaca-se também que o conceito moderno de qualidade, em um mercado consumidor competitivo, é inteiramente baseado na satisfação das expectativas do consumidor, o que significa que devemos conhecer o gosto do consumidor para suprir essa necessidade e ter sucesso nas vendas (SCHEIBEHENNE et al., 2015; STEFENON; BONESI, 2015).

Ao avaliar um espumante, destacam-se determinados aspectos, entre os quais a intensidade dos gostos e sabores, o corpo (estrutura), a evolução, a persistência, o equilíbrio, a tipicidade, o fim de boca, o retrogosto e possíveis defeitos (MIELE, 2006), sendo que o perlage e o aroma são os principais fatores que devem ser considerados (STEFENON; BONESI, 2015).

Na literatura, não foram encontradas ferramentas de avaliação capazes de

discriminar os produtos de forma quantitativa e qualitativa. A ficha de análise sensorial, utilizada pela OIV (Office International de la Vigne e du Vin), avalia os aspectos visual, olfativo e gustativo de forma geral e não discriminativa (OIV, 2009). Os testes descritivos ou analíticos descrevem os componentes ou parâmetros sensoriais e medem a intensidade que são percebidos, podendo ser avaliados, através de uma escala ou grau de intensidade com que cada atributo está presente na amostra (BRASIL, 2005). Dessa forma esta ficha se torna um bom método de avaliar e conhecer quais aromas estão presentes nos espumantes moscatéis.

O espumante moscatel apresenta a coloração amarelo-esverdeada, de pouca intensidade. O aroma se percebe espontaneamente, sem que seja necessário agitar o copo, pois as pequenas borbulhas facilitam o movimento das moléculas voláteis de aroma até o senso olfativo. O aroma moscatel é intenso, inconfundível e agradável. Encontram-se notas que lembram flores de acácia, bergamota ou laranjeira, mel selvagem, abacaxi, amoras brancas, peras maduras, pêssego e algumas ervas aromáticas de quintal. Na boca, percebe-se uma sensação agradável de doçura, equilibrada por uma delicada acidez proveniente da uva e do gás carbônico. O sabor tem uma certa cremosidade, é delicado e persiste por longo tempo (ZANUS, 2014).

Apesar de serem consumidos jovens (6 a 18 meses), é frequente a comercialização ou venda de moscatéis espumantes com tempos maiores de armazenamento. Neste sentido, no presente trabalho, foram avaliadas as variações organolépticas de espumantes moscatéis ao longo de seis anos de armazenamento em garrafas, assim como a elaboração de uma ficha de degustação discriminativa específica para espumantes moscatéis.

Material e métodos

As amostras de espumantes moscatéis das safras de 2010 a 2015, foram coletadas na Cave Antiga Vitivinícola. Os espumantes foram elaborados com as variedades Moscato Branco (40%), Moscato R2 (30%) e Moscato Giallo (30%) com uma média de aproximadamente 16 °Brix. Foi realizado desengace, esmagamento e prensagem. O mosto foi clarificado com gelatina (20 g.hL⁻¹) e sol de sílica (10 a 20 mL.hL⁻¹), adicionado dióxido de enxofre (50 mg.L⁻¹) e enzimas pectolíticas (0,2 g.hL⁻¹). Após 24 horas, foi descubado e filtrado com filtro a placas e resfriado a 0°C durante 7 dias para armazenamento e precipitação de cristais; e adicionou-se bentonite (80 g.hL⁻¹) para estabilização proteica. Para iniciar o processo de fermentação, o mosto foi submetido à nova filtração e levado para as autoclaves com controle de temperatura (13 a 15°C). Iniciou-se o pé de cuba com a adição de 20 g.hL⁻¹ de leveduras selecionadas e ativante de fermentação (30 g.hL⁻¹), aos quais foram adicionados ao mosto, que fermentou até a formação de 6% v/v de álcool. A autoclave foi fechada com a adição de aproximadamente 35 g.L⁻¹ de açúcar. A fermentação foi interrompida através da redução brusca da temperatura (até -3 °C) e da filtração esterilizante, restando cerca de 65 a 75 g.L⁻¹ de açúcar, 5 a 6 atmosferas de pressão e 7% a 8% v/v de álcool. A seguir, em condições controladas de pressão, foi feito o engarrafamento. As garrafas de espumantes ficaram armazenadas em caves durante 1 (2015), 2 (2014), 3 (2013), 4 (2012), 5 (2011) e 6 (2010) anos e retiradas em 2016 para realização da análise sensorial.

A análise sensorial foi realizada por um painel de doze degustadores treinados na sala de degustação da Embrapa Uva e Vinho utilizando-se uma ficha adaptada com escala de 0 a 100 para a apreciação global e escala de intensidade de 0 a 5 para aspectos descritivos, seguindo a metodologia quantitativa descritiva

(LAWLESS; HEYMANN, 1998).

A ficha de degustação (Figura 1) foi desenvolvida a partir da ficha de degustação oficial da OIV (2009), roda de aromas (NOBLE; HOWE, 1990) e dos descritores sugeridos por Zanus (2014). A ficha leva em consideração características visuais, olfativas e o paladar, com discriminação de aromas e sabores típicos de moscatéis. A ficha de degustação empregada já foi utilizada em concursos regionais.

Para fins de análise estatística, os degustadores foram agrupados em três blocos e calculadas as medianas. As médias das medianas para os parâmetros foram submetidas a análises de variância, comparação de médias, análise de correlações (Spearman) e análise multivariada (Análise de Componentes Principais) com o auxílio do programa computacional SPSS 22.0 for Windows.

Resultados e discussão

Diversos estudos envolvendo análise sensorial e química de espumantes ao longo do envelhecimento em garrafa têm sido realizados em espumantes tradicionais produzidos pelo método tradicional. Nesses casos, as alterações químicas espontâneas são mascaradas pela presença das borras de leveduras, as quais durante a autofagia/autólise liberam compostos e enzimas que modificam o produto final (ALEXANDRE; GUILLOUX-BENATIER, 2006). Já nos espumantes moscatéis e nos vinhos brancos, a estocagem ocorre em garrafas após retirada das borras e filtragem (RIZZON et al., 2008). Conseqüentemente, apenas alterações químicas espontâneas são responsáveis pelas modificações ao longo do tempo. Em geral, os espumantes moscatéis são consumidos novos (6 a 18 meses), mas frequentemente volumes importantes de moscatéis engarrafados podem permanecer na vinícola ou no comércio por períodos relativamente longos.

A análise sensorial do conjunto de espumantes moscatéis com um a seis anos de armazenamento em garrafa, correspondentes às safras de 2010 a 2015, mostrou diferenças significativas em vários descritores. Conforme pode ser observado na Figura 2, a qualidade geral dos moscatéis mostrou-se relativamente elevada ao longo do armazenamento. Porém, a partir do quarto ano observou-se uma tendência de redução progressiva da qualidade geral de tal forma que os vinhos com seis anos atingiram nota significativamente menor que os vinhos jovens. Análise de correlação mostrou que a redução da qualidade geral esteve associada principalmente a aumento da intensidade de cor ($r = -0,986$), e à redução da qualidade de aroma ($r = 0,923$) e da nitidez/franqueza de sabor ($r = 0,938$).

A intensidade de cor apresentou uma tendência de aumento com o tempo de envelhecimento em garrafa (Figura 3A), fato geralmente observado em vinhos brancos e espumantes produzidos com outras uvas (POZO-BAYÓN et al., 2009; DEL CARO et al., 2014). Esse fenômeno tem sido associado a processos oxidativos lentos e constantes de compostos fenólicos presentes no vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; KILMARTIN, 2009; DEL CARO et al., 2014), e geralmente identificado como aumento da absorbância em 420nm e a modificação da cor de verde-palha até amarelo-ouro.

Ao longo do envelhecimento, os espumantes moscatéis mostraram tendência de redução da intensidade e da qualidade de aromas (Figura 3 B e C). Considerando os descritores aromáticos, a qualidade aromática dos moscatéis apresentou-se positivamente correlacionada com a intensidade de aromas de frutas cítricas ($r = 0,841$), mamão papaia ($r = 0,882$) e frutas frescas ($r = 0,964$), e inversamente relacionadas com aromas de cravo da Índia ($r = -0,942$), mel, batata doce e caramelo ($r = -0,836$) e herbáceo ($r = -0,862$). A diminuição dos aromas de frutas e flores tem

sido associada à redução da concentração de ésteres, principalmente acetato de isoamila e acetato feniletila, e aumento da concentração de álcoois superiores e succinato de dietila durante o processo de envelhecimento de vinhos e espumantes (MARIC; FIRST-BACA, 2003; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; TORRENS et al., 2010; BORDIGA et al., 2013; DEL CARO et al., 2014).

Já na avaliação das características gustativas, a nitidez/franqueza e a intensidade de sabor mostraram um leve aumento, não significativo, durante os primeiros três anos, com tendência de decréscimo destes parâmetros em anos subsequentes (Figura 3 D e E). Como a nitidez/franqueza tem forte influência da percepção de aromas, apresentou correlação com a qualidade de aroma ($r= 0,849$) e os descritores associados a esta. Leves aromas e gostos indesejáveis (notas < 2) foram detectados apenas nos vinhos com cinco e seis anos em garrafa e podem ser atribuídos ao aumento de aromas e gostos oxidados e consequente redução do frescor (KILMARTIN, 2009).

A análise multivariada, com base nas características sensoriais (Figura 4), permitiu a separação dos espumantes. Os espumantes se distribuíram ao longo do primeiro componente com os mais novos exibindo valores maiores para este, e havendo um aumento dos valores para o segundo componente nos vinhos do segundo e terceiro ano (Figura 4 A). As variáveis que contribuíram para a separação dos espumantes pelos componentes 1 e 2 encontram-se discriminadas na Figura 4 B. O primeiro componente principal (CP1) que explica 63,03% da variância apresentou correlação positiva com a qualidade geral, qualidade de aromas, frutas cítricas, mamão papaia, frutas frescas, nitidez/franqueza e cremosidade, e correlação negativa com intensidade de cor, cravo-da-índia, mel, batata-doce, caramelo, aroma herbáceo e odor indesejável. Por outro lado, o segundo

componente (CP2) que explica 22,23% da variância mostrou correlação positiva com ervas de quintal, acidez e amargor, e negativa com doçura. Neste sentido, Rizzon et al., (2008) citam que os espumantes moscatéis perdem caráter aromático e fineza com o tempo.

Conclusões

1- Durante o armazenamento em garrafas ocorre uma tendência de diminuição da qualidade geral dos espumantes moscatéis, associada principalmente ao aumento da intensidade de cor, assim como à redução da qualidade de aromas e a nitidez/franqueza. Esse declínio é particularmente elevado após três anos de armazenamento, resultando em produtos distintos, porém sem defeitos evidentes.

2- A ficha de degustação desenvolvida e adotada neste trabalho permitiu a caracterização sensorial dos espumantes moscatéis com um a seis anos de armazenamento. Sendo assim, ela também pode ser utilizada em outros trabalhos para uma melhor compreensão dos aromas de espumantes moscatéis.

Agradecimentos

Aos enólogos participantes do painel de degustação. À Cave Antiga Vitivinícola pelos espumantes e colaboração. À Embrapa Uva e Vinho pelo espaço para realização da degustação. À FAPERGS, à SCIT-RS, ao CNPq e a UCS pelo apoio financeiro.

Referências

ALEXANDRE, H.; GUILLOUX-BENATIER, M. Yeast autolysis in sparkling wine – a review. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 12, p. 119-127, 2006.

BORDIGA, M., RINALDI, M., LOCATELLI, M., PIANA, G., TRAVAGLIA, F. Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots

comparison. **Food Chemistry**, v. 140, p. 57–67, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p.

CADASTRO VINÍCOLA, 2017. **Comercialização de espumantes – empresas do RS**. Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1519908306.pdf>> Acesso em: 01 mar. 2018.

CADASTRO VITÍCOLA, 2015. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/home.html>> Acesso em: 31 mar. 2017.

DEL CARO, A.; PIOMBINO, P.; GENOVESE, A.; MOIO, L.; FANARA, C.; PIGA, A. Effect of Bottle Storage on Colour, Phenolics and Volatile Composition of Malvasia and Moscato White Wines. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 35, p. 128-138, 2014.

KILMARTIN, P.A. The Oxidation of Red and White Wines and its Impact on Wine Aroma. **Chemistry in New Zealand**, p. 18-22, 2009.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices**, Kluwer, Academic/Plenum Publishers: Massachusetts, 1998.

MARIC, J.; FIRST-BACA, M. Sensory evaluation and some acetate esters of bottle aged Chardonnay wines. **Plant Soil Environment**, v. 49, p. 332-336, 2003.

MIELE, A. **Técnicas de análise sensorial de vinhos e espumantes, 2006**. Disponível em: <www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1052177/tecnicas-de-analise-sensorial-de-vinhos-e-espumantes>. Acesso em: 05 abr. 2017.

NOBLE, A.C.; HOWE, P.A. **Sparkling Wine Aroma Wheel**. 1990 (Unpublished). ©Copyright. P.O. Box 1817, Healdsburg, CA 95448.

OIV, 2009. Disponível em: <<http://www.oiv.int/public/medias/4661/oiv-concours-332a-2009-en.pdf>> Acesso em: 05 abr. 2017.

POZO-BAYÓN, M.Á.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; PUEYO, E.; MORENO-ARRIBAS, M.V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: From a traditional to an improved winemaking technology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, nº 6, p. 289–299, 2009.

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

RIZZON, L. A., MENEGUZZO, J., GASPARIN, A. M. **Sistema de produção de vinho**

moscatel espumante. Sistemas de produção, 17, 2008. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante/elaboracao.htm>> Acesso em: 01 mar. 2018.

SCHEIBEHENNE, B.; VON HELVERSEN, B.; RIESKAMP, J. Different strategies for evaluation consumer products: attribute and exemplar-based approaches compared. **Journal of Economic Psychology**, v. 46, p. 39-50, 2015.

STEFENON, C. A.; BONESI, C. M. Novas abordagens sobre vinhos espumantes: uma breve revisão. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, n. 7, p. 82-91, 2015.

TORRENS, J., RIU-AUMATELL, M., VICHI, S., LÓPEZ-TAMAMES, E., & BUXADERAS, S. Assessment of volatile and sensory profiles between base and sparkling wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v 58, nº4, p. 2455–2461, 2010.

ZANUS, M. C. **Espumante Moscatel - o sabor certo para sua sobremesa**, 2014. Disponível em: <www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1052789/1/EspumanteMoscatel.pdf> Acesso em: 01 abr. 2017.

FICHA DESCRITIVA PARA ESPUMANTES MOSCATEIS				
DEGUSTADOR:				
DATA:				
AVALIAR (com nota de 0 a 5) A <u>INTENSIDADE</u> PERCEBIDA:				
0	0.5	1	1.5	2
2.5	3	3,5	4	5
nulo/pouco intenso		bastante intenso		
→				
Característica	Código da amostra			
	1	2	3	4
Visual				
Intensidade de cor amarela				
Intensidade de perlage				
Qualidade da espuma				
Olfativo				
Intensidade de aroma				
Qualidade do aroma				
Frutas cítricas (limão, laranja...)				
Floral (Jasmim, Rosas, Gerânio)				
Ervas-de-quintal				
Cravo-da-índia				
Mel, batata doce, caramelo				
Mamão Papaia				
Frutas frescas (Pêssego, Maçã...)				
Herbáceo (Feno, Menta, palha)				
Volátil/Acético				
Odor indesejável				
Paladar				
Intensidade do sabor				
Nitidez/franqueza				
Cremosidade				
Doçura				
Acidez				
Amargor				
Gosto indesejável				
Persistência				
Qualidade Geral (Escala de 0 a 100)				

Figura 1. Ficha de degustação para vinhos espumantes moscatéis.

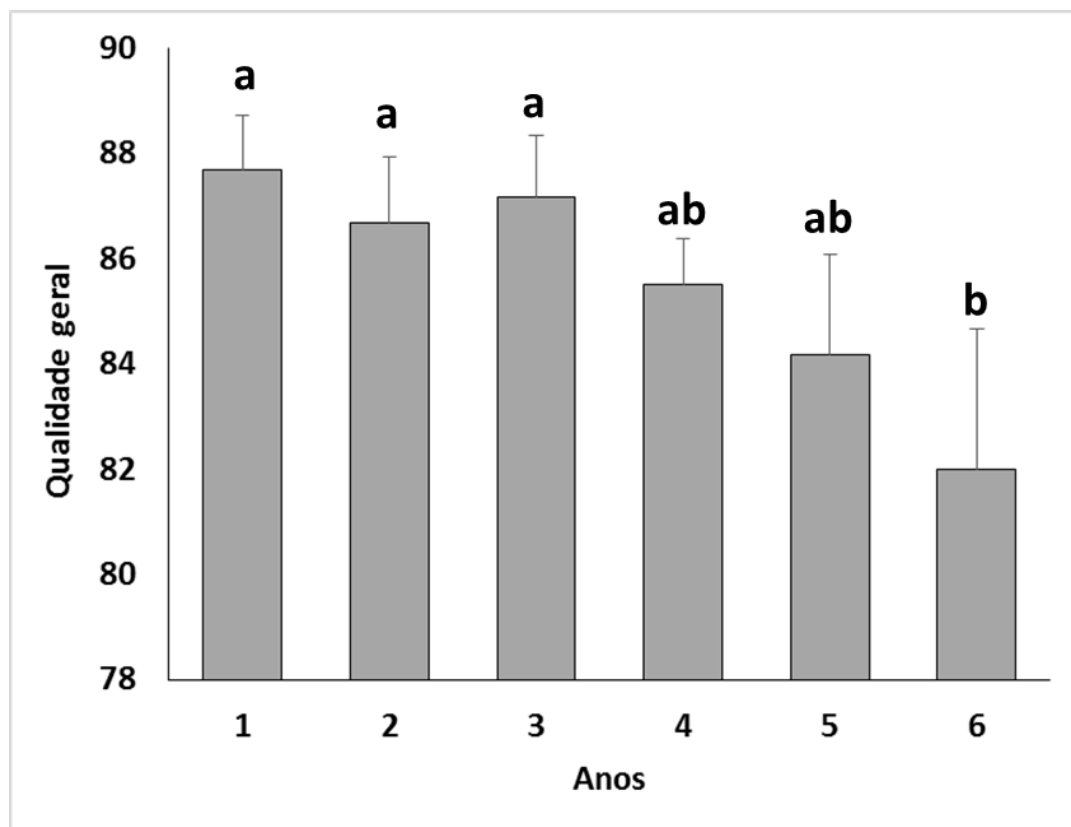


Figura 2. Qualidade geral de espumantes moscatéis durante seis anos de armazenamento em garrafa. Médias com letras iguais não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

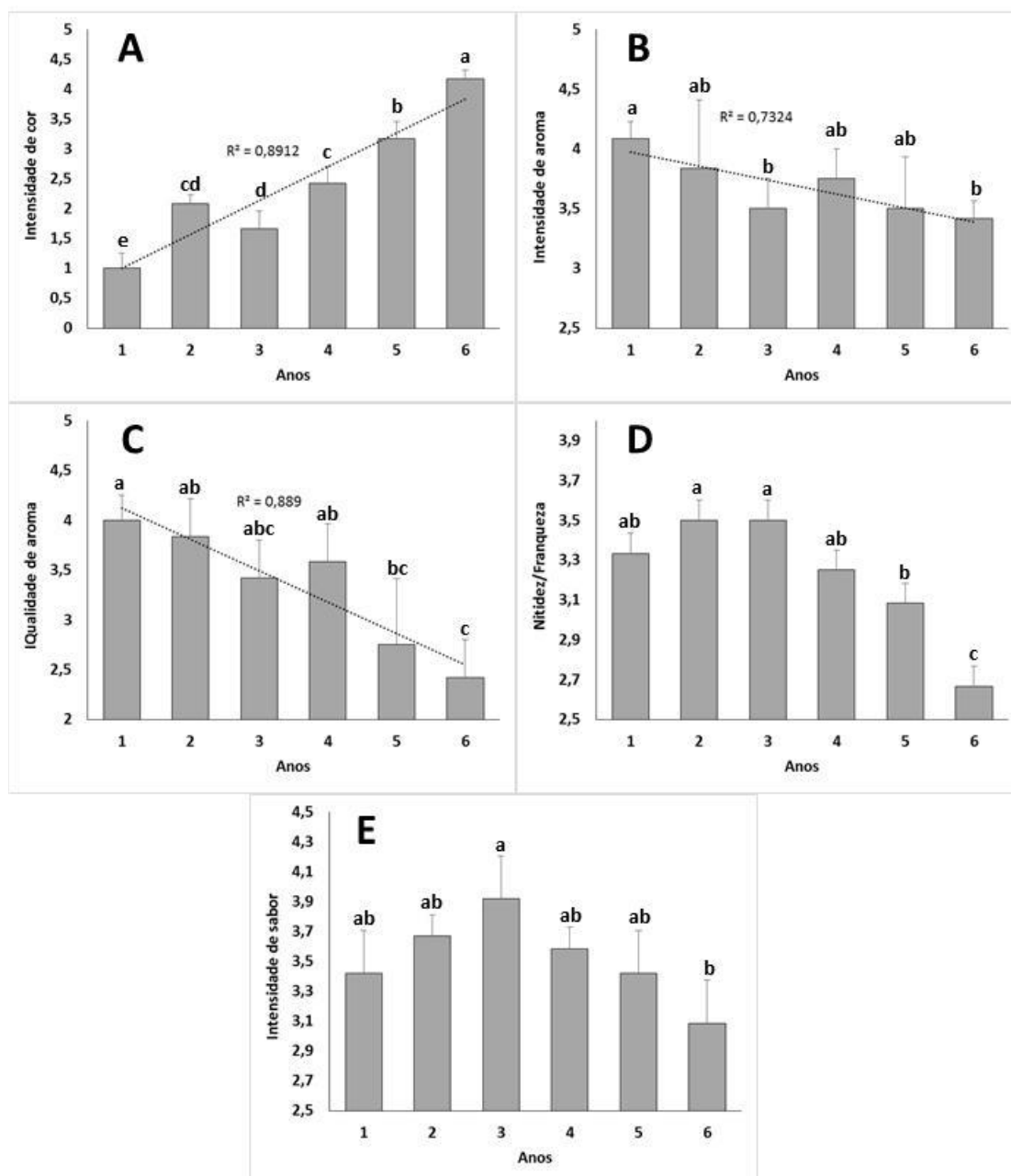


Figura 3. Médias da evolução da intensidade de cor (A), intensidade de aroma (B), qualidade de aroma (C), nitidez/franqueza (D) e intensidade de sabor (E) em espumantes moscatéis estocados em garrafa por uma a seis anos. Médias com letras iguais não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

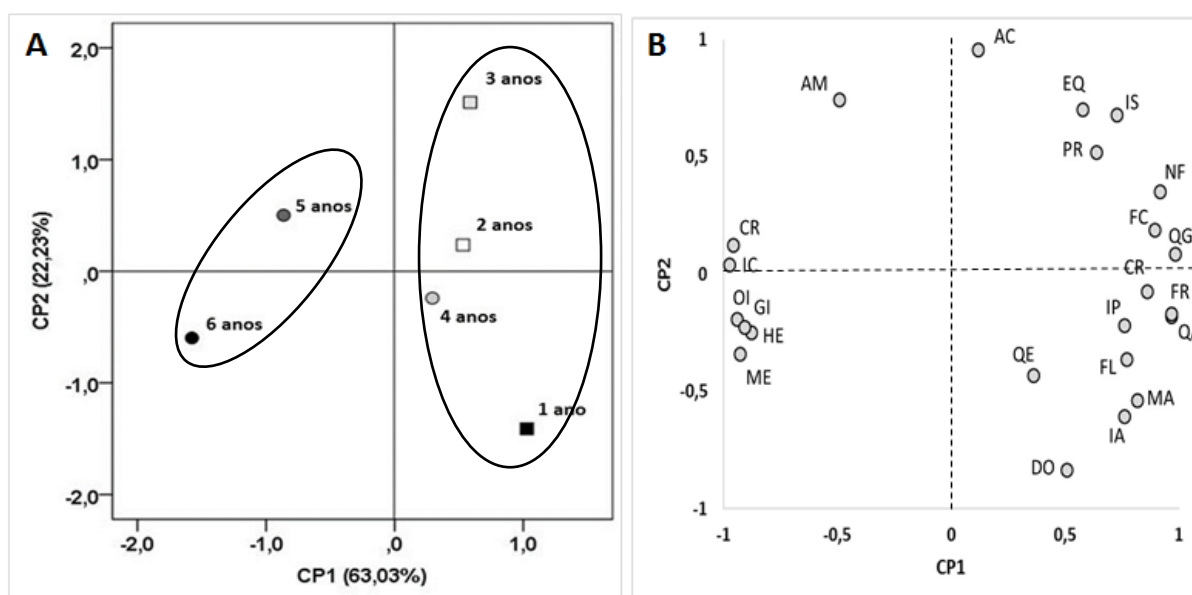


Figura 4. Distribuição dos espumantes moscatéis (A) e das variáveis (B) na análise de componentes principais. Legenda: IC- intensidade de cor; IP- intensidade de perlage; QE- qualidade de espuma; IA- intensidade de aroma; QA- qualidade de aroma; FC- frutas cítricas; FL- floral; EQ- ervas de quintal; CR-cravo da Índia; ME- mel, batata doce, caramelo; MA- mamão; FR- frutas frescas; HE- herbáceo; OI- odores indesejáveis; IS- intensidade de sabor; NF- nitidez/franqueza; CR- cremosidade; DO- doçura; AC- acidez; AM- amargor; GI- gostos indesejáveis; PR- persistência; QG- qualidade geral.

**3.2 ARTIGO 2 - Composição aromática de espumantes moscatéis de Farroupilha
durante o armazenamento**

COMPOSIÇÃO AROMÁTICA DE ESPUMANTES MOSCATÉIS DE FARROUPILHA DURANTE O ARMAZENAMENTO

Ângela Rossi Marcon¹, Luisa Vivian Schwarz¹, Sandra Valduga Dutra¹, Ana Paula Longaray Delamare¹, Sérgio Echeverrigaray¹

Resumo

A região sul do Brasil (Serra Gaúcha), é a principal região de produção de vinho tranquilos e espumante moscatéis. O aroma é um dos fatores mais importantes na determinação do caráter do vinho e de sua qualidade. O consumidor prefere consumir o espumante moscatel jovem e com pouca coloração, com aromas mais frescos. Porém, os aromas formados ao longo do tempo de armazenamento neste tipo de produto é pouco conhecido e pode definir seu consumo para outro tipo de público e com outra proposta. Desta forma, o objetivo deste trabalho é determinar os compostos aromáticos dos espumantes moscatéis de Farroupilha e sua evolução durante o armazenamento. Foram coletados espumantes moscatéis das safras de 2010 (6 anos de armazenamento) a 2016, da mesma vinícola, elaborados pelo mesmo processo com as variedades Moscato Branco, Moscato Giallo e Moscato R2 e realizadas análises físico-químicas, cromatográficas e sensoriais. Os resultados foram submetidos a uma análise multivariada de componentes principais. Os compostos fenólicos totais e a coloração aumentaram proporcionalmente com o tempo de armazenamento devido às reações de polimerização e oxidação que ocorrem com o tempo. Os espumantes com menor tempo de armazenamento (0 e 1 ano) possuem maiores concentrações de acetato de isoamila (banana, pera), acetato de linalila (cítrico, bergamota), ácido octanoico (oleoso, manteiga), ácido decanoico (cítrico) e terpineol (lírio) e os espumantes com maior tempo de armazenamento (2, 3, 4, 5 e 6 anos) maiores concentrações de etanal, metanol, 2-metil-1-butanol (trufado, amêndoas), soma dos álcoois superiores, butanoato de etila (maçã),

hexanol (mel, cera de abelha), hexanal (maçã, cítrico, vegetal), geraniol (rosas) e nerol (rosas). Essas concentrações aumentam conforme o tempo de armazenamento. De um modo geral, os espumantes mais jovens possuem aromas cítricos e frutados e os espumantes mais velhos apresentam notas de maçã, trufas, amêndoas, rosas e mel.

1. Introdução

O vinho espumante moscatel mais típico e tradicional é o Asti, espumante proveniente da província de Asti, na região de Piemonte, norte da Itália, protegido por Denominação de Origem. No Brasil, a elaboração de espumante moscatel iniciou na Serra Gaúcha em 1978, pela empresa Martini e Rossi que possuía sede na Itália e se motivou com o conhecimento e apoio técnico de profissionais da cidade natal (Lona, 2013). O método de elaboração utilizado para sua elaboração ficou conhecido como método “Asti”, porém o nome que se dá para este produto elaborado através de uma única fermentação em autoclaves denomina-se “Martinotti” (Itália, 2011).

A comercialização de espumantes moscatéis cresceu bastante na última década, conseqüentemente sua produção também. Dados estatísticos mostram que a produção brasileira de espumantes moscatéis aumentou 346%, se comparada a 2010, atingindo 4,5 milhões de litros em 2016 (Cadastro vinícola, 2017). O sucesso destes espumantes no Brasil está associado ao clima tropical do país, que propiciam o consumo de bebidas doces, frescas e frias (Zanus, 2014) e às características dos consumidores brasileiros, principalmente os jovens que estão iniciando no mundo do vinho.

Este aumento no consumo também se refere ao aroma destes espumantes provenientes principalmente das uvas Moscatos com os quais são elaborados. Essas variedades possuem aromas típicos, os quais são atribuídos à presença de diferentes derivados terpênicos,

principalmente os álcoois monoterpênicos como linalol, nerol, geraniol, α -terpineol, hotrienol, citronelol e óxido de rosas, que são os mais aromáticos (Palomo *et al.* 2009). A concentração destes monoterpenos podem aumentar durante sua conservação como consequência da hidrólise ácida dos glicosídeos terpênicos (Voirin *et al.* 1990). Outros compostos como ésteres e álcoois, oriundos do metabolismo dos microrganismos durante o processo de fermentação e condições de armazenamento, também são responsáveis pela composição aromática destes vinhos (Pardo *et al.* 2015). Nestas etapas também ocorrem transformações químicas e bioquímicas, resultando na perda do aroma varietal floral e frutado, que é uma característica importante do vinho espumante Moscatel (Bordiga *et al.* 2013). A oxidação de terpenos e a hidrólise de acetatos e ésteres de ácidos graxos durante o envelhecimento podem contribuir para a perda de caráter floral e frutado de vinhos brancos jovens (Moreno-Arribas & Polo, 2009).

As características aromáticas dos vinhos tranquilos e espumantes também dependem da interação de vários fatores como a localização geográfica do vinhedo (solo e clima), variedade da uva, práticas vitícolas, leveduras utilizadas e técnicas de elaboração (Welke *et al.* 2012). As influências relacionadas às condições meteorológicas ao longo do ciclo de produção estão muito ligadas à qualidade da uva, como a composição química da casca, da polpa e da semente, além de influenciar nas características de cor, aroma e sabor que definem a qualidade dos vinhos produzidos (Alves & Tonietto, 2016).

O índice heliopluiométrico (QM) o qual refere-se ao total de insolação em horas acumuladas dividido pela precipitação total, é uma forma de caracterizar condições mais ou menos favoráveis para a qualidade potencial da uva durante o período de maturação, de forma que quanto maior for o QM, maior será a qualidade potencial da uva para vinificação (Westphalen, 1977). A safra de 2010 teve um índice heliopluiométrico em torno de 1,2, sendo uma das piores safras dos últimos anos. Nas demais safras este índice foi de 1,6, safra

de 2011, 1,9, safra de 2012, 1,6, safra de 2013, 1,8 (2014), 1,6 (2015) e 1,4 (2016) (Alves & Tonietto, 2016).

Com o objetivo de caracterizar os espumantes moscatéis de Farroupilha e sua evolução durante o armazenamento, foram avaliadas as composições química e sensorial dos espumantes durante 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 anos de armazenamento.

2 Materiais e métodos

2.1 Amostras

Os espumantes moscatéis das safras de 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 e 2016 foram elaborados na Cave Antiga Vitivinícola, com as variedades Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco oriundas da região de Farroupilha, coletadas nos mesmos produtores. As uvas foram desengaçadas e prensadas suavemente, o mosto foi corrigido com dióxido de enxofre (50 mg.L^{-1}), clarificado com gelatina (20 g.hL^{-1}) e sol de sílica ($10 \text{ a } 20 \text{ mL.hL}^{-1}$), estabilizado proteicamente com bentonite (80 g.hL^{-1}) e filtrado em filtro à placas. A tomada de espuma foi realizada adicionando-se 20 g.hL^{-1} de levedura comercial X5 (*Saccharomyces cerevisiae*) e ativante de fermentação (30 g.hL^{-1}) em tanque de inox pressurizado (autoclave). Ao atingir cerca de 7,5% v/v de álcool, 20 g.L^{-1} de açúcares e 5 atmosferas de pressão, a fermentação foi interrompida por resfriamento e estabilização a -4°C . Adicionou-se teor de sacarose para atingir a quantidade de açúcar desejada, a qual a vinícola mantém um padrão de qualidade cujo teor de açúcares totais deve estar em torno de 70 g.L^{-1} . Após foi submetido à nova filtração e engarrafamento em condições isobarométricas.

Todas as amostras foram analisadas no ano de 2016 e estavam armazenadas em um mesmo local com temperatura controlada durante todo este tempo.

2.2 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas dos vinhos foram realizadas em triplicata. Determinou-se o teor de álcool (% v/v), dióxido de enxofre total ($\text{SO}_2 \text{T}$) (g.L^{-1}), dióxido de enxofre livre ($\text{SO}_2 \text{L}$) (g.L^{-1}), açúcar total (g.L^{-1}), acidez volátil (AV) (meq.L^{-1}), acidez total (AT) (meq.L^{-1}), pH, extrato seco (ES) (g.L^{-1}) conforme IN nº 24 de 08/09/2005 (Brasil, 2005).

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados pela medida da absorção em luz ultravioleta a 750 nm, expressos em mg.L^{-1} de ácido gálico, conforme método OIV (2009) e o índice de cor foi medido a 420 nm (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006).

Para o mosto foram realizadas análises de pH, °Brix e acidez total (meq.L^{-1}), também em triplicata (Brasil, 2005).

2.3 Análise de compostos voláteis

As análises de compostos voláteis (ésteres, álcoois superiores e terpenos) foram realizadas em um cromatógrafo a gás HP 6890 Agilent Technologies, com uma coluna capilar CP Innowax ($30 \text{ m} \times 250 \mu\text{m} \times 0,25 \mu\text{m}$), detector de ionização de chama para quantificação dos compostos e cromatografia gasosa com espectrometria de massa para identificação de outros compostos voláteis. Os compostos foram identificados por comparação de seus tempos de retenção com padrões autênticos preparados com reagentes de PA de Sigma-Aldrich. Sete concentrações foram testadas em triplicata e as linhas de regressão foram calculadas para cada composto.

2.3.1 Determinação de álcoois superiores, etanal, acetato de etila e metanol

Adicionou-se 70 µL de 4-metil-2-pentanol (padrão interno, 5 g.L⁻¹) a 5 mL de amostra destilada. A injeção (1,0 µL) foi realizada em modo dividido 1:30 a 220 °C. O gás transportador foi o hidrogênio a 2,0 mL.min⁻¹, com nitrogênio como gás auxiliar a 37 mL.min⁻¹. A temperatura do forno foi de 40 °C por 5 min, 40-90 °C a 3 °C.min⁻¹, 90-200 °C a 10 °C.min⁻¹, 200 °C por 5 min. A combustão foi mantida com ar sintético a 350 ml/min e hidrogênio a 35 ml/min. A temperatura do detector foi de 230°C (Webber *et al.* 2014).

2.3.2 Determinação de ésteres, acetatos, álcoois e ácidos voláteis

Foi adicionado em 50 mL de vinho, 500 µL de 3-octanol, a 250mg.L⁻¹ e 70 µL de ácido fosfórico (1: 3). As amostras foram submetidas a três extrações líquido / líquido (4: 2: 2) com uma mistura de éter dietílico / n-hexano (1: 1). A injeção (1,0 µL) foi realizada em modo dividido às 1:30 a 240 °C. O gás transportador foi o hidrogênio a 2,0 mL.min⁻¹ e o nitrogênio como gás auxiliar a 37 mL.min⁻¹. A temperatura do forno foi de 40 °C por 5 min; 40-230 °C a 3 °C.min⁻¹, 230 °C por 20 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético a 350 mL.min⁻¹ e hidrogênio a 35 mL.min⁻¹. A temperatura do detector foi de 230 °C (Webber *et al.* 2014).

2.3.3 Determinação de terpenos (limoneno, linalol, α-terpineol, citronelol, nerol, geraniol, acetato de linalila, óxido de rosa e nerolidol)

Foram analisados utilizando micro extração em fase sólida (SPME) com fibra de poliacrilato, de acordo com a metodologia adaptada proposta por Welke *et al.* (2012) e Peña

et al. (2005). Em 20 mL de vinho adicionou-se 5 g de NaCl (Cloreto de Sódio) e 80 µL de padrão interno (3-octanol) a 250 mg.L⁻¹. A amostra foi continuamente agitada magneticamente a 40°C por 5 minutos e, após esse tempo, a fibra DVB/CAR/PDMS 50/30 foi inserida no espaço acima do líquido (espaço de cabeça) mantendo a agitação a 40°C por 30 min. Após a extração, a fibra foi injetada no injetor de GC e a análise cromatográfica foi realizada. A temperatura do injetor foi mantida a 250°C. A injeção foi realizada em modo dividido às 1:20, mantendo a fibra no orifício de injeção durante 5 min. O gás transportador era o hélio a 2,0 mL.min⁻¹. As condições do forno foram de 50 °C durante 1 min; 50° a 60° a 10°C.min⁻¹, durante 1 min; 60° a 200° a 25 °C.min⁻¹, durante 8 min, com fluxo de gás constante de 1 mL.min⁻¹. Estes mesmos parâmetros foram utilizados no cromatógrafo gasoso com espectrometria de massas para identificação de outros compostos.

2.4 Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste ANOVA, o teste de Tukey de comparação múltipla de meios e a análise de componentes principais (ACP), usando o software SPSS 22.0.

3 Resultados e discussão

3.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas dos espumantes moscatéis armazenados durante 6 anos estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Análises físico-químicas dos espumantes moscatéis durante 6 anos de armazenamento.							
	Ano - Armazenamento						
	6	5	4	3	2	1	0
AT (meq.L ⁻¹)	90,0 ± 0,0 ^{ab}	100 ± 0,0 ^{ab}	88,0 ± 0,0 ^b	87,0 ± 1,40 ^b	91,0 ± 15,6 ^{ab}	86,0 ± 0,0 ^b	113 ± 1,40 ^a
AV (meq.L ⁻¹)	13,0 ± 1,40 ^a	9,50 ± 0,7 ^{abc}	7,50 ± 0,70 ^c	8,50 ± 0,70 ^c	9,0 ± 0,0 ^{bc}	12,5 ± 0,70 ^{ab}	11,0 ± 1,40 ^{abc}
Açúcares Totais (g.L ⁻¹)	70,7 ± 2,30 ^{ab}	61,3 ± 0,70 ^c	73,7 ± 0,60 ^a	64,3 ± 0,10 ^c	63,0 ± 3,20 ^c	76,8 ± 0,60 ^a	65,7 ± 0,30 ^{bc}
ES (g.L ⁻¹)	109 ± 4,90 ^a	97,8 ± 0,4 ^{bc}	94,4 ± 0,8 ^{cd}	87,9 ± 0,80 ^d	89,0 ± 0,60 ^d	104 ± 2,80 ^{ab}	101 ± 0,60 ^{abc}
Alcool (% v/v)	7,10 ± 0,10 ^a	7,2 ± 0,3 ^a	7,9 ± 0,2 ^a	7,60 ± 0,20 ^a	7,70 ± 0,20 ^a	7,40 ± 0,40 ^a	7,30 ± 0,10 ^a
pH	3,4 ± 0,02 ^a	3,0 ± 0,01 ^b	3,1 ± 0,01 ^{ab}	3,1 ± 0,01 ^{ab}	3,3 ± 0,02 ^a	3,2 ± 0,01 ^{ab}	3,1 ± 0,01 ^{ab}
SO ₂ L (mg.L ⁻¹)	26,9 ± 1,8 ^{cd}	20,5 ± 1,80 ^d	25 ± 0,90 ^d	34,6 ± 1,80 ^c	28,8 ± 0,9 ^{cd}	67,3 ± 4,40 ^a	52,8 ± 2,30 ^b
SO ₂ T (mg.L ⁻¹)	211 ± 0,90 ^a	113 ± 3,60 ^c	113 ± 5,40 ^c	123 ± 2,70 ^c	159 ± 2,70 ^b	225 ± 7,20 ^a	155 ± 16,4 ^b
CFT	388 ± 4,12 ^a	249 ± 1,83 ^b	207 ± 1,14 ^c	171 ± 0,46 ^e	198 ± 2,06 ^d	190 ± 0,00 ^d	182 ± 0,69 ^e
Intens. cor	0,203 ± 0,0 ^a	0,088 ± 0,0 ^b	0,069 ± 0,0 ^b	0,056 ± 0,0 ^b	0,062 ± 0,0 ^b	0,028 ± 0,0 ^c	0,019 ± 0,0 ^c

*Análise estatística ANOVA (n=3) 95% nível confiança, letras iguais na linha não possuem diferenças significativas.

Nos espumantes analisados, o teor de acidez total variou de 86 meq.L⁻¹ (1 ano de armazenamento) a 113 meq.L⁻¹ (tempo 0), estando dentro da legislação (55 a 130 meq.L⁻¹) e semelhantes aos encontrados em moscatéis brasileiros que obtiveram uma média de 89,9 meq.L⁻¹. Esta acidez garante ao produto o frescor necessário para uma boa qualidade organoléptica (Rizzon *et al.* 2008). A acidez total é um parâmetro que varia de acordo com a safra, conforme a maturação da uva.

Os valores de teor alcoólico variaram entre 7,1% v/v (6 anos de armazenamento) e 7,9% v/v (4 anos de armazenamento), não havendo uma diferença significativa entre os anos de armazenamento.

As concentrações dos açúcares totais diferiram estatisticamente e variaram entre 61,3 g.L⁻¹ (5 anos de armazenamento) e 76,8 g.L⁻¹ (1 ano de armazenamento). Esta diferença está relacionada com a safra e a relação açúcar/acidez total. Safras cujo os teores de açúcares são mais altos e acidez mais baixa, os níveis de correção de açúcares podem ser menores. Segundo o índice helioplumiométrico de maturação, na safra de 2015 (1 ano de armazenamento) este índice foi >2,0, considerado ideal para a maturação da uva (Alves & Tonietto, 2016). As concentrações de açúcares remanescente na safra de 2015, foi maior que nas safras anteriores, portanto uma maior concentração do açúcar total. O limite mínimo estabelecido pela

legislação brasileira é 60 g.L^{-1} , destes, 20 g.L^{-1} devem ser remanescentes da uva na fermentação (Brasil, 2014).

O pH médio das safras de 3,15 permite uma evolução adequada durante o tempo de armazenamento.

As concentrações de dióxido de enxofre total presentes nos espumantes com 1 e 6 anos de armazenamento diferiram significativamente dos demais tempos. A safra de 2010, possuiu índices helioplumiométricos abaixo do ideal em todas as épocas de colheita, justificando a maior concentração de dióxido de enxofre total, devido provavelmente a menor qualidade sanitária das uvas. Na safra de 2015, os índices helioplumiométricos foram bons, porém a concentração de dióxido de enxofre total foi alta. Este teor pode estar relacionado com o estado sanitário da uva.

Os compostos fenólicos são provenientes principalmente das cascas da uva, especialmente nas células epidérmicas e nas sementes, e extraídos durante a vinificação. A quantidade e a qualidade de polifenóis na uva dependem principalmente da variedade, do clima, do solo e das práticas de cultivo e sua estrutura varia com o amadurecimento e armazenamento do vinho. As uvas tintas possuem maior quantidade de compostos fenólicos devido às antocianinas, molécula responsável pela pigmentação, ausente nas uvas brancas (Frankel *et al.* 1995). Fernández -Zurbano *et al.* (1998) observaram que durante a condição de oxidação acelerada, o conteúdo de compostos fenólicos aumentou significativamente, sendo que estes vinhos apresentam maior escurecimento. Barón *et al.* (1997) atribuíram o aumento na concentração dos compostos fenólicos às reações de oxidação e polimerização. Esses autores também observaram um aumento na absorbância A420, diretamente relacionada com o escurecimento dos vinhos. Relacionando a absorbância encontrada com a análise sensorial visual, os espumantes de 6 anos possuem maior intensidade de cor amarela, porém não apresenta tons marrons, apenas maior intensidade de cor amarela que os demais, como era de

se esperar. Durante o armazenamento ocorre uma mudança de cor do amarelo pálido para amarelo-marrom (Cejudo-Bastante *et al.* 2011). O escurecimento oxidativo dos vinhos brancos parece estar mais relacionado com os flavonoides a que é submetido durante o armazenamento do que as reações de oxidação e polimerização. Muitos estudos relatam perdas significativas no conteúdo fenólico durante o armazenamento em garrafa, em particular de flavan3-ol e flavonóis (Del Caro *et al.* 2014; Cejudo-Bastante *et al.* 2011).

Através dos resultados obtidos (Figura 1), os espumantes com 6 anos de armazenamento apresentaram maior grau de escurecimento e, conseqüentemente maior concentração de polifenóis totais (mg.L⁻¹ ácido gálico).

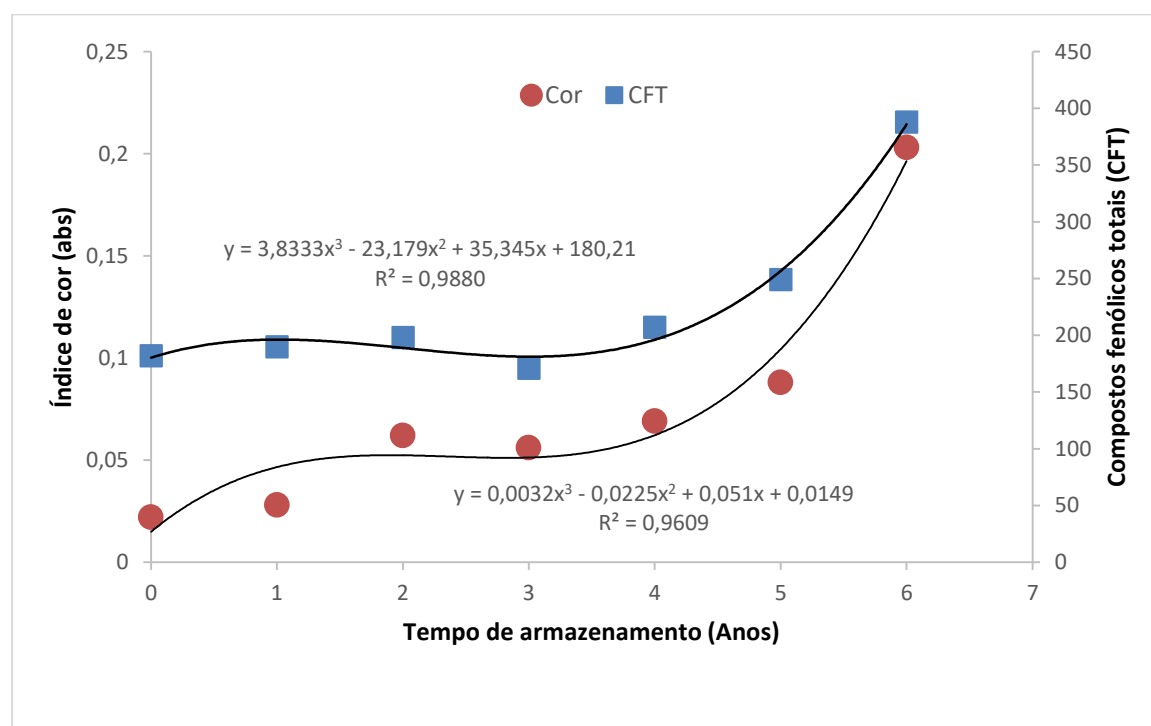


Figura 1: Compostos fenólicos totais (mg.L⁻¹ ác. gálico) e índice de cor (abs) ao longo do tempo de armazenamento.

De acordo com o estudo de Ferreira *et al.* (1997), apenas o espumante com 6 anos de armazenamento estaria com um nível de escurecimento moderado (absorbância 420 entre 0,2 e 0,5). Os demais espumantes analisados estariam com um nível leve de escurecimento

(absorbância de 420 menor que 0,2), mas com valores bem abaixo de 0,2. Um nível de escurecimento intenso seria considerado vinhos com absorbância de 420 maior que 0,5. Essa classificação também foi utilizada por Fernández-Zurbano *et al.* (1998) para análise do escurecimento em vinhos brancos espanhóis. O ácido gálico é originado a partir da hidrólise de ésteres após alguns meses e é estável durante o envelhecimento (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006). Os ácidos hidroxicinâmicos, especialmente ácido cafeico e caftárico, como observado em diversos estudos, são os compostos fenólicos majoritários em mostos e vinhos brancos. Esses compostos são os melhores substratos para enzima polifenoloxidase iniciando as reações de oxidação e levando ao escurecimento (Lima, 2012).

De Oliveira *et al.* (2011), analisaram 4 vinhos moscatos do Vale do São Francisco e encontraram teores de acidez total de 77,6 meq.L⁻¹ a 99,5 meq.L⁻¹ e compostos fenólicos totais de 278 a 584 mg. L⁻¹ de ácido gálico. Paixão *et al.* (2007) em vinhos da variedade Malvasia encontraram teores de 434 mg. L⁻¹ de ácido gálico. Lima (2012) analisou vinhos da variedade Goethe, de Santa Catarina, uva também bastante aromática e encontrou concentrações de compostos fenólicos de 277 a 420 mg. L⁻¹ de ácido gálico.

3.2 Compostos voláteis

Na Tabela 2 estão demonstrados os principais compostos aromáticos, seu limiar de percepção, concentração nos vinhos e descritor aromático encontrados na literatura.

Tabela 2: Limiar de percepção, concentração e descritor aromático encontrados na literatura.

Nome do composto	Limiar Percepção*	Concentração nos vinhos	Descritor aromático
ALDEÍDOS			
Etanal	500 (1)	10 - 300 (1)	Maçã verde (1)
Hexanal	0,02 (2)	0,02 - 4 (8)	Maçã, cítrico, vegetal (9)
ÁLCOOIS			
1-propanol	306 (1)	9,0 - 68 (1)	Entorpecente, pungente (1)
2-Metil, 1-propanol	40 (1)	9,0 - 28 (1)	Alcoólico (1)
2-Metil, 1-butanol	65 (1)	15 - 150 (1)	Trufado, amêndoas (1)
3-Metil, 1-butanol	30 (1)	45 - 490 (1)	Trufado, amêndoas (1)
Metanol	nd (1)	60 - 150 (1)	nd (1)
Hexanol	8 (1)	0,3 - 12 (1)	Mel, cera de abelha (1)
2-feniletanol	10 (1)	10 - 180 (1)	Floral, rosas (1)
ACETATOS			
Acetato de etila	160 (5)	50-120 (5)	Vegetal, frutado (5)
Acetato de isoamila	0.03 (1)	0,003-8,1 (1)	Banana, pera (1)
Acetato de hexila	0.67 (1)	Traços-4,3 (1)	Frutado (1)
Acetato de feniletila	0.25 (1)	0,001-4,5 (1)	Rosas, mel, frutado, floral (1)
ESTERES ETÍLICOS			
Hexanoato de etila	0.014 (4)	Traços-3,4 (4)	Maçã, banana, violeta (4)
Octanoato de etila	0.005 (4)	0,05-3,8 (4)	Abacaxi, pêra (4)
Decanoato de etila	0.2 (4)	Traços-2,1 (4)	Floral (3)
Succinato de dietila	200 (6)	Traços-10	Frutado, reduzido (8)
ÁCIDOS VOLÁTEIS			
Ácido octanóico	0.50 (4)	Traços-41 (4)	Oleoso, manteiga, doce (3)
Ácido decanóico	10 (4)	Traços-54 (4)	Gorduroso, cítrico (3)
Ácido dodecanóico	0,1	Traços	Gorduroso, coco (9)
TERPENOS			
(+) Limoneno	0.02 (2)	0,006-0,06 (2)	Limão, laranja, citrus (9)
(-) Óxido de rosa	0,20 (7)	3-21 (1)	Rosas, lichia (7)
Linalol	0.05 (5)	0,006-0,473 (5)	Rosa (5)
Acetato de linalil	-	0,11 - 0,44 (13)	Cítrico, bergamota (10)
α -terpineol	0.40 (5)	0,003-0,09 (5)	Lírio (5)
B-citronellol	0.02 (5)	0,002 - 0,012 (5)	Citronella (5)
Nerol	0.40 (5)	0,004 - 0,135 (5)	Rosa (5)
Geraniol	0.13 (5)	0,005 - 0,5 (5)	Rosa (5)
*ne (não encontrado), (1) Guth (1997), (2) Slegers et al. (2017), (3) Ferreira <i>et al.</i> (2000), (4) Ribéreau-Gayon et al. (2006), (5) Vararu et al. 2015 , (6) Berger et al. (2007), (7) Francis (2013), (8) Peinado et al. (2004), (9) Andreu-Sevilla et al. (2013), (10) Guedes de Pinho et al. (2007).			

Os resultados dos compostos voláteis dos espumantes moscatéis durante o armazenamento estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Concentração de compostos voláteis (mg.L⁻¹) nos espumantes moscatéis ao longo do tempo de armazenamento.

Tempo Armazenamento (anos)	6	5	4	3	2	1	0
ALDEÍDOS							
Etanal	61,5±3,96 ^a	46,3±0,49 ^{ab}	28,3±10,11 ^b	41,6±7,85 ^{ab}	40,8±7,87 ^{ab}	39,5±0,21 ^{ab}	27,5±2,12 ^b
Hexanal	2,67±0,25 ^a	1,96±0,25 ^a	2,44±0,14 ^a	2,37±0,16 ^a	2,32±0,50 ^a	2,29±0,27 ^a	1,62±0,08 ^a
ÁLCOOIS							
1- propanol	44,6±2,05 ^{abc}	58,8±10,9 ^a	51,5±4,10 ^{ab}	49,3±0,42 ^{ab}	53,1±0,57 ^{ab}	27,9±0,00 ^c	37,5±1,34 ^{bc}
2-metil; 1-propanol	29,6±0,85 ^a	20,5±2,90 ^b	11,9±0,64 ^{cd}	11,85±0,21 ^{cd}	12,0±0,23 ^{cd}	17,0±1,56 ^{bc}	10,3±0,85 ^d
2-metil; 1-butanol	13,7±0,49 ^c	16,9±0,42 ^a	15,2±0,49 ^{bc}	15,2±0,35 ^{bc}	15,3±0,21 ^b	13,9±0,35 ^{bc}	9,50±0,42 ^d
3-metil; 1-butanol	59,2±2,19 ^b	62,4±0,42 ^{ab}	62,5±5,37 ^{ab}	59,9±3,39 ^{ab}	48,1±1,48 ^c	69,8±0,28 ^a	56,3±0,35 ^{bc}
Soma Álcoois Isoamílicos	147±4,60 ^c	159±14,6 ^a	141±10,8 ^{ab}	136±4,38 ^{ab}	128±2,55 ^{bc}	129±0,99 ^{bc}	114±0,28 ^{bc}
Hexanol	4,37±0,20 ^a	3,73±0,18 ^a	3,92±0,29 ^a	3,92±0,36 ^a	3,70±0,47 ^a	3,24±0,18 ^a	3,45±0,20 ^a
2-Feniletanol	9,64±0,25 ^{bc}	13,8±1,98 ^{bc}	10,2±0,76 ^{bc}	13,9±2,19 ^b	7,84±0,79 ^c	26,73±2,43 ^a	8,68±0,07 ^{bc}
Metanol	82,6±4,38 ^b	71,0±13,3 ^b	75,6±6,51 ^b	84,3±1,63 ^b	134±3,32 ^a	38,15±1,48 ^c	36,4±1,13 ^c
ESTERES ETÍLICOS							
Butanoato de Etila	0,37±0,09 ^a	0,23±0,01 ^a	0,24±0,03 ^a	0,25±0,03 ^a	0,27±0,07 ^a	0,23±0,02 ^a	0,23±0,02 ^a
Hexanoato de Etila	2,47±0,15 ^{ab}	1,70±0,11 ^c	2,16±0,33 ^{abc}	2,24±0,01 ^{abc}	2,32±0,24 ^{abc}	2,08±0,09 ^{bc}	2,80±0,16 ^a
Octanoato de Etila	4,54±0,68 ^a	4,27±0,06 ^a	4,80±0,01 ^a	5,01±0,13 ^a	5,06±0,14 ^a	4,53±0,08 ^a	4,47±0,09 ^a
Succinato de Dietila	5,22±0,40 ^{abc}	6,74±0,93 ^{abc}	7,70±0,47 ^a	6,83±0,87 ^{ab}	4,75±0,56 ^{bc}	4,24±0,49 ^c	6,77±0,54 ^{ab}
ACETATOS							
Acetato de Etila	38,2±2,83 ^a	18,1±1,27 ^c	22,2±3,04 ^{bc}	27,7±2,12 ^b	28,2±0,42 ^b	25,9±0,14 ^b	26,0±0,14 ^b
Acetato de Isoamila	1,55±0,07 ^{bc}	1,03±0,01 ^c	1,14±0,06 ^c	1,90±0,22 ^b	1,42±0,33 ^{bc}	2,66±0,27 ^a	2,07±0,03 ^{ab}
Acetato de Hexila	0,29±0,01 ^a	0,29±0,01 ^a	0,29±0,02 ^a	0,29±0,03 ^a	0,28±0,02 ^a	0,28±0,01 ^a	0,30±0,04 ^a
ÁCIDOS							
Ácido Octanoico	6,70±0,54 ^c	7,13±0,49 ^{de}	9,46±0,17 ^{ab}	9,00±0,56 ^{abc}	8,36±0,20 ^{bcd}	7,90±0,26 ^{cde}	9,92±0,06 ^a
Ácido Decanoico	6,26±0,22 ^a	6,83±0,12 ^a	6,95±0,52 ^a	7,24±0,08 ^a	6,84±0,45 ^a	6,80±0,08 ^a	7,91±1,16 ^a
Ácido Dodecanoico	0,22±0,04 ^{bc}	0,30±0,01 ^b	0,30±0,01 ^b	0,41±0,03 ^a	0,29±0,01 ^b	0,15±0,01 ^c	0,19±0,01 ^c
TERPENOS							
(+)-Limoneno	0,64±0,12 ^a	0,57±0,08 ^a	0,51±0,02 ^a	0,61±0,04 ^a	0,70±0,15 ^a	0,56±0,04 ^a	0,58±0,00 ^a
(-) rose oxide	0,16±0,02 ^a	0,12±0,04 ^a	0,09±0,00 ^a	0,13±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,13±0,02 ^a	0,11±0,03 ^a
Linalol	0,30±0,11 ^a	0,23±0,06 ^a	0,18±0,01 ^a	0,24±0,04 ^a	0,18±0,02 ^a	0,30±0,03 ^a	0,19±0,02 ^a
Acetato de Linalila	0,00±0,00 ^c	0,02±0,02 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,22±0,00 ^a	0,15±0,01 ^b
α-terpineol	0,13±0,00 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,15±0,06 ^b	0,40±0,01 ^a	0,49±0,02 ^a
Nerol	0,02±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,03±0,00 ^a
Citronelol	0,03±0,02 ^{ab}	0,03±0,01 ^{ab}	0,05±0,02 ^{ab}	0,00±0,00 ^b	0,04±0,01 ^{ab}	0,10±0,05 ^a	0,00±0,00 ^b
Geraniol	1,15±0,37 ^a	0,69±0,02 ^{ab}	0,79±0,02 ^{ab}	0,99±0,18 ^{ab}	0,44±0,21 ^b	0,31±0,00 ^b	0,34±0,01 ^b

* Análise estatística ANOVA (n=3) 95% nível confiança, letras iguais na linha não possuem diferenças significativas.

O etanal, aldeído encontrado em maior quantidade no vinho, é produzido como produto intermediário do metabolismo das leveduras durante a fermentação alcoólica e como resultado da oxidação do etanol e está intimamente ligado a fenômenos de óxido-redução com grande participação na evolução da cor dos vinhos durante o processo de armazenamento (Ribéreau-Gayon, *et al.* 2006). Os teores médios encontrados nos vinhos são inferiores a 75 mg.L⁻¹ e possuem limiares sensoriais entre 100 e 125 mg.L⁻¹. As concentrações de etanal em todos os tempos de armazenamento analisados estão abaixo desta média, o que demonstra que

os espumantes não possuem sinais de oxidação nem com 6 anos de armazenamento. Concentrações acima de 100 mg.L^{-1} possuem aromas de frutos excessivamente maduros e de cereja (Zoecklein *et al.* 1999, Ebeler & Spaulding, 1998).

Os ésteres etílicos de ácidos graxos sofrem hidrólise durante o envelhecimento, entretanto a utilização do dióxido de enxofre como antioxidante, podem limitar esta hidrólise e preservar o aroma frutado nos vinhos envelhecidos (Rodrigues, 2013). Os ésteres etílicos têm uma tendência a se manter ou aumentar, devido às reações de esterificação que ocorrem após a fermentação (Pérez-Coelho *et al.* 2003). As concentrações de succinato de dietila aumentaram com o armazenamento e a concentração dos acetatos, principalmente o acetato de isoamila, tenderam à uma diminuição. Estudos de Recamales *et al.* 2011, estudaram a composição volátil de vinho branco da variedade Zalema com 2, 4, 6, 8, 10 e 12 meses de armazenamento e após 12 meses de armazenamento em garrafa, as concentrações de acetato de isoamila também decresceram e os ésteres etílicos como butirato de etila, lactato de etila e succinato de dietila aumentaram. Estudos de González-Viñas *et al.* (1998) com vinhos brancos da variedade Airén com 6, 18, 30 e 42 meses sem controle de temperatura e armazenamento também evidenciaram aumento nas concentrações de succinato de dietila e diminuição da concentração de acetato de isoamila e acetato de feniletila. Em geral, a concentração da maioria dos compostos voláteis do vinho diminui após um ano de armazenamento de garrafas (Cejudo-Bastante *et al.* 2011) e os principais parâmetros que influenciam nesta concentração são a temperatura (Bueno *et al.* 2010) e materiais de embalagem de vinho (Ghidossi *et al.* 2012). Nos vinhos brancos jovens, a perda de características frescas e frutadas e o escurecimento ocorrem num período de tempo variável que oscila de 1 mês a vários anos, dependendo do tipo de vinho e das condições de armazenamento. Em vinhos pouco aromáticos, normalmente a qualidade diminui (Recamales *et al.* 2011).

Torrens *et al.* (2010) não obtiveram diferenças significativas entre o vinho base e os espumantes jovens (14 meses) e reserva (24 meses) em três safras analisadas para os compostos hexanoato de etila, acetato de etila, isobutanol, (álcool isoamílico) 3-metil,1-butanol, álcool isovalérico, acetoína e ácido hexanoico, mostrando uma quantidade similar nos três tipos de vinhos analisados.

Os compostos 2-hexenal, cis-3-hexen-1-ol, trans-3-hexen-1-ol, álcool benzílico, decanoato de etila, dodecanoato de etila, acetato de feniletila, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido isovaleriânico e nerolidol estão abaixo do limite de detecção $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ do método.

Os resultados das análises de compostos voláteis foram submetidos a uma análise multivariada de componentes principais (Figura 2), através da qual separaram os espumantes com maior tempo de armazenamento (6, 5, 4, 3, e 2 anos) das safras com menor tempo de armazenamento (1 e 0).

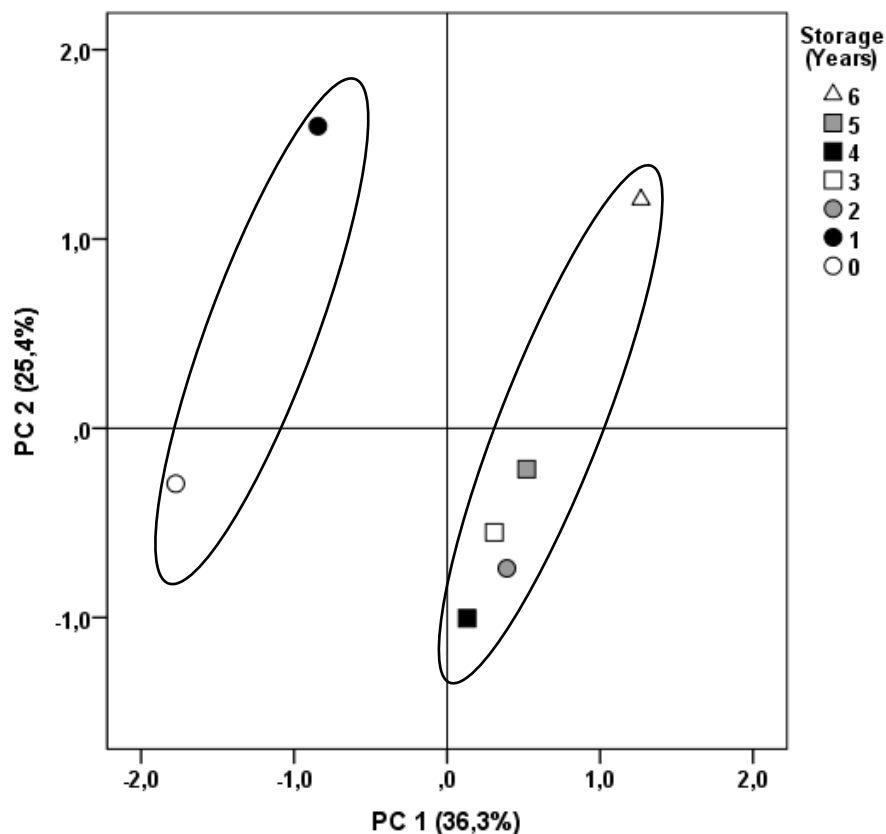


Figura 2: Análise de componentes principais (ACP) com base nos compostos voláteis.

PC 1: Correlação positiva com etanal, metanol, 2-metil-1-butanol, soma álcoois isoamílicos, butanoato de etila, hexanol, hexanal e geraniol. Correlação negativa com acetato de isoamila, ácido octanoico, ácido decanoico, acetato de linalil, terpineol e nerol.

PC 2: Correlação positiva com 2-metil,1-propanol, 2-feniletanol, rose oxide e linalol. Correlação negativa com 1-propanol, succinato de dietila, ácido dodecanoico.

A análise de componentes principais representa 61,7% da variância. O PC 1 separa os espumantes de menor tempo de armazenamento (0 e 1 ano) dos demais (2, 3, 4, 5 e 6). Os espumantes com menor tempo possuem menores concentrações de etanal, metanol, 2-metil-1-butanol (trufado, amêndoas), soma álcoois isoamílicos, butanoato de etila (maçã), hexanol (mel, cera de abelha), hexanal (maçã, cítrico, vegetal) e geraniol (rosas) e maiores

concentrações de acetato de isoamila (banana, pera), acetato de linalila (cítrico, bergamota), ácido octanoico (oleoso, manteiga) ácido decanoico (cítrico) α -terpineol (lírio) e nerol (rosas).

Os espumantes com mais tempo de garrafa têm uma tendência a diminuir a concentração de acetato de isoamila, hexanoato de etila, acetato de linalila, terpineol e nerol.

Linalol, citronelol, nerol e geraniol são os compostos terpênicos que mais contribuem para os aromas típicos da variedade moscato, com aromas florais e frutados bastante intensos (Celik *et al.* 2015). Com o envelhecimento, os compostos terpênicos dos vinhos tendem a desaparecer devido a formação de óxido de nerol (Boidron *et al.* 1989). O geraniol aumentou sua concentração ao longo do tempo de armazenamento. Os teores de linalol e geraniol encontrados em todos os espumantes analisados estão acima do limiar de percepção encontrados na literatura, inclusive os espumantes das safras mais antigas. O limiar de percepção do linalol é de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ (Vararu *et al.* 2016) e possui aroma de rosas; o geraniol também aroma de rosas e o limiar de concentração é de $0,13 \text{ mg.L}^{-1}$. Os menores tempos de armazenamento (0 e 1 ano), possuem concentrações de α -terpineol maiores ($0,40$ e $0,49 \text{ mg.L}^{-1}$) que o limiar de percepção, $0,40 \text{ mg.L}^{-1}$ e possui aroma de lírio (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b).

Além destes compostos, foram encontrados, através da análise cromatográfica realizada por espectrometria de massa por micro extração em fase sólida (SPME-GCxMS): 1-hexanol, hotrienol e óxido de nerol em todos os tempos de armazenamento, acetato de n-hexila (0,1, 2, 3 e 5 anos de armazenamento), acetato 2-metil, 1-butanol e myrcene nos espumantes de 0 e 1 ano de armazenamento, óxido de linalol e furfural nos espumantes com 2, 3, 4, 5 e 6 anos de armazenamento, γ -terpinene (1 e 4 anos de armazenamento), 2-3-butanodiol, isobutirato de etila e p-mentha-1(7)-8 diene (2 e 5 anos), 2-etil, 1-hexanol (1 e 5 anos), fenilacetato de etila (1, 2 e 3), 9-decanoato de etila (1, 3 e 6), acetato de feniletila (0, 1, 3, 5 e 6).

Os principais compostos majoritários encontrados em 21 amostras de espumantes moscatéis analisados no estudo *de* Nicolli et al. (2015) através SPME (GCxMS) e cromatografia gasosa bidimensional (GCxGC/TOF) foram: 1- hexanol, hexanoato de etila, hotrienol, feniletanol, óxido de nerol, succinato de dietila, α -terpineol, octanoato de etila, 9-decenoato de etila, decanoato de etila, acetato de isoamila, acetato de hexila, 1-octanol, óxido de cis-linalol, sorbato de etila, linalol, acetato de feniletila.

Dentre estes, destacam-se os compostos que conferem notas aromáticas de flor de laranjeira (óxido de nerol), de tília (hotrienol), rosas (linalol) e lírio do vale (α -terpineol).

Apesar do espumante da safra de 2010 ter sido analisado com 6 anos de garrafa, não foram identificados aromas de oxidação, principalmente da família dos norisoprenoides (grupo C13) como o 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN), vitispirano e β -damascenona. Estes provêm da hidrólise enzimática de compostos carotenoides e rearranjo de terpenoides muitos deles glicosilados que são encontrados no suco e aparecem no vinho durante o processo de envelhecimento (Versini, 1999). O TDN está associado ao aroma de querosene, principalmente dos vinhos Riesling mais envelhecidos (Simpson *et al.* 1983), vitispirano a eucalipto e cânfora e β -damascenona a flores exóticas (Versini *et al.* 1999).

Durante o armazenamento, também pode ocorrer a perda dos atributos sensoriais dos vinhos jovens, como aromas frescos, floral, cítrico e frutado, desenvolvendo aromas novos, como biscoito, mel, caramelo, nozes e outros (Bueno *et al.* 2010). Isto ocorre devido às reações de hidrólise química, resultando na perda dos caracteres frutados frescos (Recamales *et al.* 2011). Estes aromas estariam relacionados ao 2-feniletanol (floral, rosas), acetato de isoamila (banana, pera), acetato de hexila (frutado), octanoato de etila (abacaxi, pera), limoneno (limão, laranja, cítrico) acetato de linalil (cítrico, bergamota), linalol (rosas), álcoois superiores (trufado, amêndoas) (Guth, 1997; Ferreira *et al.* 2000; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006; Andreu-Sevilla *et al.* 2013; Guedes de Pinho *et al.* 2007). González-Viñas *et al.* (1996)

evidenciaram a perda de atributos frutados após 18 meses de armazenamento em condições comerciais, enquanto altas temperaturas de armazenamento resultam em alterações de aroma de vinho após apenas cinco dias (De la Presa-Owens & Noble, 1997). Vinhos da variedade Chardonnay derivados de mostos hiper oxigenados apresentaram maior odor à banana e notas herbáceas e menores concentrações de notas florais (Cejudo-Bastante, 2011).

Culbert *et al.* (2018), realizaram análise sensorial de 24 espumantes moscatéis australianos e também encontraram aromas frutados como frutas tropicais (maçã, pera), florais, mel e confeitaria. Encontraram também espumantes com aromas de carvalho, lenhosos, levedura, pão e querosene, podendo estar relacionados com espumantes mais velhos.

4 Conclusões

Os espumantes com menor tempo de armazenamento (0 e 1 ano) destacaram-se por apresentar maiores concentrações de acetato de isoamila (banana, pera), acetato de linalil (cítrico, bergamota), ácido octanoico (oleoso, manteiga) ácido decanoico (cítrico) e terpineol (lírio) e os espumantes com maior tempo de armazenamento (2, 3, 4, 5 e 6 anos) maiores concentrações de etanal (maçã verde), metanol, 2-metil-1-butanol (trufado, amêndoas), butanoato de etila (maçã), hexanol (mel, cera de abelha), hexanal (maçã, cítrico, vegetal), geraniol (rosas) e nerol (rosas). As concentrações da maioria dos álcoois e alguns terpenos tendem a aumentar ao longo do tempo de armazenamento e os acetatos tendem a diminuir, porém deve-se levar em consideração a influência em relação às safras. De um modo geral, os espumantes mais jovens possuem aromas cítricos e frutados e os espumantes mais velhos apresentam notas de maçã, trufas, amêndoas, rosas e mel. Muitos compostos estão presentes em ambos os grupos, jovens e velhos, porém em diferentes concentrações. As reações químicas e bioquímicas que ocorrem ao longo do tempo são responsáveis por esta

complexidade aromática que também está diretamente ligada às diferentes variedades de uvas moscatos utilizadas para a elaboração dos espumantes moscatéis, cada uma com suas características e peculiaridades que ao se unirem para a elaboração de um único produto se tornam complexas.

5 Referências Bibliográficas

- Alves, M.E.B.; Tonietto, J. (2016). 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 – Brasil.
- Andreu-Sevilla, A. J.; Mena, P.; Martí, N.; Viguera, C.G.; Carbonell-Barrachina, A.A. (2013). Volatile composition and descriptive sensory analysis of pomegranate juice and wine. **Food R. Int.** 54, 246 – 254.
- Berger, R.G. (2007). **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany. 647 p.
- Barón, R.; Mayén, M.; Mérida, J.; Medina, M. (1997). Changes in phenolic compounds and browning during biological aging of SherryType Wine. **J. Agric. Food Chem.** 45, 1682-1685.
- Bordiga, M.; Rinaldi, M.; Locatelli, M.; Piana, G.; Travaglia, F. (2013). Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots comparison. **Food Chem.** 140, 57–67.
- Brasil. IN nº 24 de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. Revoga a portaria nº 77 de 27 de novembro de 1986. **Disponível (online)** www.agricultura.gov.br (04 abr. 2018).

- _____. Decreto nº 8198 de 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Disponível (online)** https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2014/decreto/d8198.htm (03 set. 2017).
- Bueno, M.; Culleré, L.; Cacho, J.; Ferreira, V. (2010). Chemical and sensory characterization of oxidative behavior in different wines. **Food Res. Int.** 43, 1423-1428.
- Cadastro vinícola, 2017. **Disponível (online)** <http://www.ibravin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1458840710.pdf> Acesso em 21 abr. 2018.
- Cejudo-Bastante, M.J.; Hermosín-Gutierrez, I.; Castro-Vazquez, L.I.; Pérez-Coello, M.S. (2011). Hyperoxygenation and bottle storage of Chardonnay white wines: Effects on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics. **J. Agric. Food Chem.** 59, 4171- 4182.
- Celik, Z. D.; Karaoglan, S. Y.; Darici, M.; Kelebek, H.; Isci, B.; Kaçar, E.; Altindisli, A.; Cabaroglu, T. (2015). Effects of terroir on the terpene compounds of Muscat of Bornova Native White grape varitey grown in Turkey. **Bio Web of Conferences** 5, (01004): 1-7.
- Culbert, J.A.; Ristic, R.; Ovington, L.A.; Saliba, A.J.; Wilkinso, K.L. (2018). Sensory profiles and consumer acceptance of diferente styles of Australian Moscato. **Austr. J. Grape Wine R.** 24, 96–104.
- De la Presa-Owens, C.; Noble, A.C. (1997). Effect of storage at elevated temperatures on aroma of Chardonnay wines. **Am. J. Enol. Vitic.** 48, 310316.
- De Oliveira, L.C.; De Souza, S.O.; Mamede, M.E.O. (2011). Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz.** 70 (2), 158-67.

- Del Caro, A.; Piombino, P.; Genovese, A.; Moio, L.; Fanara, C.; Piga, A. (2014). Effect of Bottle Storage on Colour, Phenolics and Volatile Composition of Malvasia and Moscato White Wines. **South Afr J Enol Vitic.** 35: 128-138.
- Ebeler S.E.; Spaulding, R.S. (1998) Characterization and measurement of aldehydes in wine. In Chemistry of Wine Flavor. A.L. Waterhouse and S.E. Ebeler (Eds.), ACS Symp. Ser. **Am. Chemic. Soc.**, Washington, DC. 714: 166-179.
- Ferreira, V.; Escudero, A.; Fernández, P.; Cacho J. F. (1997). Changes in the profile of volatile compounds in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** 205: 392-396.
- Ferreira, V.; López, R.; Cacho, J. F. (2000) Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. **J. Sci. Food Agric.** 80:1659-1667.
- Francis, L. (2013). Fermentation-derived aroma compounds and grape-derived monoterpenes. **The Australian Wine Research Institute** in 15th Australian Wine Industry Technical Conference.
- Frankel, E.N.; Waterhouse, A.L.; Teissedre, P.L. (1995). Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **J. Agric Food Chem.** 43: 890-894.
- Fernández-Zurbano, P.; Ferreira, V.; Escudero, A.; Cacho, J. (1998). Role of hydroxycinnamic acids and flavanols in the oxidation and browning of white wines. **J. Agric. Food Chem.** 46: 4937-4944.
- González-Viñas, M.A.; Pérez-Coello, M.S.; Salvador, M.D.; Cabezudo, M.D. Martín-Alvarez, P.J., 1996. Changes in the gas-chromatographic volatiles of young Airen wines during bottle storage. **Food Chem.** 56: 399-403.
- González-Viñas, M.A.; Pérez-Coello, M.S.; Cabezudo, M.D.; Martín-Alvarez, P.J. (1998). Sensory analysis of aroma attributes of young Airen white wines during storage in the bottle. **J. Food Qual.** 21: 285–297.

- Guedes De Pinho, P.; Falqué, E.; Castro M; Oliveira E Silva, H.; Machado, B.; Silva Ferreira, A.C. (2007). Further insights into the floral character of Touriga Nacional Wines. **J. Food Sci.** 72 (6): 396-401.
- Ghidossi, R.; Poupot, C.; Thibon, C.; Pons, A.; Darriet, P.; Riquier, L.; De Revel, G.; Mietton-Peuchot, M. (2012). The influence of packaging on wine conservation. **Food Control** 23: 302-311.
- Guth, H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. (1997). **J. Agric. Food Chem.** 45: 3027-3032.
- Itália, (2011). Ministero Delle Politiche Agricole e Forestali. Gazzetta Ufficiale N° 281 Del 2 Dicembre 2011. **Decreto Ministeriale 21 Novembre 2011**. Disciplinare Di Produzione Dei Vini A Denominazione Di Origine Controllata E Garantita “Asti”.
- Lima, N.E.F. (2012). Perfil fenólico e atividade antioxidante de vinhos Goethe - caracterização e evolução durante o armazenamento em garrafa. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis -SC, Brasil.
- Lona, A. A., 2013. Moscatel Espumante: trinta anos de história no Brasil. **Disponível (online)** <http://adolfolona.blogspot.com.br/2013/02/moscatel-espumante-35-anos-dehistoria.html> (05 abr. 2018).
- Moreno-Arribas, M.; Polo, M. (2009). Wine Chemistry and Biochemistry. Springer Science+Business Media. New York. 437-529.
- OIV-MA-AS2-10 (2009). Folin-Ciocalteu index. Compendium of International Methods of Analysis – OIV.
- Paixão, N.; Perestrelo, R.; Marques, J.C.; Câmara, J.S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. **Food Chem.** 105: 204–214.

- Palomo, E.S.; Alañón, M.E.A.; Maroto, M.C.D.; Viñas, M.A.G.; Coello, M.S.P. (2009). Comparison of extraction methods for volatile compounds of Muscat grape juice. **Talanta** 79: 871–876.
- Pardo, E.; Rico, J.; Gil, J.V.; Orejas, M. (2015). De novo production of six key grape aroma monoterpenes by a geraniol synthase-engineered *S. cerevisiae* wine strain. **Microbial cell factories**. 14:136, 1-8.
- Peña, R.M.; Barciela, J.; Herrero, C.; García-Martín, S. (2005). Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. **Talanta**. 67: 129-135.
- Pérez-Coelho, M. S.; González-Viñas, M. A.; García-romero, E.; Díaz-Maroto, M. C.; Cabezudo, M. D. (2003). Influence of storage temperature on the volatile compounds of Young White wines. **Food Control**. 14: 301-306.
- Recamales, A.; Gallo, V.; Hernanz D., González-Miret, M. L. Heredia, F. J. (2011). Effect Of Time And Storage Conditions On Major Volatile Compounds Of Zalema White Wine. **J. Food Qual**. 34: 100-110.
- Rizzon, L. A. (2010). **Metodologia para análise de vinho**. Embrapa Uva e Vinho, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. 120 p.
- Rizzon, L. A.; Meneguzzo, J.; Gasparin, A. (2008). Sistemas de produção, 17. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves. **Disponível (online)** <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante/caracteristicas.htm> (21 ago. 2017).
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A. & Dubourdieu, D. (2006). **Tratado de Enología. 1. Microbiología del vino - Vinificaciones. 2. Química del Vino. Estabilización y Tratamientos**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 655 p.

- Rodrigues, D. (2013). **Tese de doutorado** Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos. Influência de diferentes práticas vitícolas sobre a fermentação alcoólica e a formação de compostos de aroma em cultivares *Vitis vinifera*. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas.175 p.
- Slegers, A.; Angers, P.; Pedneault, K. (2017). Volatile Compounds from Must and Wines from Five White Grape Varieties. **J. Food Chem. Nanotech.** 3: (1), 8-18.
- Vararu, F.; Moreno-García, J.; Zamfir, C.I.; Cotea, V.V.; Moreno, J. (2016). Selection of aroma compounds for the differentiation of wines obtained by fermenting musts with starter cultures of commercial yeast strains. **Food Chem.** 197: 373-381.
- Versini G, Carlin S, Nicolini G, Dellacassa E, Carrau F (1999). Updating of varietal aroma components in wines. **VII Latin. Congress Enol. Vitic**, Mendoza, 325–349.
- Voirin, S.; Baumes, R.; Bayonove, C. (1990). Synthesis and nmr spectral properties of grape monoterpenyl glycosides. **Carbohyd. Res.** 207 : 39-56.
- Webber, V.; Dutra, V.S.; Spinelli, F.R.; Marcon, A.R.; Carnieli, G.J.; Vanderlinde, R. (2014). Effect of glutathione addition in sparkling wine. **Food Chem.**, 159: 391 - 398.
- Welke, J. E.; Manfroi, V.; Zanus, M.; Lazarotto, M.; Zini, C. A. (2012). **J Chromatogr.** 1226: 124-139.
- Westphalen, S.L. (1977). Bases ecológicas para a determinação de regiões de maior aptidão vitícola no Rio Grande do Sul. In: **Simposio Latino Americano De La Uva Y Del Vino**.
- Zanus, M. C. **Espumante Moscatel - o sabor certo para sua sobremesa**, 2014. Disponível (online) <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/moscatel.html>>. Acesso em 01 abr. 2018.
- Zoecklein, B.W.; Hackney, C.H.; Duncan, S.E.; Marcy, J.E. (1999). Effect of fermentation, aging and thermal storage on total glycosides, phenol-free glycosides and volatile

compounds of White Riesling (*Vitis vinifera* L.) wines. **J. Ind. Microb. Biotech.** 22: 100–107.

3.3 ARTIGO 3 – Composição química e sensorial de vinhos elaborados com as variedades Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco de Farroupilha

Composição química e sensorial de vinhos elaborados com as variedades Moscato R2,
Moscato Giallo e Moscato Branco

Ângela Rossi Marcon, Luisa Vivian Schwarz, Sandra Valduga Dutra, Ana Paula Longaray

Delamare, Sérgio Echeverrigaray

Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, 95070-560, Rio Grande do
Sul, Brazil.

Autor correspondente- E-mail: rossimarcon@gmail.com

Resumo

As variedades chamadas aromáticas tais como as moscatos, originam mostos odoríferos, cujos aromas se parecem aos seus vinhos. Os compostos aromáticos mais importantes das variedades moscatos pertencem à família química dos terpenos, além de ésteres, ácidos e álcoois. Dentre as diversas regiões produtoras do Brasil, a região sul, especialmente Farroupilha produz aproximadamente 50% de uvas moscatos do País e destaca-se pela qualidade de elaboração de vinhos e espumantes moscatéis, inclusive com indicação de procedência. Com o objetivo de caracterizar o perfil aromático das variedades Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco, essas uvas foram coletadas em diferentes produtores de Farroupilha e realizadas microvinificações. Os principais compostos voláteis responsáveis pelos aromas destes vinhos foram analisados por cromatografia gasosa e a análise sensorial foi realizada através de uma ficha de degustação descritiva. Os vinhos elaborados com a variedade Moscato Giallo destacaram-se pelas maiores concentrações de acetato de etila (frutado), 2-feniletanol (rosas), acetato de isoamila (banana), linalol (rosas) e α -terpineol (lírio). Os vinhos de Moscato R2 apresentaram maiores concentrações de decanoato de etila (floral) e nerol (rosas). Os vinhos elaborados com a variedade Moscato Branco possuem

maiores teores de etanal (maçã verde) e hexanoato de etila (banana). Na análise sensorial, os vinhos elaborados com a variedade Moscato Giallo destacaram-se pelos aromas de pera, pitanga e alecrim. Os vinhos da variedade Moscato R2 destacaram-se pelas notas de frutas cítricas e alecrim e os vinhos da variedade Moscato Branco apresentaram notas cítricas, pera e pitanga. De um modo geral, os vinhos elaborados com as variedades Moscato R2 e Moscato Giallo possuem maior intensidade aromática e os vinhos elaborados com Moscato Branco apresentaram maior acidez em boca. Estes resultados auxiliam na escolha da proporção de cada variedade a ser utilizada na elaboração dos vinhos e espumantes moscatéis para atingir o frescor, a jovialidade e a qualidade desejada pelos consumidores.

1. Introdução

A variedade mais utilizada para elaboração de vinho branco fino e espumante moscatel é a Moscato Bianco ou Moscato Branco, porém outras variedades do mesmo grupo Moscatos são utilizadas como Moscato Giallo, Moscato de Hamburgo, Moscato Ottonel, Moscato de Alexandria, além das variedades do grupo das Malvasias, Malvasia Bianca di Candia, Malvasia Bianca, Malvasia Rosa entre outras, todas *Vitis vinifera* com sabor e aromas de Moscato. Essas cultivares, possuem uma aptidão natural para a produção destes produtos, principalmente devido às características de aroma e frescor dos mesmos. Geralmente, apresentam baixo potencial de produção de açúcar e produzem vinho branco relativamente ácido, com aroma varietal de elevada tipicidade (Rizzon & Dall’Agnol, 2009; Rizzon & Gasparin, 2008).

Estudos do detalhamento genético e molecular da Moscato Branco desenvolvido pelo Programa de Melhoramento Genético de Uva da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Uva e Vinho (Embrapa), juntamente com o ampelógrafo francês Jean-Michel Boursiquot,

da Universidade SupAgro, Montpellier (França), indicam que a Moscato Branco provavelmente é uma variedade cultivada somente no Brasil, principalmente em Farroupilha (RS). Ela distingue-se de todas as Moscatos existentes nas coleções dos bancos genéticos de uva brasileiro e francês sem encontrar um par idêntico (Ritschel *et al.* 2012).

A produção de Moscato Branco em 2015 no município de Farroupilha foi de 6.109 toneladas (213 hectares) (Cadastro Vitícola, 2015). Variedade muito resistente à antracnose, porém suscetível ao apodrecimento da uva. Apresenta alta fertilidade e é muito bem adaptada às condições do sul do Brasil. O cacho é de tamanho médio, compacto, de formato cilindro-cônico. A baga apresenta tamanho médio, de formato esférico, umbigo saliente e persistente; a casca é pouco pruinosa de cor amarelo dourado, tornando-se âmbar na parte exposta ao sol. O sabor do mosto além de doce apresenta o típico gosto moscatel (Camargo, 2003). Seu ciclo vegetativo é de 153 dias, peso médio do cacho 276,5g, produtividade 39,9 t/ha, pH de 3,1, °Brix de 13,3 e acidez total de 124 meq.L⁻¹ (Burin & Tonietto, 2011).

A variedade Moscato Bianco é proveniente da Itália e possui diversos clones, dentre eles R 2, VCR 3, VCR 221, VCR 315 e VCR 419. O clone de Moscato R2, mais produzido na Serra Gaúcha, possui cacho de tamanho médio a grande, elevado vigor, fertilidade média a alta, de formato piramidal alado (Vivai Cooperativi Rauscedo, 2018). Possui ciclo vegetativo de 141 dias, peso médio do cacho de 225 gramas, uma produtividade de 21 t/ha, °Brix médio de 15,5 e acidez total de 129,5 meq.L⁻¹ (Burin & Tonietto, 2011). Em 2015 a produção no RS foi de 814 toneladas (48 ha) e em Farroupilha 294 toneladas em 16 ha (Cadastro Vitícola, 2015).

A variedade Moscato Giallo, também proveniente da Itália, também possui diversos clones (Vivai Cooperativi Rauscedo, 2018), sendo o VCR 5 o mais utilizado na região. Produz um vinho branco de cor amarelo palha com agradável aroma e sabor de moscato. A uva apresenta cacho de tamanho médio a grande, com 20 cm a 25 cm de comprimento, de formato

piramidal, grãos soltos, pedúnculo longo. A baga é de tamanho médio, esférica, com a película pruinosa, de cor amarela intensa. A polpa é carnosa e bastante sucosa (Rizzon & Gasparin, 2008). Possui ciclo vegetativo de aproximadamente 150 dias, peso médio do cacho 219 gramas, produtividade de 24 t/ha, pH de 3,28, acidez total de 99 meq.L⁻¹ e 19,7 °Brix (Vivai Cooperativi Rauscedo, 2018). A produção de Moscato Giallo no RS em 2015 foi de 2.082 (146 ha) toneladas e em Farroupilha 702 toneladas (40,5 ha) (Cadastro Vitícola, 2015).

Os principais aromas que se destacam nestas variedades são florais e frutados, cravo-da-índia e especiarias (Guerra & Zanus, 2004). Estas características podem ser determinadas por análises químicas ou pela percepção dos atributos aromáticos e de sabor obtidos a partir de uma avaliação sensorial (Lesschaeve, 2007).

Estas variedades moscatos, pertencentes ao grupo das aromáticas, originam mostos odoríferos, cujos aromas se parecem aos seus vinhos, possuindo essencialmente precursores de aromas como ácido graxos e conjugados de cisteína, glicosídeos, carotenoides e compostos fenólicos. Os compostos aromáticos mais importantes das variedades moscatéis pertencem à família química dos terpenos (aproximadamente 40). Se encontram na uva e nos vinhos sob a forma livre e sob a forma de precursores inodoros, principalmente glicosilados (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006, González-Barreiro *et al.* 2015).

A primeira vez que o aroma das uvas de moscato foi atribuído aos compostos de terpenos, especialmente o linalol e seus derivados foi em 1946 por Austerweil (Marais, 1983).

Os monoterpenos, compostos de dez átomos de carbono e os sesquiterpenos (quinze átomos de carbono) se apresentam sob a forma de hidrocarbonetos simples (limoneno, mirceno), de aldeídos (linalal, geranial), de álcoois (linalol, geraniol), de ácidos (ácido linálico, gerânico) e de ésteres. Linalol, geraniol, nerol, citronelol e α -terpineol são encontrados em muitos vinhos de caráter floral, como os moscatos (Ribéreau-Gayon *et al.*

2006), Gewürztraminer (Guth, 1997), Riesling (Simpson & Miller, 1983) e Chardonnay (Duchêne *et al.* 2009).

A concentração de terpenos em uvas e vinhos pode depender de vários fatores, como a cultivar, região e técnicas de vinificação (Marais, 1983).

O conhecimento mais aprofundado dos aromas destas variedades moscatéis é muito importante para o desenvolvimento de novas tecnologias e preservação da identidade e qualidade aromática dos vinhos e espumantes elaborados com estas variedades. O objetivo deste trabalho foi conhecer as principais características químicas e sensoriais dos vinhos das variedades Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco de Farroupilha.

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostras

O experimento foi realizado na safra de 2015, onde foram utilizadas uvas (15 Kg) das variedades Moscato R2 (coletada em 14/01), Moscato Giallo (coletada em 04/02) e Moscato Branco (coleta dia 19/02) de diferentes produtores de uva de Farroupilha de diferentes vinhedos. As uvas foram coletadas no período ideal de colheita e maturação fisiológica.

Foram realizadas três microvinificações com 10 litros de mosto para cada variedade, totalizando nove microvinificações. Após a pesagem das uvas, realizou-se o desengace, prensagem, adição de dióxido de enxofre (50 mg.L^{-1}) e enzima pectinolítica ($0,04 \text{ mL.L}^{-1}$). O mosto foi transferido para garrações de 10 litros e refrigerado a 2°C durante 5 dias para precipitação e clarificação. Realizou-se a primeira trasfega, adicionou-se levedura X5 (*Saccharomyces cerevisiae*) $0,3 \text{ g.L}^{-1}$ e ativante de fermentação (fosfato de amônio bibásico, perlita e cloridrato de tiamina B1) a $0,3 \text{ g.L}^{-1}$, onde permaneceram em temperatura controlada

a 16°C durante 15 dias para fermentação. Realizou-se mais uma trasfega e permaneceu a -2°C para estabilização a frio e precipitação tartárica. Após esse período corrigiu-se o SO₂ para 50 mg.L⁻¹ e engarrafou-se. Essas microvinificações foram realizadas na Embrapa Uva e Vinho.

2.2 Análises físico-químicas dos mostos e dos vinhos

As análises físico-químicas foram realizadas em 2015, todas em triplicata e correspondem à determinação do teor alcoólico (%v/v), densidade, pH, açúcares totais (g.L⁻¹), dióxido de enxofre total (g.L⁻¹), dióxido de enxofre livre (g.L⁻¹), acidez volátil (meq.L⁻¹) e acidez total (meq.L⁻¹), segundo IN nº 24 de 08/09/2005 (Brasil, 2005) e Embrapa Uva e Vinho (Rizzon, 2010). Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados pela medida da absorção em luz ultravioleta a 750 nm, expressos em mg.L⁻¹ de ácido gálico, conforme método da OIV (2009b), e o índice de cor foi medido a 420 nm. A tonalidade foi determinada através da divisão do comprimento de onda 420/520 e a susceptibilidade ao escurecimento determinada através da diferença das absorbâncias a 420 e 520 nm (Hosry *et al.* 2009; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006).

Para o mosto foram realizadas análises de pH, °Brix e acidez total (meq.L⁻¹), também em triplicata (Brasil, 2005; Rizzon, 2010).

2.3 Compostos voláteis

As análises de compostos voláteis (ésteres, álcoois superiores e terpenos) foram realizadas em um cromatógrafo a gás HP 6890 Agilent Technologies, com uma coluna capilar CP Innowax (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), detector de ionização a chama para quantificação dos compostos. Os compostos foram identificados por comparação de seus tempos de retenção

com padrões autênticos preparados com reagentes PA (para análise) da Sigma-Aldrich. Sete níveis de concentrações foram testados em triplicata e as linhas de regressão foram calculadas para cada composto.

2.3.1 Determinação de álcoois superiores, etanal, acetato de etila e metanol

Adicionou-se 70 μL de 4-metil-2-pentanol (padrão interno, 5 g.L^{-1}) a 5 mL da amostra destilada. A injeção (1,0 μL) foi realizada em modo dividido 1:30 a 220 °C. O gás transportador foi o hidrogênio a 2,0 mL.min^{-1} , com nitrogênio como gás auxiliar a 37 mL.min^{-1} . A temperatura do forno foi de 40 °C por 5 min, 40-90 °C a 3 $^{\circ}\text{C.min}^{-1}$, 90-200 °C a 10 $^{\circ}\text{C.min}^{-1}$, 200 °C por 5 min. A combustão foi mantida com ar sintético a 350 mL.min^{-1} e hidrogênio a 35 mL.min^{-1} . A temperatura do detector foi de 230°C (Webber *et al.* 2014).

2.3.2 Determinação de ésteres, acetatos, álcoois e ácidos voláteis

Foram adicionados em 50 mL de vinho, 500 μL de 3-octanol a 250 mg.L^{-1} e 70 μL de ácido fosfórico (1: 3). As amostras foram submetidas a três extrações líquido / líquido (4: 2: 2) com uma mistura de éter dietílico / n-hexano (1: 1). A injeção (1,0 μL) foi realizada em modo dividido às 1:30 a 240 °C. O gás transportador foi hidrogênio a 2,0 mL.min^{-1} e nitrogênio como gás auxiliar a 37 mL.min^{-1} . A temperatura do forno foi de 40 °C por 5 min; 40-230 °C a 3 $^{\circ}\text{C.min}^{-1}$, 230 °C por 20 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético a 350 mL.min^{-1} e hidrogênio a 35 mL.min^{-1} . A temperatura do detector foi de 230 °C (Webber *et al.* 2014).

2.3.3 Determinação de terpenos (*limoneno, linalol, α -terpineol, citronelol, nerol, geraniol, acetato de linalila, óxido de rosas e nerolidol*)

Foram analisados utilizando micro extração em fase sólida (SPME) com fibra de poliacrilato, de acordo com a metodologia adaptada proposta por Welke *et al.* (2012) e Peña *et al.* (2005). Em 20 mL de vinho foram adicionados 5 g de NaCl e 80 μ L de padrão interno (3-octanol) a 250 mg.L⁻¹. A amostra foi continuamente agitada magneticamente a 40°C por 5 minutos e, após esse tempo, a fibra DVB/CAR/PDMS 50/30 foi inserida no espaço acima do líquido (headspace) mantendo a agitação a 40°C por 30 min. Após a extração, a fibra foi inserida no injetor de GC e a análise cromatográfica foi realizada. A temperatura do injetor foi mantida a 250°C. A injeção foi realizada em modo dividido 1:20, mantendo a fibra no orifício de injeção durante 5 min. O gás transportador foi o hélio a 2,0 mL.min⁻¹. As condições do forno foram de 50 °C durante 1 min; 50° a 60° a 10°C.min⁻¹, durante 1 min e 60° a 200° a 25 °C.min⁻¹, durante 8 min, com fluxo de gás constante de 1 ml.min⁻¹.

2.4 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada por um grupo de 10 enólogos treinados. A ficha utilizada (Figura 1) foi desenvolvida a partir da ficha de degustação oficial da OIV (2009a), roda de aromas (Noble & Howe, 1990) e dos descritores sugeridos por Zanus (2014). A ficha leva em consideração as características visuais, olfativas e gustativas, com discriminação de aromas e sabores típicos de moscatéis.

Os atributos sensoriais descritivos são classificados em uma escala de intensidade de 0 a 5, onde 0 corresponde a não percepção e 5 alta intensidade. Para caracterizar o aspecto visual foram avaliados a intensidade de cor e a tonalidade de cor amarela. No aspecto olfativo além

da intensidade e qualidade do aroma estes foram divididos em 8 grupos: frutas frescas (cítricas, mamão, pêsego, maçã, abacaxi, pera, goiaba, maracujá, manga /melão, pitanga), floral (jasmin, rosas e gerânio), ervas de quintal (arruda, manjerição, alecrim, erva-doce), especiarias (cravo-da-índia), aromas doces (mel, batata doce, caramelo), microbiológico (levedura, pão, queijo), herbáceo (feno/ palha, menta, vegetal), volátil/ acético e odor indesejável. No aspecto gustativo foram avaliados a intensidade de sabor, nitidez/franqueza, acidez, amargor e gosto indesejado. Para a avaliação da qualidade sensorial geral foi utilizada uma pontuação de 0 a 100.

A sala de análise sensorial estava de acordo com a ISO 8589 (International Organization for Standardization, 2007). Aproximadamente 30 mL de amostra a 10°C foram vertidos imediatamente antes da avaliação e servidos na taça ISO 3591 (International Organization for Standardization, 1977). As amostras foram codificadas com 3 dígitos e degustadas em triplicata em ordem aleatória. Cada degustador teve 10 minutos para cada amostra. Foram fornecidos água mineral e pão durante cada sessão para neutralizar os efeitos do vinho anterior.

FICHA DESCRITIVA PARA VINHO BRANCO MOSCATO						
DEGUSTADOR:		DATA:				
AVALIAR (com nota de 0 a 5) A INTENSIDADE PERCEBIDA:						
0	0.5	1	1.5	2	2.5	3 3,5 4 4.5 5
nulo/pouco intenso		bastante intenso				
		➔				
Característica	Código da amostra					
	1	2	3	4	5	6
Visual						
Intensidade de cor						
Tonalidade de cor amarela						
Olfativo						
Intensidade de aroma						
Qualidade do aroma						
Frutas frescas	Cítricas (limão, laranja)					
	Mamão/Papaia					
	Pêssego					
	Maçã / Maçã verde					
	Abacaxi					
	Pêra					
	Goiaba					
	Maracujá					
	Manga / Melão					
Floral	Pitanga					
	Jasmim					
	Rosas					
Ervas-de-quintal	Gerânio					
	Arruda					
	Mangericão					
	Alecrim					
Especiarias / Cravo-da-índia	Cidreira / Erva-doce					
	Mel					
Aromas doces	Batata doce					
	Caramelo					
	Fermento / Levedura					
Microbiológico	Pão / Pão tostado					
	Queijo / Lácteo					
Herbáceo	Feno/ palha)					
	Menta					
	Vegetal					
Volátil / Acético						
Odor indesejável						
Gustativo						
Intensidade do sabor						
Nitidez/Franqueza						
Acidez						
Amargor						
Gosto indesejável						
Qualidade Geral (Escala de 0 a 100)						

Figura 1: Ficha descritiva para análise sensorial de vinhos brancos moscatos tranquilos.

2.5 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos a análise de variância, comparação de médias, análise de correlações (Spearman) e análise multivariada (Componentes Principais) com o auxílio do programa computacional SPSS 22.0 for Windows.

3. Resultados e Discussão

3.1. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas dos mostos e vinhos realizadas com as diferentes variedades de Moscato (Tabela 1) estão de acordo com o estabelecido pela legislação brasileira, com exceção do grau alcoólico do vinho nas variedades Moscato R2 e Moscato Branco. Não foram adicionados açúcar na fermentação, portanto o grau alcoólico encontrado é oriundo do açúcar da uva.

O mosto da Moscato R2 e da Moscato Branco possuiu um °Brix de 14,03 e 14,62 respectivamente, correspondendo ao teor de álcool encontrado. O índice do quociente heliopluiométrico de maturação (QM- total de insolação em horas dividido pela precipitação total, em mm) (Westphalen, 1977) da safra de 2015 no período de colheita de 10/01 a 15/03 foi maior que 2,0. Este índice caracteriza-se como condições favoráveis para a maturação e qualidade das uvas, de forma que quanto maior for o QM, maior será a qualidade potencial da uva para vinificação (Tonietto & Alves, 2016). As uvas coletadas neste período foram a Moscato Giallo e a Moscato Branco, porém somente a variedade Moscato Giallo apresentou maior densidade e °Brix, conseqüentemente maior concentração de açúcares (1° Brix corresponde a 1g de açúcar por 100 gramas de solução) e um pH mais elevado. No período de

colheita da uva Moscato R2 (15/12 a 15/01) este índice foi de 0,7, resultando em condições não favoráveis para a qualidade da uva, corroborando com o baixo °Brix encontrado.

As densidades mais baixas também estão relacionadas com o °Brix. Os mostos de Moscato R2 apresentaram maior concentração de acidez total e pH mais baixo, também devido ao baixo grau de maturação da uva.

Del Sávio, 2011, estudou 5 vinhedos da variedade Moscato Branco e Moscato R2 na safra de 2010, da região de Farroupilha e encontrou valores médios para o mosto de 13,7 °Brix, 3,26 de pH e 110 meq.L⁻¹ de acidez total e 15,6 °Brix, 3,21 de pH e 121,8 meq.L⁻¹ respectivamente. Os resultados para acidez total encontrados nesse estudo (Tabela 1) para o mosto da variedade Moscato R2 também foi elevada (127 meq.L⁻¹) e para a variedade Moscato Branco também foi próxima (103 meq.L⁻¹) aos resultados encontrados por Del Sávio, 2011.

Tabela 1: Médias e desvios padrão das análises físico-químicas dos mostos e vinhos Moscatos.

	Moscato R2	Moscato Giallo	Moscato Branco	
Mosto	Densidade	1,0556 ± 0 ^b	1,0697 ± 0,01 ^a	1,0570 ± 0,0 ^b
	°Brix	14,0 ± 0,83 ^b	16,6 ± 0,92 ^a	14,6 ± 0,53 ^b
	pH	2,55 ± 0,05 ^c	3,74 ± 0,08 ^a	2,77 ± 0,16 ^b
	Acidez Total	127 ± 7,6 ^a	107 ± 7,43 ^b	103 ± 6,73 ^b
Vinho	Acidez Volátil (meq.L ⁻¹)	4,33 ± 0,52 ^b	7,17 ± 1,83 ^a	6,33 ± 1,75 ^{ab}
	Acidez Total (meq.L ⁻¹)	122 ± 4,63 ^a	102 ± 2,66 ^b	95,0 ± 13,5 ^b
	Densidade	0,9940 ± 0 ^a	0,9911 ± 0 ^b	0,9924 ± 0 ^b
	Açúcar (g.L ⁻¹)	0,50 ± 0,11 ^a	0,57 ± 0,11 ^a	0,61 ± 0,20 ^a
	pH	2,97 ± 0,03 ^b	3,19 ± 0,06 ^a	3,05 ± 0,18 ^{ab}
	Álcool (% v/v)	7,68 ± 0,38 ^b	9,2 ± 0,76 ^a	8,25 ± 0,62 ^b
	SO ₂ Livre (mg.L ⁻¹)	9,17 ± 4,14 ^a	9,81 ± 2,08 ^a	9,18 ± 2,48 ^a
	SO ₂ Total (mg.L ⁻¹)	26,8 ± 6,64 ^b	61,0 ± 19,5 ^a	61,6 ± 29,7 ^a
	CFT (mg.L ⁻¹)	147 ± 13,9 ^a	120 ± 4,67 ^b	107 ± 5,01 ^b
	Cor	0,128 ± 0,02 ^a	0,133 ± 0,03 ^a	0,198 ± 0,15 ^a
	Tonalidade	2,86 ± 0,58 ^a	2,93 ± 0,91 ^a	2,54 ± 1,01 ^a
	Escurecimento	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,00 ^a

*Análise estatística ANOVA (n=9) com 95% nível de confiança. Letras iguais na linha indicam diferenças não significativas.

Os vinhos da variedade Moscato R2 caracterizaram-se por apresentar um teor maior de acidez total, densidade e compostos fenólicos totais e menor teor de SO₂ total, quando comparada com as variedades Moscato Giallo e Moscato Branco.

A concentração de açúcares dos vinhos e as densidades confirmam o término da fermentação e teores de açúcares residuais dentro da legislação (até 4 g.L⁻¹) (Brasil, 2014).

Os resultados de acidez total encontrados em todos os vinhos elaborados foram maiores que encontrados por outros autores. A acidez auxilia na estabilidade biológica (ausência de microrganismos), a cor e as características gustativas dos vinhos (Rizzon *et al.* 1998).

Chavarria *et al.* (2008), em estudos com Moscato Giallo com cobertura plástica, encontraram teores mais baixos de acidez total (54,7 a 76 meq.L⁻¹) para o vinho. O °Brix encontrado no mosto desses vinhos neste mesmo estudo também foi superior (17,5 a 19 °Brix), conseqüentemente maior concentração de açúcar e menor acidez nos vinhos. De Oliveira *et al.* (2011), analisaram 4 vinhos moscatos do Vale do São Francisco e encontraram teores de acidez total de 77,6 meq.L⁻¹ a 99,5 meq.L⁻¹ e compostos fenólicos totais de 278 a 584 mg. L⁻¹ de ácido gálico. Paixão *et al.* (2007) em vinhos da variedade Malvasia encontraram teores de 434 mg. L⁻¹ de ácido gálico. Lima (2012), analisou vinhos da variedade Goethe, de Santa Catarina, uva também bastante aromática e encontrou concentrações de compostos fenólicos de 277 a 420 mg. L⁻¹ de ácido gálico. Em ambos estudos os valores de compostos fenólicos totais são bem maiores que os encontrados em nosso estudo, provavelmente devido à ausência de fermentação com as cascas, visto que os compostos fenólicos são extraídos da casca durante o processo de maceração e fermentação.

Em relação ao índice de cor, tonalidade e susceptibilidade ao escurecimento não possuem diferenças significativas. O índice de cor encontrado nos vinhos Moscato Giallo estudados por Chavarria *et al.* (2008), foi de 0,059 a 0,129 e em estudos de Webber *et al.* (2014) em espumantes Chardonnay / Pinot Noir da Serra Gaúcha foi de 0,008 a 0,012. Em ambos os estudos, os valores foram bem abaixo dos encontrados em nosso estudo.

3.2 Compostos voláteis

Os resultados dos compostos voláteis estão apresentados na Tabela 2, juntamente com o limiar de percepção, concentração em vinhos e os respectivos descritores aromáticos encontrados na literatura.

O dióxido de enxofre combinado com etanal em estado livre possuem aroma de maçã recém cortada. Os aromas dos vinhos podem ser explicados pela combinação das frações aldeídicas com o dióxido de enxofre. Poucos aldeídos estão presentes nas uvas, dentre eles o hexanal que confere aroma vegetal aos vinhos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006) e está presente em nosso estudo com concentrações acima do limiar de percepção. As concentrações de etanal e dióxido de enxofre encontrados nos vinhos Moscato Giallo e Moscato Branco foram maiores que as encontradas nos Moscato R2 (Tabela 2).

Os álcoois superiores podem ser benéficos para o vinho em pequenas quantidades, não ultrapassando valores de 300 mg.L^{-1} (Flanzy, 2000). Os álcoois superiores e seus ésteres, principalmente os álcoois isobutílicos e acetato de isoamila possuem aromas intensos provocando uma grande complexidade aromática nos vinhos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). A soma dos álcoois superiores foram maiores para a variedade Moscato Giallo e todas as variedades ficaram abaixo do limite de 300 mg.L^{-1} .

O metanol provém da hidrólise enzimática dos grupos metoxilos das pectinas em ácidos pécticos, durante a vinificação e estão diretamente relacionados com a maceração da uva e seu teor de pectina das cascas, portanto os vinhos brancos possuem menores concentrações de metanol (63 mg.L^{-1}) do que os vinhos tintos (152 mg.L^{-1}). Em concentrações elevadas (350 mg.L^{-1}), o metanol é tóxico para a saúde humana. O uso de enzimas pectolíticas causam um aumento nestes teores (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006b). Em nosso estudo os valores de metanol

estão abaixo desta média em todas as variedades devido ao pouco tempo de maceração e contato com a casca.

Tabela 2: Valores médios (mg.L^{-1}) e desvio padrão dos compostos voláteis encontrados nos vinhos Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco, limiar de percepção, concentrações médias em vinhos e descritores aromáticos encontrados na literatura de cada composto.

Compostos voláteis	Moscato R2	Moscato Giallo	Moscato Branco	*Limiar Percepção	Concentração nos vinhos	Descritor aromático
ALDEÍDOS						
Etanal	13,1 ± 2,18 ^b	21,2 ± 6,42 ^{ab}	29,7 ± 12,6 ^a	500 (1)	10 - 300 (1)	Maçã verde (1)
Hexanal	2,14 ± 0,34 ^a	2,22 ± 0,30 ^a	2,04 ± 0,23 ^a	0,02 (2)	0,02 - 4 (2)	Maçã, cítrico, vegetal (5)
ÁLCOOIS						
1-propanol	32,5 ± 8,84 ^b	82,0 ± 25,3 ^a	35,4 ± 11,1 ^b	306 (1)	9,0 - 68 (1)	Entorpecente, pungente (1)
2-Metil, 1-propanol	22,6 ± 1,41 ^a	21,9 ± 2,98 ^{ab}	18,7 ± 2,14 ^b	40 (1)	9,0 - 28 (1)	Alcoólico (1)
2-Metil, 1-butanol	25,0 ± 3,31 ^a	24,1 ± 2,01 ^a	23,5 ± 2,23 ^a	65 (1)	15 - 150 (1)	Trufado, amêndoas (1)
3-Metil, 1-butanol	95,5 ± 25,3 ^a	80,79 ± 7,73 ^a	90,0 ± 16,8 ^a	30 (1)	45 - 490 (1)	Trufado, amêndoas (1)
Soma álcoois superiores	175,6 ± 32,9 ^b	208,8 ± 23,8 ^a	167,5 ± 10,0 ^b		150 - 550 (4)	
Metanol	15,8 ± 2,06 ^b	29,6 ± 10,5 ^a	18,4 ± 1,50 ^b	ne (1)	60 - 150 (1)	nd (1)
Hexanol	3,65 ± 0,33 ^a	3,46 ± 0,27 ^a	3,71 ± 0,31 ^a	8 (1)	0,3 - 12 (1)	Mel, cera de abelha (1)
2-feniletanol	18,9 ± 3,38 ^a	10,5 ± 0,82 ^b	16,7 ± 6,00 ^a	10 (1)	10 - 180 (1)	Floral, rosas (1)
ACETATOS						
Acetato de etila	15,8 ± 2,06 ^b	23,5 ± 6,01 ^a	18,4 ± 1,50 ^{ab}	160 (4)	50-120 (4)	Vegetal, frutado (4)
Acetato de isoamila	2,19 ± 0,20 ^a	2,94 ± 0,50 ^a	1,05 ± 0,82 ^b	0,03 (1)	0,003-8,1 (1)	Banana, pera (1)
Acetato de hexila	2,64 ± 0,17 ^a	2,59 ± 0,20 ^a	2,77 ± 0,16 ^a	0,67 (1)	Traços-4,3 (1)	Frutado (1)
Acetato de feniletila	0,28 ± 0,05 ^a	0,33 ± 0,09 ^a	0,32 ± 0,12 ^a	0,25 (1)	0,001-4,5 (1)	Rosas, mel, frutado, floral (1)
ESTERES ETÍLICOS						
Butirato de Etila	2,10 ± 0,14 ^a	2,20 ± 0,29 ^a	2,23 ± 0,20 ^a	0,020 (3)	0,069-0,371 (3)	Maçã (7)
Hexanoato de etila	1,74 ± 0,08 ^b	1,72 ± 0,17 ^b	2,13 ± 0,18 ^a	0,014 (3)	Traços-3,4 (3)	Maçã, banana, violeta (3)
Octanoato de etila	4,90 ± 0,15 ^a	5,07 ± 0,93 ^a	4,80 ± 0,24 ^a	0,005 (3)	0,05-3,8 (3)	Abacaxi, pera (3)
Decanoato de etila	0,58 ± 0,16 ^a	0,44 ± 0,20 ^{ab}	0,29 ± 0,17 ^b	0,200 (3)	Traços-2,1 (3)	Floral (3)
Succinato de dietila	5,49 ± 0,99 ^a	5,29 ± 1,19 ^a	4,80 ± 0,45 ^a	100 (6)	2 - 12 (6)	Frutado, melão (8)
ÁCIDOS VOLÁTEIS						
Ácido octanoico	8,29 ± 1,72 ^a	6,64 ± 2,46 ^a	8,76 ± 1,21 ^a	0,50 (3)	Traços-41 (3)	Oleoso, doce, manteiga (3)
Ácido decanoico	7,31 ± 0,43 ^a	6,89 ± 0,48 ^a	7,13 ± 0,43 ^a	10 (3)	Traços-54 (3)	Gorduroso, cítrico (3)
MONOTERPENOS						
(+) Limoneno	0,02 ± 0,007 ^a	0,04 ± 0,002 ^a	0,03 ± 0,009 ^a	0,02 (2)	0,006-0,06 (2)	Limão, laranja, cítrico (9)
(-) Óxido de rosa	0,15 ± 0,04 ^a	0,27 ± 0,21 ^a	0,13 ± 0,02 ^a	0,20 (7)	3-21 (1)	Rosas, lichia (7)
Linalol	0,28 ± 0,06 ^b	1,18 ± 0,52 ^a	0,38 ± 0,12 ^b	0,05 (5)	0,006-0,473 (4)	Rosa (4)
Acetato de linalila	0,09 ± 0,05 ^a	0,06 ± 0,04 ^{ab}	0,04 ± 0,02 ^b	ne	0,11 - 0,44 (10)	Cítrico, bergamota (10)
α -terpineol	1,19 ± 0,33 ^b	2,43 ± 0,62 ^a	0,76 ± 0,20 ^b	0,40 (4)	0,003-0,09 (4)	Lírio (4)
B-citronellol	0,24 ± 0,04 ^a	0,20 ± 0,07 ^a	0,22 ± 0,10 ^a	0,02 (4)	0,002 - 0,012 (4)	Citronela (4)
Nerol	0,62 ± 0,17 ^a	0,45 ± 0,12 ^{ab}	0,34 ± 0,05 ^b	0,40 (4)	0,004 - 0,135 (4)	Rosa (4)
Geraniol	0,76 ± 0,32 ^a	1,00 ± 0,72 ^a	0,38 ± 0,16 ^a	0,13 (4)	0,005 - 0,5 (4)	Rosa (4)

*Análise estatística ANOVA (n=3) 95% nível confiança, letras iguais na linha não possuem diferenças significativas.

*Limiar de percepção (mg.L^{-1}): ne (não encontrado), (1) Guth (1997), (2) Slegers et al. 2017, (3) Ferreira et al. (2000), (4) Ribéreau-Gayon *et al.* (2006b), (5) Vararu et al. 2015, (6) Berger *et al.* (2007), (7) Francis (2013), (8) Peinado et al. 2004, (9) Andreu-Sevilla *et al.* 2013, (10) Guedes de Pinho et al. (2007).

Todos os vinhos moscatos elaborados possuem concentrações de 2-fenietanol, acetato de isoamila, acetato de hexila, acetato de feniletila, butirato de etila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila ácido octanoico, ácido decanoico, limoneno, linalol, α -terpineol e geraniol superiores ao limiar de percepção (Tabela 2), o que contribui para a intensidade e complexidade aromática.

Dentre esses compostos, as variedades de uvas Moscatos, conhecidas como variedades "aromáticas", podem possuir até 6 mg.L^{-1} de monoterpenoides livres (Mateo & Jiménez, 2000). Estes monoterpenos, compostos de 10 átomos de carbono são os mais odoríferos (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006).

Os teores de 2- feniletanol (aroma floral e rosas) foram superiores nas variedades Moscato R2 e Moscato Branco. As concentrações de succinato de dietila foram superiores aos encontrados no estudo de Webber *et al.* (2014) em espumantes Chardonnay / Pinot Noir ($2,44$ a $4,4 \text{ mg.L}^{-1}$), visto que estas variedades não são aromáticas e as moscatos são variedades aromáticas.

Esses dados corroboram com os dados encontrados na literatura em relação aos monoterpenos onde as concentrações de linalol foram de $0,455$ e $0,473 \text{ mg.L}^{-1}$ para as variedades Moscatel de Alexandria e Moscatel Frontignan respectivamente, e concentrações de geraniol de $0,506 \text{ mg.L}^{-1}$ (Moscatel de Alexandria), $0,327 \text{ mg.L}^{-1}$ (Moscatel Frontignan) e $0,218 \text{ mg.L}^{-1}$ (Gewürztraminer) (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006).

No estudo de Lanardis *et al.* (2002), as concentrações médias de vinhos gregos das variedades Moscato Lefko e Moscato de Alexandria analisadas em duas safras foram de $0,055$ a $0,735 \text{ mg.L}^{-1}$, para linalol, $0,022$ a $0,370 \text{ mg.L}^{-1}$ para nerol, $0,064$ a $0,449 \text{ mg.L}^{-1}$ para geraniol, $0,002$ a $0,024 \text{ mg.L}^{-1}$ para citronelol e $0,002$ a $0,029 \text{ mg.L}^{-1}$ para α -terpineol, corroborando com os resultados encontrados em nosso estudo, principalmente para o linalol, nerol, geraniol e citronelol.

A análise de componentes principais (Figura 2) explica 63,56% dos resultados onde pode-se observar uma separação das 3 variedades estudadas.

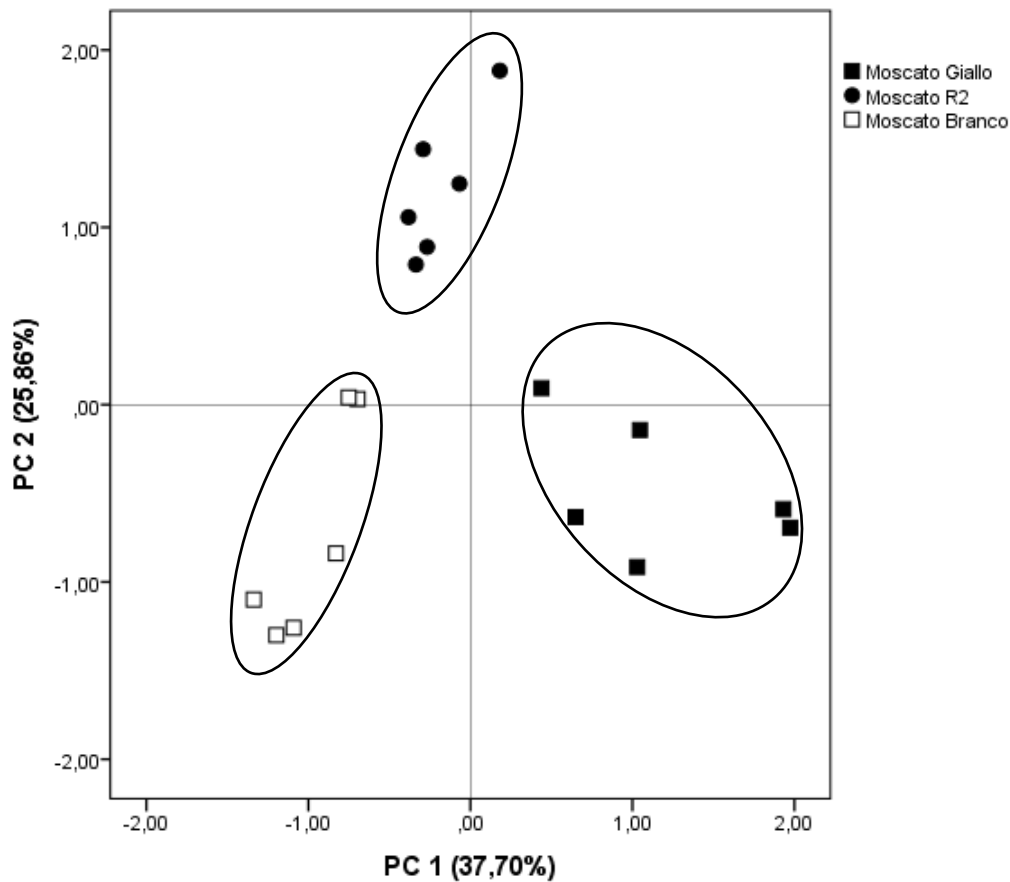


Figura 2: Análise de Componentes Principais (ACP) com base nos compostos voláteis com diferenças significativas em Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco.

CP1- correlação positiva com: acetato de etila, metanol, 1-propanol, acetato de isoamila, linalol e terpineol. Correlação negativa com: hexanoato de etila.

CP2- correlação positiva com decanoato de etila e nerol. Correlação negativa com etanal.

A componente principal 1 (PC 1) (Figura 2), separam a variedade Moscato Giallo da variedade Moscato Branco. Os vinhos elaborados com a variedade Moscato Giallo se destacaram pelas maiores concentrações de acetato de etila (vegetal, frutado), metanol, 1-propanol (pungente, porém está bem abaixo do limiar de percepção), acetato de isoamila

(banana, pera), linalol (rosas) e α -terpineol (lírio) e menor concentração de hexanoato de etila (banana, maçã, violeta); os vinhos elaborados com a variedade Moscato R2 está entre as duas variedades.

A componente principal 2 (PC 2), separaram os vinhos elaborados com a variedade Moscato R2 dos elaborados com Moscato Giallo e Moscato Branco, sendo que esse destaca-se pela maior concentração de decanoato de etila (floral) e nerol (rosas) e menor concentração de etanal (maçã verde) (Figura 2).

3.3 Análise sensorial

Na análise sensorial visual (Tabela 3), os vinhos não apresentaram diferenças significativas, tanto na intensidade de cor como na tonalidade de cor amarela, estando todos com uma baixa intensidade, o que é muito importante para um vinho branco de qualidade.

Os vinhos Moscato R2 e Moscato Giallo possuem uma tendência a apresentarem maior intensidade aromática e o vinho elaborado com Moscato R2 apresentou uma tendência a uma maior qualidade aromática. Os vinhos Moscato R2 e Moscato Giallo obtiveram maiores notas de pêssego, maçã, pera, pitanga e maracujá. Os vinhos elaborados com Moscato R2 se destacaram-se também pelos aromas florais de jasmin e rosas, além dos aromas de erva-doce e mel. Os vinhos elaborados com Moscato Giallo destacaram-se nas notas de batata doce, levedura e arruda e os vinhos elaborados com Moscato Branco possuem maior nota de abacaxi.

Culbert *et al.* (2018), realizaram análise sensorial de 24 espumantes moscatéis australianos e também encontraram aromas frutados como frutas tropicais (maçã, pera), florais, mel e confeitaria. Encontraram também espumantes com aromas de carvalho,

lenhosos, levedura, pão e querosene, podendo estar relacionados com aromas de evolução ou espumantes mais velhos.

Tabela 3: Média dos valores médios das intensidades de aroma percebidas nos vinhos Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco.

		Moscato R2	Moscato Giallo	Moscato Branco
Visual				
Intensidade de cor		2,48 ± 0,08 ^a	2,57 ± 0,3 ^a	2,53 ± 0,03 ^a
Tonalidade de cor amarela		2,32 ± 0,06 ^a	2,32 ± 0,4 ^a	2,43 ± 0,08 ^a
Olfativo				
Intensidade de aroma		3,25 ± 0,13 ^a	3,28 ± 0,37 ^a	2,90 ± 0,20 ^a
Qualidade do aroma		3,15 ± 0,44 ^a	2,68 ± 0,38 ^a	2,85 ± 0,18 ^a
Frutas cítricas	Cítricas	2,17 ± 0,13 ^a	1,65 ± 0,0 ^b	1,93 ± 0,26 ^{ab}
	Abacaxi	0,87 ± 0,30 ^a	0,88 ± 0,41 ^a	0,92 ± 0,15 ^a
Frutas tropicais	Mamão	1,17 ± 0,47 ^a	1,28 ± 0,21 ^a	1,03 ± 0,18 ^a
	Goiaba	0,55 ± 0,18 ^a	0,55 ± 0,09 ^a	0,28 ± 0,10 ^a
	Maracujá	0,95 ± 0,44 ^a	0,72 ± 0,12 ^a	0,72 ± 0,21 ^a
	Manga / Melão	0,65 ± 0,15 ^a	0,78 ± 0,08 ^a	0,48 ± 0,15 ^a
	Pitanga	0,82 ± 0,18 ^a	0,52 ± 0,20 ^{ab}	0,32 ± 0,08 ^b
Frutas de árvores	Pêssego	1,30 ± 0,55 ^a	1,03 ± 0,08 ^a	0,68 ± 0,14 ^a
	Maçã	1,50 ± 0,43 ^a	1,45 ± 0,22 ^a	1,18 ± 0,28 ^a
	Pera	0,9 ± 0,23 ^{ab}	0,97 ± 0,16 ^a	0,53 ± 0,08 ^b
Floral	Jasmim	1,47 ± 0,40 ^a	1,20 ± 0,05 ^a	1,07 ± 0,03 ^a
	Rosas	1,60 ± 0,13 ^a	1,20 ± 0,3 ^a	1,07 ± 0,25 ^a
	Gerânio	1,00 ± 0,09 ^a	1,25 ± 0,48 ^a	1,10 ± 0,09 ^a
Ervas-de-quintal	Arruda	0,67 ± 0,18 ^a	0,95 ± 0,1 ^a	0,72 ± 0,21 ^a
	Mangericão	0,57 ± 0,28 ^a	0,58 ± 0,16 ^a	0,42 ± 0,10 ^a
	Alecrim	0,65 ± 0,0 ^{ab}	0,70 ± 0,13 ^a	0,45 ± 0,10 ^b
	Erva-doce	1,20 ± 0,15 ^a	0,78 ± 0,23 ^a	1,07 ± 0,33 ^a
Espiciarias / Cravo-da-índia		0,20 ± 0,13 ^a	0,15 ± 0,05 ^a	0,23 ± 0,06 ^a
Aromas doces	Mel	1,48 ± 0,39 ^a	1,22 ± 0,33 ^a	0,95 ± 0,13 ^a
	Batata doce	1,08 ± 0,38 ^a	1,57 ± 0,64 ^a	0,98 ± 0,18 ^a
	Caramelo	0,83 ± 0,15 ^a	0,6 ± 0,23 ^a	0,62 ± 0,13 ^a
Microbiológico	Levedura	0,83 ± 0,19 ^a	1,43 ± 0,63 ^a	1,05 ± 0,23 ^a
	Pão	0,63 ± 0,19 ^a	0,82 ± 0,15 ^a	0,53 ± 0,13 ^a
	Queijo	0,57 ± 0,24 ^a	0,82 ± 0,35 ^a	0,37 ± 0,08 ^a
Herbáceo	Feno/palha	1,08 ± 0,45 ^a	1,12 ± 0,33 ^a	1,17 ± 0,08 ^a
	Menta	0,7 ± 0,26 ^a	0,65 ± 0,28 ^a	0,47 ± 0,15 ^a
	Vegetal	0,75 ± 0,35 ^a	0,95 ± 0,15 ^a	0,98 ± 0,16 ^a
Volátil / Acético		0,05 ± 0,09 ^a	0,03 ± 0,06 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
Odor indesejável		0,12 ± 0,03 ^a	0,68 ± 0,50 ^a	0,03 ± 0,03 ^a
Gustativo				
Intensidade do sabor		3,07 ± 0,25 ^a	3,18 ± 0,06 ^a	2,92 ± 0,12 ^a
Persistência		2,90 ± 0,38 ^a	3,00 ± 0,09 ^a	2,88 ± 0,20 ^a
Nitidez/Franqueza		2,75 ± 0,39 ^a	2,92 ± 0,18 ^a	2,67 ± 0,23 ^a
Acidez		3,67 ± 0,20 ^{ab}	3,27 ± 0,29 ^b	3,80 ± 0,05 ^a
Amargor		0,75 ± 0,18 ^a	0,70 ± 0,05 ^a	0,70 ± 0,10 ^a
Gosto indesejável		0,35 ± 0,15 ^a	0,58 ± 0,45 ^a	0,23 ± 0,10 ^a
Qualidade Geral (Escala de 0 a 100)		83,63 ± 1,64 ^a	83,1 ± 2,04 ^a	82,6 ± 0,87 ^a

*Análise estatística ANOVA (n=9) 95% nível confiança, letras iguais na linha não possuem diferenças significativas.

Para uma melhor distinção dos aromas, elaborou-se um gráfico (Figura 3), com a soma das médias das intensidades percebidas na Tabela 4, onde os aromas foram agrupados em: frutas cítricas (cítricas e abacaxi), frutas tropicais (mamão, goiaba, maracujá, manga/ melão e pitanga) frutas de árvores (pêssego, maçã e pera), floral (jasmin, rosas e gerânio), ervas-de-quintal (arruda, manjerição, alecrim e erva-doce), aromas doces (mel, batata doce e caramelo) e microbiológicos (levedura, pão e queijo).

	Moscato R2	Moscato Giallo	Moscato Branco
Intensidade de aroma	3,25	3,28	2,90
Qualidade do aroma	3,15	2,68	2,85
Frutas cítricas	3,04	2,53	2,85
Frutas tropicais	4,14	3,85	2,83
Frutas de árvores	3,70	3,45	2,39
Floral	4,07	3,65	3,24
Ervas de quintal	3,08	3,02	2,65
Aromas doces	3,40	3,38	2,55
Microbiológicos	2,03	3,07	1,95
Herbáceo	2,53	2,72	2,62

Os vinhos elaborados com a variedade Moscato R2 apresentaram maiores intensidades de frutas cítricas, frutas tropicais, frutas de árvores e notas florais. Os vinhos da variedade Moscato Giallo apresentaram maior intensidade de aromas microbiológicos. Os vinhos da variedade Moscato Branco apresentaram menores intensidades para todos os aromas descritos, porém na análise gustativa destacou-se pela maior acidez e menor gosto indesejável que os demais.

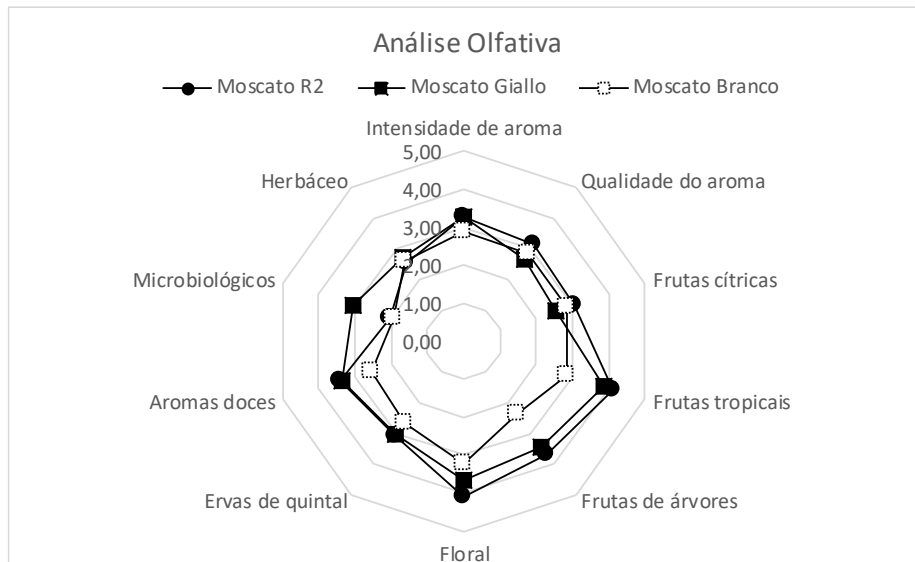


Figura 3: Média da soma das intensidades dos aromas percebidos nos vinhos Moscato R2, Moscato Giallo e Moscato Branco.

Os vinhos da variedade Moscato Giallo apresentaram maiores intensidades de sabor, persistência e nitidez e menor acidez que as demais variedades, porém sem diferenças significativas.

Na qualidade geral, os vinhos apresentaram notas de qualidade muito boa (80 a 84), demonstrando vinhos bem elaborados e agradáveis ao consumidor.

4. Conclusão

Os vinhos elaborados com as variedades Moscato R2 e Moscato Giallo apresentaram maiores intensidades aromáticas que os vinhos elaborados com a variedade Moscato Branco, destacando-se as notas de frutas cítricas para as variedades Moscato R2 e Moscato Branco, pera e pitanga para as variedades Moscato Giallo e Moscato Branco e alecrim para as variedades Moscato R2 e Moscato Giallo. A variedade Moscato Branco, apesar de menores

intensidades aromáticas, apresentou maior acidez em boca e menor intensidade de aromas indesejáveis.

Nas análises dos compostos voláteis, os vinhos elaborados com a variedade Moscato R2 apresentaram maiores concentrações de 2-feniletanol (floral e rosas), acetato de isoamila (banana e pera) e nerol (rosas); os vinhos elaborados com Moscato Giallo destacaram-se pelas maiores concentrações de 1-propanol (pungente), acetato de isoamila (banana e pera), acetato de etila (vegetal, frutado), linalol (rosa), α -terpineol (lírio) e nerol (rosa) e os vinhos Moscato Branco maiores concentrações de 2-feniletanol (floral e rosas), hexanoato de etila (maçã, banana e violeta) e acetato de etila (vegetal, frutado).

A composição aromática constituinte de cada variedade é diferente e muito característica, tanto sensorialmente como quimicamente. Estas variedades são as mais utilizadas na elaboração de espumantes moscatéis devido à sua grande intensidade e complexidade aromática, sendo que a mistura delas torna o espumante moscatel um produto agradável e único. Torna-se indispensável o conhecimento dessas características para elaborar espumantes moscatéis ou até mesmo vinhos tranquilos para aproveitar ao máximo os aromas e atributos que cada variedade tem para contribuir para um produto de excelência.

5 Referências Bibliográficas

Alves, R. F.; Nascimento, A. M. D.; Nogueira, J. M. F. (2005). Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques. **Anal. Chim. Acta.** 546 (1): 11-21.

- Andreu-Sevilla, A. J.; Mena, P.; Martí, N.; Viguera, C.G.; Carbonell-Barrachina, A.A. (2013). Volatile composition and descriptive sensory analysis of pomegranate juice and wine. **Food R. Int.** 54: 246 – 254.
- Berger, R.G. (2007). **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany. 647 p.
- Brasil, (2005). IN nº 24 de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. Revoga a portaria nº 77 de 27 de novembro de 1986. **Disponível (online)** www.agricultura.gov.br (04 abr. 2018).
- _____. **Decreto nº 8198 de 20 de fevereiro de 2014**. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Disponível (online)** https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2014/decreto/d8198.htm (03 set. 2017).
- Burin, L.P.; Tonietto, J. (2011). Comportamento agrônômico da cultivar Moscato Branco e do clone Moscato R2 nas safras de 2010 e 2011 no município de Farroupilha, RS. In: **29º Encontro de Iniciação Científica e 5º Encontro de pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho**, Bento Gonçalves, Brasil. 44.
- Cadastro vitícola, (2015). **Disponível (online)** <http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/home.html> (30 dez. 2017).
- Chavarria, G.; Santos, H.P.; Zanús, M.C.; Zorzan, C.; Marodin, G.A.B. (2008). Caracterização físico-química do mosto e do vinho Moscato Giallo em videiras cultivadas sob cobertura de plástico. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, 43 (7): 911-916.
- Camargo, U.A. (2003). Espécies e cultivares. **Uva para processamento e produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. Frutas do Brasil. 34: 34-44.

- Culbert, J.A.; Ristic, R.; Ovington, L.A.; Saliba, A.J.; Wilkinso, K.L. (2018). Sensory profiles and consumer acceptance of diferente styles of Australian Moscato. **Austr. J. Grape Wine R.** 24: 96–104.
- De Oliveira, L.C.; De Souza, S.O.; Mamede, M.E.O. (2011). Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil. **Ver. Inst. Adolfo Lutz.** 70 (2): 158-67.
- Del Sávio, R. (2011). Caracterização bioclimática e agrônômica de vinhedos de Moscato Branco no município de Farroupilha, como subsídio ao desenvolvimento de uma indicação geográfica. **Monografia.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Rio Grande do Sul – Campus Bento Gonçalves, Brasil.
- Duchêne, E.; Butterlin, G.; Claudel P.; Dumas, V.; Jaegli, N.; Merdinoglu, D. (2009). A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocates with a major quantitative trait loci for terpenol content. **Theor. Appl. Genet.** 118: 541–552.
- Ferreira, V.; López, R.; Cacho, J.F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. **J. Scien. Food Agric.** 80: 1659-1667.
- Flanzy, C. (2000). **Enología: fundamentos científicos y tecnológicos.** 1 ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 783p.
- Francis, L. (2013). **Fermentation-derived aroma compounds and grape-derived monoterpenes.** The Australian Wine Research Institute in 15th Australian Wine Industry Technical Conference.
- González-Barreiro, C.; Rial-Otero, R.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gándara, J. (2015). Wine aroma compounds in grapes: A Critical Review. **J. Crit. Rev. Food Scien. Nutr.,** 55 (2).
- Guarino, A.; Guarino, L. (2016). Dietil succinato. Wine History. Periodico online de viticoltura ed enologia. **Disponível (online)** <http://www.winehistory.it/web/2016/01/19/dietil-succinato/> (16 jan. 2018).

- Guedes De Pinho, P.; Falqué, E.; Castro M; Oliveira E Silva, H.; Machado, B.; Silva Ferreira, A.C. (2007). Further insights into the floral character of Touriga Nacional Wines. **J. Food Scien.** 72 (6).
- Guerra, C.C.; Zanus, M.C. (2004). I Workshop Internacional de Pesquisa. A Produção de vinhos em Regiões Tropicais. Características analíticas e sensoriais de vinhos produzidos no Vale do Submédio São Francisco - Brasil. **Disponível (online)** www.cnpqv.embrapa.br/publica/anais/wip2004/185.pdf (17 jan. 2018).
- Hosry, L.; Auezova, L.; Sakr, A.; Hajj-Moussa, E. (2009). Browning susceptibility of white wine and antioxidant effect of glutathione. **Int. J. Food Sci. Technol.** 44: 2459-2463.
- International Organization for Standardization (1977). ISO 3591. **Sensory analysis – apparatus – wine-tasting glass. International Organization for Standardization:** Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization (2007). ISO 8589. **Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms. International Organization for Standardization:** Geneva, Switzerland.
- Lanardis, P.; Salaha, M.J.; Tzourou, I.; Tsoutsouras, E.; Karagiannis, S. (2002). Composés volatils de raisins et de vins issus de deux cépages Muscat cultivés dans des îles Grecques. **J. Int. Sci. Vigne Vin**, 36 (1): 39-47.
- Lesschaeve, I. (2007). Sensory Evaluation of Wine and Commercial Realities: Review of Current Practices and Perspectives. **Am. J. Enol. Vitic.** 58: 2.
- Lima, N.E.F. (2012). Perfil fenólico e atividade antioxidante de vinhos Goethe - caracterização e evolução durante o armazenamento em garrafa. **Dissertação de mestrado.** Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis -SC, Brasil.
- Marais, J. (1983). Terpenes in the Aroma of Grapes and Wines: A Review. **S. Afri. J. Enol. Vitic.** 4 (2): 49-58.

- Mateo, J. J.; Jiménez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. **J. Chrom.** 881: 557-567.
- Noble, A.C.; Howe, P.A. (1990). **Sparkling Wine Aroma Wheel**. ©Copyright. P.O. Box 1817, Healdsburg, CA 95448.
- OIV, 2009a. OIV standard for international wine and spirituous beverages of vitivinicultural origin competitions. **Disponível (online)** <http://www.oiv.int/public/medias/4661/oiv-concours-332a-2009-en.pdf>> (31 jan. 2018).
- OIV, 2009b. OIV-MA-AS2-10: R2009. Folin-Ciocalteu Index. **Compendium of International methods of analysis – OIV**.
- Paixão, N.; Perestrelo, R.; Marques, J.C.; Câmara, J.S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. **Food Chem.** 105: 204–214.
- Peinado, R. A.; Moreno, J. A.; Muñoz, D.; Medina, M.; Moreno, J. (2004). Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyol sin wine by direct injection. **J. Agric. Food Chem.**, 52: 6389–6393.
- Peña, R.M.; Barciela, J.; Herrero, C.; García-Martín, S. (2005). Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. **Talanta.** 67: 129-135.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (2006). **Handbook of Enology 2. The Chemistry of wines, stabilization and treatments**. 2nd Edition, John Wiley and Sons Ltd., Chichester, England.
- Ritschel, P.; Gomes, F.G.G.; Ceriotti, I.; Longhi, P.; Maia, J.D.G.; Zanús, M.C.; Tonietto, J.; Ferreira, M.E. (2012). Genetic analysis of “Moscatto branco” and other muscat grapes held by the grape germplasm bank in Brazil. **Proc Int Crop Sci Congress**, Bento Gonçalves, Brazil. 3128.

- Rizzon, L. A. (2010). **Metodologia para análise de vinho**. Embrapa Uva e Vinho, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 116p.
- Rizzon, L. A.; Dall'agnol, I. (2009). **Vinho Branco**. Coleção Agroindústria Familiar. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Uva e Vinho. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília.
- Rizzon, L. A.; Gasparin, A. M. (2008). Sistema de produção de vinho moscatel espumante. Cultivares recomendadas. Sistema de produção, 17. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves. **Disponível (online)**
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante/introducao.htm> (13 jan. 2018).
- Rizzon, L.A.; Zanus, M.C.; Miele, A. (1998). Evolução da acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícolas de Rio Grande do Sul. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 18: 179-183.
- Slegers, A.; Angers, P.; Pedneault, K. (2017). Volatile Compounds from Must and Wines from Five White Grape Varieties. **J. Food Chem. Nanotech.** 3: (1), 8-18.
- Simpson, R.F.; Miller, G.C. (1983). Aroma composition of aged Riesling wine. **Vitis**. 22:51-63.
- Tonietto, J.; Alves, M.E.B. (2016). 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 – Brasil.
- Vararu, F.; Moreno-García, J.; Zamfir, C.I.; Cotea, V.V.; Moreno, J. (2016). Selection of aroma compounds for the differentiation of wines obtained by fermenting musts with starter cultures of commercial yeast strains. **Food Chem.** 197: 373-381.
- Vivai Cooperativi Rauscedo, 2018. Moscato Giallo B. **Disponível (online)**
http://catalogoviti.politicheagricole.it/scheda_clone.php?q=154-003. (15 jan. 2018).
- Webber, V.; Dutra, V.S.; Spinelli, F.R.; Marcon, A.R.; Carnieli, G.J.; Vanderlinde, R. (2014). Effect of glutathione addition in splarkling wine. **Food Chem.** 159: 391 - 398.

Welke, J.E.; Zanus, M.; Lazarotto, M.; Schmitt, K.G.; Zini, C.A. (2012). Volatile characterization by multivariate optimization of headspace-solid phase microextraction and sensorial evaluation of chardonnay base wines. **J. Braz. Chem. Soc.** 23 (4): 678-687.

Westphalen, S.L. (1977). Bases ecológicas para a determinação de regiões de maior aptidão vitícola no Rio Grande do Sul. In: Simposio Latino Americano De La Uva Y Del Vino. Montevideo. **Anales.** Montevideo: Ministerio de Industria y Energia: Laboratorio Tecnológico del Uruguay. Caderno Técnico, 38: 89-101.

Zanus, M. C. Espumante Moscatel - o sabor certo para sua sobremesa. (2014). **Disponível (online)** <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/moscatel.html>>. (01 abr. 2018).

3.4 ARTIGO 4- Characterization of selected volatile compounds in Brazilian and Italian Muscat sparkling wines using CG-FID profiling and sensory analysis

CHARACTERIZATION OF SELECTED VOLATILE COMPOUNDS IN BRAZILIAN AND ITALIAN MUSCAT SPARKLING WINES USING CG-FID PROFILING AND SENSORY ANALYSIS

Ângela Rossi Marcon^a, Ana Paula Longaray Delamare^a, Luisa Vivian Schwarz^a, Luca Pasini^b, Andrea Versari^b, Giuseppina Paola Parpinello^b, Sergio Echeverrigaray^a

^a Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, R. Francisco G. Vargas 1130, 95070-560, Caxias do Sul (RS), Brazil

^b Department of Agriculture and Food Sciences, University of Bologna, Piazza Goidanich 60, 47521, Cesena (FC), Italy

ABSTRACT

In the last decades, Muscat sparkling wines experienced an increasing interest in Brazil, as well as in other country all-over the world. In this context, the aim of the present study was to compare Muscat sparkling wines from the traditional Asti region (Italy) and the new geographical indication "IG Farroupilha" (Brazil). In this study, 23 commercial Muscat sparkling wines (15 from Asti, and 8 from Farroupilha) were evaluated in terms of their physicochemical characteristics, volatile composition, and sensory profiles. Sample characterization of the aromatic profile by headspace-solid phase microextraction and gas chromatography/flame ionization detector yielded a total of 32 targeted components in Muscat wines. The multivariate analysis of data differentiates the Muscat sparkling wines based on origin: Brazilian or Italian. The main quantitative differences between wines included residual sugar, sulfite content, isoamyl acetate, hexyl acetate, and terpenes. The sensory analysis confirmed that Brazilian wines were less sweet, fresher and more aromatics in terms of array of odors, whereas the Italian wines were more intense at smell, complex and sweet. These peculiarities can be associated to the terroir present in each region, including technological processes that may be tailored to fit different wine styles for particular markets.

Keywords: muscat sparkling wine, target approach, wine aroma, sensory profiles, multivariate statistics.

1. Introduction

Muscat sparkling wines have their official origin in the province of Asti, Piemonte, Italy, in 1850. With approximately 9000 ha of vineyards, and a production of 8.5 million bottles annually, this traditional muscat producing region obtained its DOC (Denominazione di Origine Controllata) in 1967 and its DOCG (DOC Garantita) in 1993. The Italian Asti DOCG defines two wine styles: Asti or Asti “spumante”, and Moscato d’Asti (Italy, 2011; Consorzio per la tutela dell’Asti, 2014; Eberle, Bezzo & Malerba, 2015). Although both wines are made with the same grape variety and follow similar processes, the Asti muscat sparkling wines are more alcoholic, less sweet, and with a richer perlage than Moscato d’Asti.

Brazilian muscat sparkling wines have the same process of elaboration as the Asti or Asti “spumante” wines, and are locally known as “Moscatel Espumante”. Brazilian muscat sparkling wines production started in 1978 at the “Serra Gaúcha” region (Rio Grande do Sul State), particularly at Farroupilha County, which obtained its Indication of Source (IS) in 2015. With approximately 2.5 million bottles annually, Farroupilha is responsible for 50% of Brazilian production of muscat sparkling wines (Rizzon, Meneguzzo & Gasparin, 2008a; Ibravin, 2017). Statistical data showed that the Brazilian production of muscat sparkling wines increased 346% in a decade attaining 4.5 million liters in 2016 (Ibravin, 2017). The success of muscat sparkling wines in Brazil is associated to the tropical climate of the country, that propitiate the consumption of sweet, fresh and cold drinks (Zanus, 2014), and the characteristics of Brazilian consumers, young people with low experience in wine consumption. The preference of young and less knowledgeable people for sweet and fresh wines has been pointed out by Dodd, Kolyesnikova & Wilcox (2010), and Culbert, Ovington, Saliba & Wilkinson (2018).

Muscat wines are made with Moscato grapes, a group of very aromatic varieties, and their typical aromas are attributed to the presence of different terpenic derivatives, including linalool, nerol, geraniol, α -terpineol, hotrienol, and rose oxide (Palomo, Coelho, Maroto, Viñas & Cabezudo, 2006). Furthermore, esters, acids, C13-norisoprenoids and alcohols have been identified as molecules contributing to the aroma of Muscat wines produced at the “Serra Gaúcha” region (Bordiga, Rinaldi, Locatelli, Piana, Travagli, Coisson & Arlorio, 2013; Ruiz-Bejarano, Mejías, Doderó & Barroso, 2013). The role of these compounds in grape and wine aroma depends on their concentration, odor thresholds, and interaction with other compounds (Ruiz-García, Hellín, Flores & Fenoll, 2014).

Asti Muscat sparkling wines are made from Moscato Bianco grapes (Muscat Blanc à Petits Grains), while Farroupilha Moscato sparkling wines are produced with Moscato Branco clone R2 e Moscato Branco, and can include, in small proportion (<15%), some other varieties like Moscato Giallo, Moscato Bianco and Malvasia of Candia that contribute with their particular aromatic and flavor characteristics. Agronomical, phenological, and molecular data showed that Moscato Branco, cultivated in Brazil since 1930, differs from the other Moscato and Malvasia varieties (Ritschel, Gomes, Ceriotti, Longhi, Maia, Zanus, Tonietto & Ferreira, 2012).

Brazilian and Asti sparkling wines uses a Charmat-Martinotti method that involves a single fermentation in stainless steel pressurized tanks that are closed at the end of fermentation to retain carbonic gas. The characteristic sweetness of muscat sparkling wines is obtained by fermentation arrest using chilling and filtering processes (Italy, 2011; Rizzon & Gasparin, 2008).

The aim of this study was to characterize the volatile compounds, physicochemical and sensorial characteristics of commercial Muscat wines from two viticultural regions: Asti (Italy) and Farroupilha (Brazil), the only one with geographical indication.

2. Material and Methods

2.1. *Samples*

A total of 23 Muscat sparkling commercial wines including eight samples elaborated by different wineries of the Association of Farroupilha Wine Producers (AFAVIN), Farroupilha, Rio Grande do Sul, Brazil, and fifteen DOCG Muscat sparkling wines from the Asti region, kindly provided by the Asti Consortium (Piemonte Italy) were analyzed in this study. Brazilian and Italian samples were produced and bottled in 2015 and 2013/2014, respectively, and analyzed between September and October 2015.

2.2. *Physicochemical analysis*

The following physicochemical parameters were analyzed in triplicate for each sample: ethanol content (% v/v), reducing sugars and total reducing sugars (g L⁻¹), total and volatile acidity (meq L⁻¹), free and total SO₂ (g L⁻¹), pH, density, dry extract (g L⁻¹), color index (AU 420nm), and total polyphenols (mg L⁻¹), were evaluated using the methods recommended by OIV (2015).

2.3 Volatile compounds

The analysis of selected volatile compounds (esters, higher alcohols and terpenes) was performed on a gas chromatograph HP 7820A Agilent Technologies, serie MS 5977, with a capillary column HP Innowax (30 m × 250 μm × 0.25 μm), a flame ionization detector (FID), and coupled to an automatic injector. The compounds were identified from comparison of retention times and authentic standards from Sigma–Aldrich.

For the determination of higher alcohols, acetaldehyde, ethyl acetate and methanol it was added 70 μL of 4-methyl-2-pentanol (internal standard, 5 g x L⁻¹), into 5 mL of a distilled sample. The injection (1.0 μL) was performed in split mode to 2.0 mL x min⁻¹ at 220 °C, flow 1:1. The carrier gas was the hydrogen at 2.0 mL x min⁻¹, with nitrogen as auxiliary gas at 37 mL x min⁻¹. The oven temperature was adjusted to 40 °C for 5 min, 40–100 °C at 3 °C x min⁻¹, 100–220 °C at 7 °C x min⁻¹, 220 °C for 5 min. The combustion was maintained with synthetic air at 350 mL x min⁻¹ and hydrogen at 35 mL x min⁻¹ (Webber, Dutra, Spinelli, Marcon, Carnieli & Vanderlinde, 2014).

For the determination of esters, acetates, alcohols and volatile acids, in 50 mL of wine was added 500 μL of 3-octanol 200 mg x L⁻¹, as internal standard and 70 μL of phosphoric acid (1:3). The sample was subjected to three liquid/liquid row extractions (4:2:2) with a mixture of diethyl ether/n-hexane (1:1). The injection (1.0 μL) was performed in split mode at 30:1 at 240 °C. The carrier gas was hydrogen at 2.0 mL x min⁻¹, with nitrogen as auxiliary gas at 37 mL x min⁻¹. The oven temperature was 40 °C for 5 min; 40–230 °C at 3 °C x min⁻¹, 230 °C for 20 min. The combustion was maintained with synthetic air-flow at 350 mL x min⁻¹ and hydrogen at 35 mL x min⁻¹. The detector temperature was 230 °C (Webber, Dutra, Spinelli, Marcon, Carnieli & Vanderlinde, 2014).

The terpenes concentration (limonene, linalol, α-terpineol, citronelol, nerol, geraniol and nerolidol) was analyzed using micro-solid phase extraction (SPME) with Polyacrilat fiber, according with Peña, Barciela, Herrero & García-Martín (2005) and Soares, Welke, Nicolli, Zanus, Camarão, Manfroi & Zini (2015). Briefly, into 20 ml of wine were add 5g of NaCl and 80 μL of internal standard (3-octanol) 250 mg. L⁻¹. The sample was placed in a hermetic vessel and continuous magnetic stirred at 40°C for 5 minutes. After this time, the fiber DVB/CAR/PDMS 50/30 was inserted on the space above the liquid (headspace) keeping stirring at 40°C for 30 min. After the extraction, the fiber was injected into the GC injector in desorption permanency for 5 minutes split less mode, with helium at a flow of 2,0 mL.min⁻¹. The oven temperature was kept at 50 °C for 1 min and it was heated up to 60° at a rate

10°C.min⁻¹ for 1 min, and then 25 °C.min⁻¹, for 8 min, reaching a final temperature of 200°C, flow rate was 1 mL.min⁻¹. The injector temperature was kept at 250°C and the detector at 280°C.

2.4. *Sensory analysis*

The sensory evaluation was conducted by a group of ten Italian enologists following a specific evaluation sheet for Muscat sparkling wines. The judges evaluated a set of descriptors that included visual (color intensity, foam intensity, and foam quality), olfactory (aroma intensity, equilibrium, quality, citric fruits, tropical fruits, peach, apple, pineapple, pear, white flowers, red flowers, mint, basil, rosemary, fennel, spices, honey, sweet potato, caramel, yeast, bread/toast, cheese/lactic, vegetal, hay, acetic and gustatory (flavor intensity, sweetness, acidity, bitterness, persistence, and body/structure) characteristics. To evaluate the descriptive sensory attributes the judges used an intensity scale from 0 (no perception) to 10 (high perception or intensity). The wines were presented to the panelists at 8 to 10°C in standard wine-tasting glasses (ISO 3591, 1977). Wines were tasted in triplicate in a randomized order, and mineral water was provided for rinsing between each session. Judgments were separated in three groups and the median of each group used as a replication for statistical analysis of variance and mean comparisons.

2.5. *Statistical analysis*

The results were statistically analyzed by the ANOVA test, the Tukey test of multiple comparison of means, and the principal component analysis (PCA), using SPSS software.

3. Results and discussion

3.1. *Physicochemical analysis*

The physicochemical analyses of sparkling wines are presented in Table 1. The Brazilian Muscat sparkling wines showed significant higher ethanol concentration, total and free SO₂ concentration, and volatile acidity, whereas on the Italian wines showed higher reductive sugar, total sugar, dried extract and color intensity (Table 1). Considering that the Italian wines were one year older than those from Brazil, their higher color intensity was expected and can be partly due to the chemical oxidation of phenolic compounds with time. This hypothesis is corroborated by the low concentration of the antioxidant sulfur dioxide in the Italian samples.

Despite the variability, the results showed that all the wines respected the quality standard required by the Brazilian (Rizzon, Meneguzzo & Gasparin, 2008b; Brazil, 2014) and Italian (Italy, 2011) legislations.

Principal component analysis (Fig. 1) based on physico-chemical characteristics showed that Italian and Brazilian Muscat sparkling wines can be separated by simply the first component (PC1) that explained 44.65% of the variability. This component was highly correlated with wine density (0.878), dry extract (0.835), reductive (0.910) and total (0.908) sugar concentration, and ethanol concentration (-0.874).

The lower alcoholic and higher residual sugar concentrations of Italian Muscat sparkling wines indicated an earlier fermentation arrest that reflects different style of the products. While Italian samples are defined as sweet wines that combine preferably with desserts, the Brazilian wines are often consumed as a first course drink harmonizing with appetizers, first plates, and eventually desserts. Moreover, some characteristics of Muscat wines can be attributed to grape varieties and climatic differences between the two regions. In this view, Zanus (2014) pointed out that the highland of South Brazil (“Serra Gaúcha” region) give higher equilibrium between sweetness and acidity that contributes to the characteristic joviality and freshness of Brazilian Muscat sparkling wines.

3.2. Volatile compounds

Principal component analysis was used to analyze the data for the 32 identified compounds in the 23 samples of muscat sparkling wines (Fig. 2). The first three principal components (PC₁₋₃) that explained 61% of the variance were able to separate the samples in three groups: Group I included the eight Brazilian wines, while Italian wines were separated in Group II (nine samples) and Group III (six samples). PC₁, that separated Brazilian (Group I) from Italian wines (Group II and III), positively correlated with isoamyl acetate (0.925), hexyl acetate (0.868), ethyl hexanoate (0.864), octanoic acid (0.761), decanoic acid (0.755), limonene (0.814), rose oxide (0.802), linalool (0.776), and citronellol (0.743) content. The Group III was separated by PC₂ and PC₃ that positively correlated with hexanol (0.774), ethyl octanoate (0.786), and hexanoic acid (0.808), and 2-phenylethanol (0.815), phenylethyl acetate (0.892), and nerol (0.881) content, respectively. The average concentration (mg.L⁻¹) of the 32 compounds in each group is presented in Table 2.

Although below its sensory threshold level, the Brazilian wines showed significant higher ethanal (acetaldehyde) concentration than the six Italian wines of Group III that may

reflect a partial inhibition of alcohol dehydrogenase, and acetaldehyde stabilization by the higher sulfur dioxide concentration of these wines (Ebeler & Spaulding, 1998; Frivik & Ebeler, 2003). At low concentration, ethanal is considered a positive aromatic compound with a fruity aroma that reminds cut apple, nutty and sherry (Liu & Pilone, 2000). Conversely, methanol concentration was significantly higher in Italian wines of Group III (Table 2), but the values within the limits established by Italian legislation (Italy, 2011).

Higher alcohols are produced by yeasts during fermentation through the degradation of amino acids (Nicolli, Welke, Closs, Caramão, Costa, Manfroi & Zini, 2015). At low concentration (less than 300 mg.L⁻¹), as detected in both Brazilian and Italian muscat wines, higher alcohols can increase wine aroma complexity (Rapp & Mandery, 1986; Swiegers & Pretorius, 2005). Among higher alcohols, just 3-metil-1-butanol (isoamyl alcohol) and 2-phenylethanol exhibited concentrations over their odor thresholds, thus contributing individually to wine aroma. Brazilian and Italian muscat wines did not show significant differences on the concentration of these alcohols, but six of the fifteen Italian wines (Group III) exhibited very high concentrations of 2-phenylethanol (> 28 mg x L⁻¹), a compound with an aroma descriptor of roses, sweet, and honey (Guth, 1997).

During wine fermentation, yeasts produce acetate esters by the enzymatic esterification of higher alcohols with acetyl coenzyme A (Clarke, 2003; Ribéreau-Gayon, Glories, Maujean & Dubourdieu, 2006). These compounds are very important in relation to the sensory characteristics of wines, as they have fruity descriptors and low odor thresholds (Welke, Zanús, Lazarotto, Pulgati & Zini, 2014). Brazilian muscat sparkling wines showed higher concentrations of isoamyl acetate and hexyl acetate than Italian wines. The difference is particularly important in the case of isoamyl acetate, a compound with fruit odor of pear and banana (Lambrechts & Pretorius, 2000), for which Brazilian wines exhibited a mean concentration 180 times higher than its odor threshold (Table 2).

No significant differences were detected on the concentration of volatile fatty acids and their corresponding ethyl esters between Brazilian and Italian sparkling muscat wines. The concentrations of these compounds were consistent with the data in the literature for muscat wines (Bordiga, Rinaldi, Locatelli, Piana, Travagli, Coisson & Arlorio, 2013; Nicolli, Welke, Closs, Caramão, Costa, Manfroi & Zini, 2015), and most of them exceeded their respective odor threshold. Despite their descriptors of butter, cheese and rancid, low concentration of fatty acids (< 20 mg.L⁻¹) give pleasant notes and contribute to aroma complexity (Shinohara, 1985). On the other hand, ethyl esters of fatty acids are some of the

most important smelling compounds of wines. With relatively low odor threshold, ethyl esters give fruity notes of green apple, pineapple, and grape (Lambrechts & Pretorius, 2000).

Terpenes are typical compounds of “aromatic” grapes (Muscat-type varieties, Malvasia, Gewurztraminer, among others) being responsible for the characteristic floral and fruity aroma of muscat wines. These compounds are found in grape skins and are transferred to wine during maceration. Monoterpenes present in the must can remain unchanged during the fermentation process, can be biotransformed by yeasts, or converted to oxides in the bottle (Palomo, Coelho, Maroto, Viñas & Cabezudo, 2006; Zhang, Pan, Yan & Duan, 2011; Bordiga, Rinaldi, Locatelli, Piana, Travagli, Coisson & Arlorio, 2013). The monoterpenes found in Brazilian and Italian sparkling muscat wines were limonene, rose oxide, linalool, α -terpineol, citronellol, nerol and geraniol, and Brazilian wines exhibited significantly higher concentration of limonene, rose oxide, linalool and citronellol (Table 2). These differences are particularly important as most of the terpenes were above their odor threshold, thus contributing to wine aroma. All these terpenes have been identified in muscat wines, and their presence and concentration varied between varieties (Palomo, Coelho, Maroto, Viñas & Cabezudo, 2006; Bordiga, Rinaldi, Locatelli, Piana, Travagli, Coisson & Arlorio, 2013).

3.3. Sensory analysis

In general, muscat sparkling wines are characterized by an intense varietal aroma that resembles flowers (acacia, orange), honey, pineapple, pear, and peach. In the mouth, their sweetness is equilibrated by the acidity of the grape and the carbonic gas. The flavor is delicate, creamy and persistent (Zanus, 2014), and the joviality and freshness of muscat sparkling wines is responsible for their success among young consumers (Culbert, Ovington, Saliba & Wilkinson, 2018).

Despite their differences, Brazilian and Italian muscat sparkling wines obtained very similar general quality notes (77 to 79), very low defects, and non-significant differences on overall aromatic and gustative profiles (Table 3). However, they differ in particular sensory profiles. Mint, basic, rosemary, red flowers, and fennel attributes were excluded from Table 3, and subsequent analysis because they were not detected or detected in low intensity (<2) by just one or two panelists in different samples.

In order to compare the sensory profile of Brazilian and Italian muscat sparkling wines the mean of the notes for 32 attributes were used for principal component analysis. As can be observed in Figure 3, the first two components that explain 63.6% of the variance separate the

wines in three groups that resemble those obtained by the analysis of physicochemical characteristics (Figure 1) and volatile composition (Figure 2).

Brazilian wines were separate by PC1 (Figure 3) that showed high correlation with color intensity (-0.728), aroma quality (0.827), fruity aroma of peach (0.936), apple (0.819), pineapple (0.900) and pear (0.794), white flowers aroma (0.794), and sweetness (-0.748). The lower color intensity and sweetness of Brazilian wines corroborate the physicochemical analysis (Table 1). Moreover, the highest fruity and flower aroma of Brazilian wines detected by the panelists can be associated with their highest concentration of isoamyl acetate, hexyl acetate, roxe oxide, linalool, and citronellol (Table 2).

The second component (PC2) separate the Italian wines in two groups formed by almost same wines of groups II and III obtained by the principal component analysis of volatile compounds (Figure 2). PC2 correlates with citrus (0.876), yeasty (0.739), and bread/toast (0.814) aromas. Wines included in group III by the analysis of volatile compounds exhibited higher concentrations of total volatile acids and ethyl esters that must have contribute for their separation on sensory analysis.

4. Conclusions

Brazilian and Italian muscat wines differ on their physicochemical characteristics, volatile compounds composition, and sensory attributes. Brazilian wines exhibited lower residual sugar and, higher ethanol and sulfite concentrations than Italian wines. The analysis of volatile compounds showed that Italian wines separate in two groups while Brazilian wines cluster in a single and concise group characterized by higher concentrations of important aromatic compounds like isoamyl acetate, hexyl acetate, limonene, rose oxide, linalool, and citronellol. The physicochemical and volatile differences between Brazilian and Italian wines were confirmed by sensory analysis that defined Brazilian wines less sweet, with lower color intensity, and with aroma descriptors of peach, apple, pineapple, pear, and white flowers. The differences between Brazilian and Italian muscat sparkling wines may be the combination of varietal characteristics and “terroir” peculiarities, where the variation among Italian wines may reflect differences in winemaking and maturation processes.

Acknowledgments

The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), the

University of Caxias do Sul, the Associação Farroupilhense de Vinhos e Espumantes (AFAVIN), the Association of producers of Asti, and the University of Bologna, Campus of Food Science – Cesena (Italy).

References

- Bordiga M., Rinaldi M., Locatelli M., Piana G., Travaglia F., Coisson J.D. & Arlorio, M. (2013)** Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analysis to 2D contour plots comparison. *Food Chemistry* 140, 57-67.
- Brazil (2014)** Decreto nº 8198 de 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. Available in: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2014/decreto/d8198.htm [Accessed on: 13 Aug 2017].
- Clarke O. (2003)** *Encyclopedia of Wine*. London: Time Warner Books.
- Consorzio per la tutela dell’Asti (2014)** Available in: <http://www.astidocg.it>. [Accessed on: 01 Sept. 2017].
- Culbert J.A., Ovington L.A., Saliba A .J. & Wilkinson K.L. (2018)** Sensory profiles and consumer acceptance of different styles of Australian Moscato. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 24, 96-104.
- Dodd T.H., Kolyesnikova N. & Wilcox, J.B. (2010)** A matter of taste : consumer preferences of sweet and dry wines. 5th International Academy of Wine Business Research Conference ; 8-10 February 2010 ; Auckland, New Zealand (Academy of Wine Business Research, Adelaide, AA, Australia).
- Ebeler S.E. & Spaulding R.S. (1998)** Characterization and measurement of aldehydes in wine. In *Chemistry of Wine Flavor*. A.L. Waterhouse and S.E. Ebeler (Eds.), pp. 166-179. ACS Symp. Ser. 714. American Chemical Society, Washington, DC.
- Eberle D., Bezzo G. & Malerba, G. (2015)**. Siamo la coppia più dolce del mondo. Asti e moscato d’Asti due vini una sola DOCG. *L’enologo* 9, 18-38.
- Ferreira V., López R. & Cacho J. F. (2000)**. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1659-1667.

- Frvik S.K. & Ebeler S.E. (2003)** Influence of Sulfur Dioxide on the Formation of Aldehydes in White Wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 54, 31-38.
- Guth H. (1997)** Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 45, 3027-3032.
- Ibravin** (Instituto Brasileiro do Vinho) (2017) Cadastro vitivinícola. Available in: <http://www.ibravin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1502911747.pdf> [Accessed on: 13 Oct. 2017]
- Italy (2011)** Ministero Delle Politiche Agricole e Forestali. Gazzetta Ufficiale N° 281 Del 2 Dicembre 2011. Decreto Ministeriale 21 Novembre 2011. Disciplinare Di Produzione Dei Vini A Denominazione Di Origine Controllata E Garantita “Asti”. Available in: <http://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2011/12/02/281/sg/pdf> [Accessed on: 12 Oct 2017].
- Lambrechts M. G. & Pretorius I. S. (2000)** Yeast and its Importance to Wine Aroma - A Review. Institute for Wine Biotechnology and Department of Viticulture & Oenology, University of Stellenbosch - South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 21:
- Liu S.Q. & Pilone G.J. (2000)** An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology* 35, 49 – 61.
- Nicolli K.P., Welke J.E., Closs M., Caramão E.B., Costa G., Manfroi V. & Zini C.A. (2015)** Characterization of the Volatile Profile of Brazilian Moscatel Sparkling Wines Through Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 26, 1411-1430.
- OIV (Office International de la Vigne et du Vin) (2015)** Compendium of International Methods of Analysis of Wine and Musts. Ed. OIV Vol. 2. Paris.
- Palomo E.S., Coelho P.M.S., Maroto D.M.C., Viñas G.M.A. & Cabezudo M.D. (2006)** Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat “a petit grains” wines and effect of skin contact. *Food Chemistry* 95, 279–289.
- Peña R.M., Barciela J., Herrero C. & García-Martín S. (2005)** Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. *Talanta* 67: 129-135.
- Rapp A. & Mandery H. (1986)** Wine aroma. *Experientia* 42:873– 884.

- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A. & Dubourdiou D. (2006)** Handbook of Enology 2. The Chemistry of wines, stabilization and treatments. 2nd Edition, John Wiley and Sons Ltd., Chichester, England.
- Ritschel P., Gomes F.G.G., Ceriotti I., Longhi P., Maia J.D.G., Zanús M.C., Tonietto J. & Ferreira M.E. (2012)** Genetic analysis of “Moscató branco” and other muscat grapes held by the grape germplasm bank in Brazil. *Proceedings of the International Crop Science Congress*, Bento Gonçalves, Brazil. 3128.
- Rizzon L.A., Meneguzzo J., Gasparin A.M. (2008a)** Sistema de produção de vinho moscatel espumante. Sistemas de produção. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, Brazil. Available in: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante/introducao.htm>. [Accessed on: 13 Oct. 2017].
- Rizzon L.A., Meneguzzo J., Gasparin A.M. (2008b)** Sistema de produção de vinho moscatel espumante. O vinho moscatel espumante e a legislação brasileira. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, Brazil. Available in: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante/legislacao.htm>. [Accessed on: 13 Oct. 2017].
- Rizzon L.A. & Gasparin A.M. (2008)** Sistema de produção de vinho moscatel espumante. Cultivares recomendadas. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, Brazil. Available in: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante/introducao.htm>. [Accessed on: 29 Sept. 2017].
- Ruiz-Bejarano M.J., Castro-Mejías R., Rodríguez-Dodero M.C. & García-Barroso C. (2013)** Study of the content in volatile compounds during the aging of sweet Sherry wines obtained from grapes cv. Muscat and fermented under different conditions. *European Food Research and Technology*, 237, 905–922.
- Ruiz-García L., Hellín P., Flores P. & Fenoll, J. (2014)** Prediction of Muscat aroma in table grape by analysis of rose oxide. *Food Chemistry*, 154, 151–157.
- Saerens S.M.G., Delvaux F.R., Verstrepen K.J. & Thevelein J.M. (2010)** Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*, 3, 165–177
- Shinohara, T. (1985)** Gas chromatographic analysis of volatile fatty acids in wines. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 2211-2212.

- Soares R.D., Welke J.E., Nicolli K.P., Zanus M., Camarão E.B., Manfroi V. & Zini C. A. (2015)** Monitoring the evolution of volatile compounds using gas chromatography during the stages of production of Moscatel sparkling wine. *Food Chemistry*, 183, 291–304.
- Swiegers J.H. & Pretorius I.S. (2005)** Yeast modulation of wine flavor. *Advances in Applied Microbiology*, 57:131–175.
- Webber, V., Dutra, V.S., Spinelli, F.R., Marcon, A.R., Carnieli, G.J. & Vanderlinde, R. (2014)** Effect of glutathione addition in sparkling wine. *Food Chemistry*, 159: 391 - 398.
- Welke J.E., Zanus M., Lazarotto M., Pulgati F.H. & Zini C. A. (2014)** Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. *Food Chemistry*, 164, 427-437.
- Zanus, M. (2014)** Espumante Moscatel - o sabor certo para sua sobremesa. Available in: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/moscatel.html> [Accessed on: 31 Jul. 2017].
- Zhang M., Pan Q., Yan G. & Duan C. (2011)** Using headspace solid phase micro-extraction for analysis of aromatic compounds during alcoholic fermentation of red wine. *Food Chemistry*, 125, 743-749.

Table 1: Physicalchemical properties of commercial muscat sparkling wines from the DS Farroupilha (Brazil) and DOCG Asti (Italy).

Parameters	Brazilian wines (n=8)	Italian wines (n=15)
Total acidity (meq x L ⁻¹)	99.6 ± 8.5	92.1 ± 9.1
Volatile acidity (meq x L ⁻¹)	10.7 ± 2.2*	9.5 ± 1.8
Density	1.0263 ± 0.002	1.0350 ± 0.005**
Reducing sugar (g x L ⁻¹)	50.8 ± 6.8	81.9 ± 10.2**
Total sugar (g x L ⁻¹)	67.0 ± 4.2	86.5 ± 10.3**
Dry extract (g x L ⁻¹)	97.0 ± 6.1	116,0 ± 11.5**
pH	3.3 ± 0.1	3.4 ± 0.1
Ethanol (% v/v)	8.2 ± 0.4**	6.9 ± 0.3
Free SO ₂ (mg x L ⁻¹)	22.0 ± 2.8**	17.0 ± 5.2
Total SO ₂ (mg x L ⁻¹)	132.6 ± 15.0**	114,0 ± 19.6
Total polyphenols	143.8 ± 93.9	176.8 ± 39.1
Color 420nm	0.45 ± 0.019	0.70 ± 0.016**

Results are expressed as mean and standard deviation. *Values significantly different at p<0.05, and ** p<0.01

Table 2. Mean concentrations (mg x L⁻¹) and relative standard deviations of volatile compounds of the three groups determined by principal components analysis.

Volatile compounds	Brasilian wines		Italian wines			Odor thresholds*	
	Group I		Group II		Group III		
ALDEHYDES							
Ethanal	101.60a	± 38.08	72.39ab	± 27.02	56.10b	± 19.21	500
Benzaldehyde	nd		0.01	± 0.01	nd		-
ALCOHOLS							
Methanol	58.06b	± 23.90	85.97ab	± 16.99	94.83a	± 18.92	-
1-Propanol	41.10a	± 9.98	37.59a	± 11.44	37.62a	± 7.37	500
2-Metil-1-Propanol	14.14b	± 1.73	18.88a	± 2.97	17.35ab	± 4.24	75
2-Metil-1-Butanol	15.90a	± 4.43	16.07a	± 4.01	19.02a	± 1.71	65
3-Metil-1-Butanol	70.96a	± 19.20	73.70a	± 13.49	82.57a	± 11.75	30
Hexanol	0.79b	± 0.25	0.62b	± 0.18	1.33a	± 0.27	8
2-Phenylethanol	5.92b	± 1.86	10.40ab	± 7.37	14.80a	± 2.86	7.5
Trans-3-Hexenol	0.28a	± 0.08	0.08c	± 0.02	0.17b	± 0.07	0.4
VOLATILE ACIDS							
Isobutyric acid	0.75a	± 0.45	0.63a	± 0.35	0.89a	± 0.36	2.3
Butyric acid	nd		0.56	± 0.24	nd		0.17
Hexanoic acid	4.68b	± 0.66	3.64b	± 1.42	7.37a	± 1.63	0.42
Octanoic acid	9.42ab	± 3.27	5.68b	± 2.93	10.43a	± 1.13	0.50
Decanoic acid	1.27a	± 0.60	0.55b	± 0.32	1.07ab	± 0.50	10
Dodecanoic acid	0.18	± 0.13	nd		0.01	± 0.02	-
ACETATES							
Butyl acetate	1.16b	± 0.10	0.81c	± 0.13	1.43a	± 0.23	1.60
Isoamyl acetate	5.48a	± 2.86	1.56b	± 0.93	2.48b	± 1.47	0.26
Hexyl acetate	0.33a	± 0.12	0.14b	± 0.07	0.24b	± 0.03	0.67
Phenyl ethyl acetate	0.18a	± 0.06	0.18a	± 0.18	0.17a	± 0.07	0.25
ETHYL ESTERS							
Ethyl hexanoate	1.50a	± 0.45	0.85b	± 0.29	1.44a	± 0.22	0.08
Ethyl octanoate	0.97b	± 0.42	0.98b	± 0.43	1.77a	± 0.30	0.58
Ethyl decanoate	0.59ab	± 0.20	0.43b	± 0.12	0.77a	± 0.24	0.40
OTHER							
Diethyl Succinato	0.18b	± 0.15	0.34ab	± 0.17	0.75a	± 0.49	200
Ethyl acetate	15.32a	± 6.78	16.80a	± 11.24	17.20a	± 8.99	160
TERPENES							
(+) Limonene	0.04a	± 0.03	0.02a	± 0.00	0.03a	± 0.01	0.02
(-) Rose oxide	0.16a	± 0.11	0.03b	± 0.01	0.04b	± 0.01	0.10
Linalool	0.38a	± 0.14	0.13b	± 0.05	0.12b	± 0.05	0.05
α-Terpineol	0.21a	± 0.08	0.24a	± 0.06	0.21a	± 0.06	0.40
β-Citronellol	0.03a	± 0.01	0.01b	± 0.00	0.01b	± 0.01	0.02
Nerol	0.26a	± 0.10	0.37a	± 0.32	0.21a	± 0.07	0.40
Geraniol	0.42a	± 0.12	0.38a	± 0.09	0.37a	± 0.04	0.03

nd- below detection limit.

Different letters within the same line show significantly differences at $p < 0.05$ by the Tukey test

*Odor thersholds (mg x L⁻¹) were obtained from Guth (1997), Lambreshts and Pretorius (2000), Ferreira et al. (2000), Ribéreau-Gayon et al. (2006), and Saerens et al. (2010).

Table 3. Sensory evaluation of Brazilian and Italian muscat sparkling wines separated by the groups defined by principal component analysis of sensory attributes.

Attribute	Brazilian wines	Italian wines	Italian wines	Attribute	Brazilian wines	Italian wines	Italian wines
Color Intensity	3.6 b	5.4 a	6.0 a	Caramel	0.0 b	1.7 a	2.3 a
Foam intensity	6.4 a	5.3 a	6.2 a	Yeast	0.2 b	0.7 b	1.7 a
Foam quality	6.2 a	5.6 a	6.0 a	Bread/toast	0.2 c	1.0 b	2.0 a
Olfative defects	1.6 a	3.0 a	2.5 a	Cheese/lactic	0.0 a	0.9 a	1.0 a
Aroma intensity	5.6 a	5.4 a	5.3 a	Vegetal	1.0 b	3.0 a	1.8 b
Aroma quality	6.4 a	3.9 b	4.3 b	Hay	2.2 a	2.4 a	1.5 a
Citric fruits	6.2 a	3.8 b	4.8 b	Acetic	0.2 a	0.7 a	0.5 a
Tropical fruits	3.4 a	3.7 a	4.5 a	Finesse/typicity	5.8 a	4.6 b	5.7 a
Peach	4.2 a	1.6 b	2.2 b	Flavor intensity	5.4 a	5.3 a	5.7 a
Apple	4.2 a	2.4 b	2.7 b	Sweetness	4.2 b	5.9 a	5.8 a
Pineapple	3.6 a	2.1 b	2.5 b	Acidity	5.6 a	4.9 a	5.0 a
Pear	3.4 a	0.9 b	0.8 b	Bitterness	1.8 a	1.9 a	1.7 a
White flowers	4.8 a	3.0 b	3.8 ab	Persistence	5.6 a	4.9 b	5.2 ab
Spices	1 b	2.3 a	1.8 ab	Body/creamy	6.0 a	5.0 b	5.8 a
Honey	2.6 a	2.4 a	3.5 a				
Sweet potato	0.8 a	0.9 a	1.7 a	General quality	77.0 a	77.5 a	79.2 a

*Values significantly different at $p < 0.05$ by the Tukey test.

Tropical fruit (mango, papaya, melon), Spices (vanilla, cinnamon, clove)

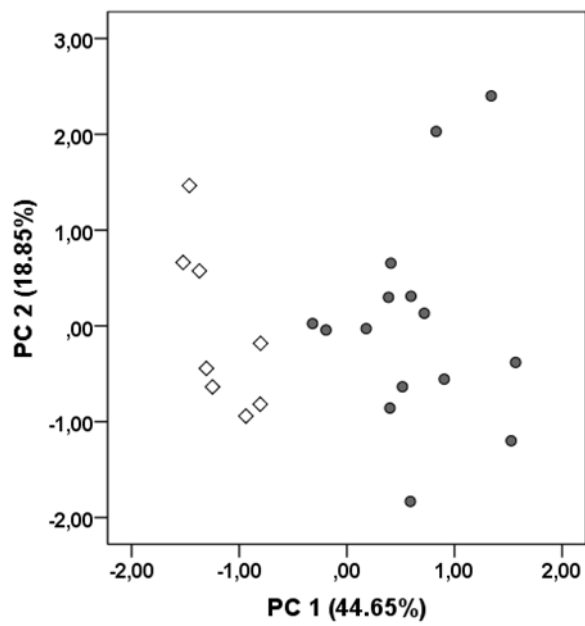


Fig. 1- Principal component analysis biplot of physicochemical characteristics of commercial muscat sparkling wines from Farroupilha, Brazil (open diamonds) and Asti, Italy (grey circles).

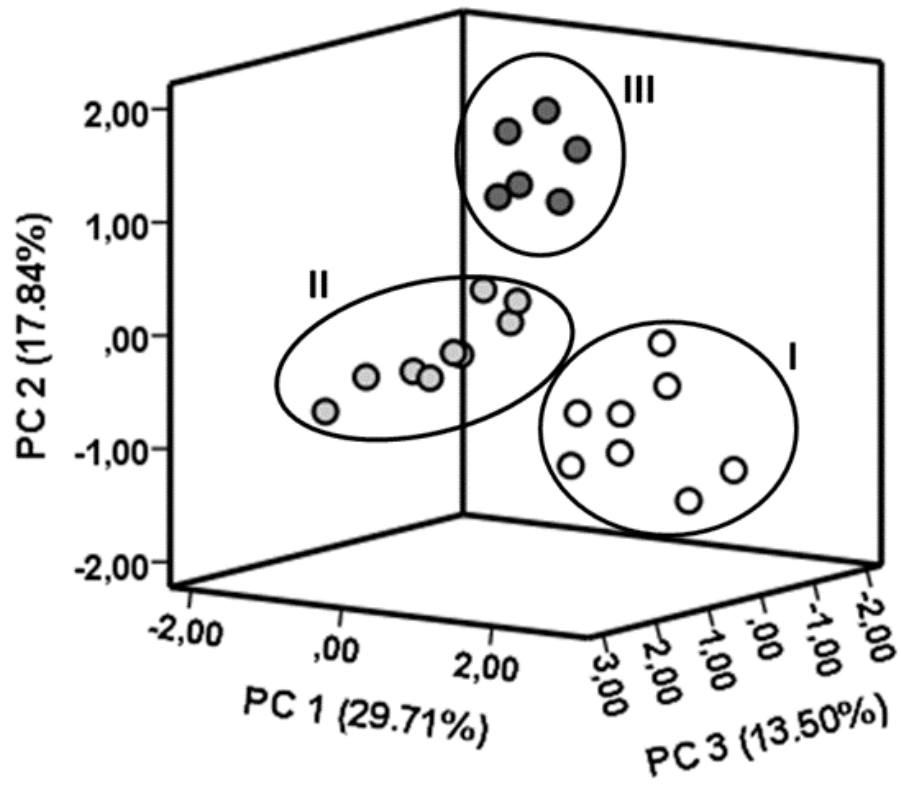


Fig. 2- Principal component analysis based on the concentration of volatile compounds of muscat sparkling wines from Farroupilha, Brazil (open circles) and Asti, Italy (grey circles). Roman numbers represent the three groups.

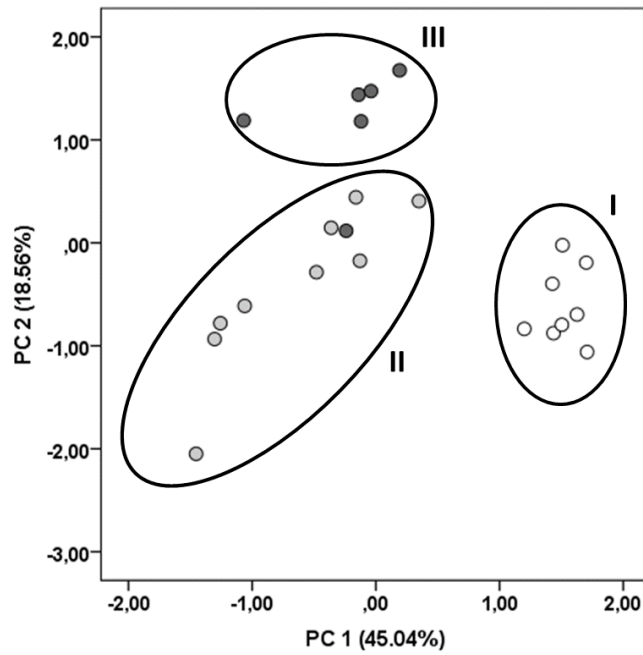


Fig. 3- Principal component (PC) analysis based on sensory attributes of muscat sparkling wines from the DS Farroupilha, Brazil (open circles), and DOCG Asti (grey circles). Roman numbers correspond to the three groups formed by PC analysis. Light and dark circles represent the Italian wines differentiated by PC analysis of volatile compounds.

3.5 ARTIGO 5

**Contribution of a Brazilian *Torulaspota delbrueckii* isolate and a commercial
Saccharomyces cerevisiae to the aroma profile and sensory characteristics of Moscato
Branco wines**

Artigo publicado na revista Australian Journal of Grape and Wine Research em 05 de março
de 2018.

Contribution of a Brazilian *Torulaspora delbrueckii* isolate and a commercial *Saccharomyces cerevisiae* to the aroma profile and sensory characteristics of Moscato Branco wines

A.R. MARCON , L.V. SCHWARZ, S.V. DUTRA, S. MOURA, F. AGOSTINI, A.P.L. DELAMARE
and S. ECHEVERRIGARAY

Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, Caxias do Sul 95070-560, Brazil
Corresponding author: Dr Angela Marcon, email rossimarcon@gmail.com

Abstract

Background and Aims: Moscato Branco is the most important cultivar used in the production of Brazilian muscat sparkling wines and is responsible for their sensory characteristics. The aim of this work was to evaluate the effect of monoculture and co-fermentations by *Torulaspora delbrueckii* (TPI-4) and *Saccharomyces cerevisiae* (EC1118) on the physicochemical, aromatic composition and sensory characteristics of Moscato Branco wines.

Methods and Results: Wines inoculated with axenic and co-inoculated with *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii* were elaborated and subjected to physicochemical, chromatographic and sensory analysis. The monoculture fermentation with *T. delbrueckii*, and co-fermentation with 25%EC1118/75%TPI-4 showed the lowest concentration of volatile fatty acids, considered as undesirable compounds and the highest concentration of 2-phenylethanol, acetates and ethyl esters, with fruity and flowery descriptors. Based on odour activity values, the main positive contribution of *T. delbrueckii* was on the concentration of isoamyl acetate, 2-phenylethanol, 2-phenylethyl acetate, ethyl hexanoate and linalyl acetate.

Conclusions: Wines produced by co-fermentation with 25%EC1118/75%TPI-4 obtained the highest general quality, aroma quality and flavour intensity scores in the sensory evaluation, reflecting the positive contribution of *T. delbrueckii* on the sensory attributes of Moscato Branco wines.

Significance of the Study: This work showed that co-inoculation with *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* improves the quality of muscat wines.

Keywords: aroma compound, co-fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, sensory evaluation, *Torulaspora delbrueckii*

Introduction

Muscat grapes are a group of aromatic and typical cultivars characterised by the presence of free monoterpenoids, C6-alcohols, norisoprenoids and benzenic compounds (Palomo et al. 2009, Bordiga et al. 2013). The role of these compounds in grape and wine aroma depends on their concentration, odour threshold and interaction with other compounds (Ruiz-García et al. 2014).

The production and consumption of muscat sparkling wines in Brazil, Australia, Canada and USA has experienced a strong increase in the last few decades (Culbert et al. 2017). Brazilian muscat sparkling wines are produced with Moscato Branco, a regional cultivar with a natural ability to produce aromatic wines characterised by fresh, floral and fruity aroma and equilibrated acidity (Rizzon et al. 2008).

Yeasts are known for their ability to transform grape must sugars into ethanol and carbon dioxide, but they are also responsible for the production of several by-products including higher alcohols and esters, as well as the biotransformation of varietal precursors, with significant impact on the flavour and general quality of wines (King et al. 2008). The production of these 'fermentative aromas' is influenced by many factors, such as grape cultivar, agricultural practices, vintage, winemaking techniques and yeast strains and species involved in winemaking (Garofalo et al. 2015).

Several non-*Saccharomyces* yeasts are present on grape berries and in musts and can affect fermentation and wine composition. Considered in the past as undesirable or spoilage microorganisms, some of these non-*Saccharomyces* yeasts can contribute positively to the aroma profile and complexity of wines (Padilla et al. 2016). For some time, mixed starters of non-*Saccharomyces* and *S. cerevisiae* have been used as an alternative to both spontaneous and inoculated wine fermentations, taking advantage of the positive role of non-*Saccharomyces* yeast species, the fermentative ability of *S. cerevisiae*, and the synergistic effect of mixed cultures on the sensory characteristics of wines (Jolly et al. 2006, Comitini et al. 2011, Domizio et al. 2011, Padilla et al. 2016, Belda et al. 2017).

Among the non-*Saccharomyces* yeasts, *Torulaspora delbrueckii* (anamorph *Candida colliculosa*) has received particular attention due its positive impact in terms of low production of undesirable compounds, such as acetaldehyde, acetic acid and hydrogen sulfide and the concomitant enhancement of desirable compounds, such as 2-phenylethanol, esters, terpenes and varietal thiols (Renault et al. 2015, Canonico et al. 2016, Belda et al. 2017). Moreover, several studies have shown that co-fermentations or sequential inoculation with selected strains of *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* resulted in more complex and higher quality wines than those obtained by single inoculation, indicating a synergistic effect of yeasts on wine production (Bely

et al. 2008, Comitini et al. 2011, Renault et al. 2015, Canónico et al. 2016, Chen and Liu 2016). Moreover, Ciani et al. (2016) showed that *T. delbrueckii* can be an alternative to reduce the ethanol concentration of wines, a current challenge for winemakers.

The aim of this study was to evaluate the influence of a Brazilian selected strain of *T. delbrueckii* in monoculture, and of co-fermentation with a variable proportion of *S. cerevisiae*, on the physicochemical composition, the concentration of volatile aromatic compounds, and the sensory properties of Moscato Branco wines.

Materials and methods

Yeast strains

The commercial *S. cerevisiae* var. *bayanus* Lalvin EC1118 (Lallemand, Montréal, QC, Canada) and a selected isolate of *T. delbrueckii* (TPI-4) were used. The strain EC1118 is defined as a neutral strain recommended for white wines and sparkling wines, and largely used in the production of Brazilian muscat sparkling wines. The strain TPI-4 was isolated in 2012 from a Tannat vineyard (Bento Gonçalves, Rio Grande do Sol, Brazil) and selected from 30 strains for low H₂S production, sulfite and ethanol tolerance and the absence of sensory defects of the wines. The TPI-4 strain was classified by PCR amplification and sequencing of the D1/D2 domain of the large subunit rRNA and the internal transcribed spacers sequence (ITS1–5.8S–ITS2) using primers NL1/NL4 (O'Donnell 1993) and ITS1/ITS4 (Kurtzman and Robnett 1998), respectively. The sequences were compared with those available at the GenBank database using the basic local alignment search tool (BLAST), and resulted in more than 98% identity with *T. delbrueckii* sequences.

Must and fermentation conditions

The micro-fermentations were carried out in 10 L cylindrical vessels in a controlled temperature room at 22 ± 2°C. The Moscato Branco filtered must was provided by the Cooperativa Vinícola São João, Farroupilha, Rio Grande do Sol, Brazil. The grapes of Moscato Branco (*Vitis vinifera* L.) vintage 2014 were destemmed, crushed and pressed with a pneumatic press. The must was settled with SO₂ (10 mg/L), filtered through a diatomaceous earth filter followed by a 0.45 µm tangential filter and maintained at 0°C until fermentation. The properties of the must were as follows: reducing sugars 148.0 g/L, pH 3.5, TA 6.3 g/L and volatile acidity 0.15 g/L.

Five fermentation treatments were applied in triplicate: (i) axenic culture of *S. cerevisiae* (EC1118); (ii) axenic culture *T. delbrueckii* (TPI-4); (iii) mixed co-inoculations with 25% EC1118/75%TPI-4; (iv) 50%EC1118/50%TPI-4 and (v) 75%EC1118/25%TPI-4. The total yeast inoculum in each treatment was fixed at 5 × 10⁶ cells/L, determined by microscopic cell counting using a haemocytometer. Fermentation was monitored daily by specific gravity (density) using a Densito 30PX Portable Density (Mettler Toledo, Columbus, OH, USA) and the proportion of *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii* at the end of fermentations was monitored by colony counting after 72 h growth on WLN agar (Wallerstein Laboratory Nutrient, Oxoid, Basingstoke, England), to evaluate total yeasts and on WLN supplemented with 10 mg/L cycloheximide, to determine *T. delbrueckii*.

Physicochemical analysis

The alcohol concentration (%v/v), total sulfur dioxide (g/L), free sulfur dioxide (g/L), total sugar (g/L), volatile acidity (meq/L) and TA (meq/L) of wines were determined in triplicate according to IN n° 24 de 08/09/2005 (Brasil 2005). Glycerol concentration was determined with the glycerol GK kit (Megazyme, Chicago, IL, USA). Analysis of must included pH, °Brix and TA (meq/L), all in triplicate.

Analysis of volatile compounds

The volatile compounds (esters, higher alcohols and terpenes) were analysed on a HP 6890 GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), with a capillary column CP Innowax (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm), and a flame ionisation detector (FID). The compounds were identified by comparison of their retention time with that of standards prepared with pure reagents from Sigma–Aldrich (St Louis, MO, USA) and their concentration determined with a calibration curve prepared for each standard with seven concentration values and tested in duplicate.

Determination of higher alcohols, ethanal, ethyl acetate and methanol

The internal standard 4-methyl-2-pentanol (70 µL of 5 g/L solution) was added to 5 mL of a distilled sample. The injection (1.0 µL) was performed in split mode 1:30 at 220°C. The carrier gas was hydrogen at 2.0 mL/min, with nitrogen as the auxiliary gas at 37 mL/min. The oven temperature was 40°C for 5 min, 40–90°C at 3°C/min, 90–200°C at 10°C/min and 200°C for 5 min. The ignition was maintained with synthetic air at 350 mL/min and hydrogen at 35 mL/min. The detector temperature was 230°C (Webber et al. 2014).

Determination of esters, acetates, alcohols and volatile acids

The internal standard 3-octanol (500 µL of 250 mg/L solution) and 70 µL of phosphoric acid (1:3) were added to 50 mL of wine. The samples were subjected to three liquid/liquid consecutive extractions (4:2:2) with a mixture of diethyl ether/*n*-hexane (1:1). The injection (1.0 µL) was performed in split mode at 1:30 at 240°C. The carrier gas was hydrogen at 2.0 mL/min and nitrogen as auxiliary gas at 37 mL/min. The oven temperature was 40°C for 5 min; 40–230°C at 3°C/min, and 230°C for 20 min. The combustion was maintained with synthetic airflow at 350 mL/min and hydrogen at 35 mL/min. The detector temperature was 230°C (Webber et al. 2014).

Determination of terpenes

Terpenes (limonene, linalool, α-terpineol, citronellol, nerol, geraniol, linalyl acetate, rose oxide and nerolidol) were determined by headspace solid-phase micro-extraction (SPME) with DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/carboxen on polydimethylsiloxane) 50/30 µm fibre purchased from Sigma–Aldrich, according with the method used by Peña et al. (2005) and Welke et al. (2012). Into 20 mL of wine 5 g of NaCl and 80 µL of internal standard (3-octanol) were added. The sample was continuously stirred at 40°C for 5 min, after which the fibre was inserted in the space above the liquid (headspace) maintaining stirring at 40°C for 30 min. After the extraction, the fibre was injected into the GC injector and the chromatographic analysis was carried out. The injector temperature was kept at 250°C. Injection was performed in split mode at 1:20 maintaining the fibre in

the injection port for 5 min. The carrier gas was helium at 2.0 mL/min. Oven conditions were 50°C for 1 min; 50–60°C at 10°C/min for 1 min, 60–200°C at 25°C/min for 8 min, with a constant gas flow of 1 mL/min (Peña et al. 2005, Welke et al. 2012).

Odour activity values

The contribution of each volatile compound to wine aroma was evaluated qualitatively by its associated descriptor and quantitatively by its odour activity value (OAV). These values were calculated using the equation $OAV = C/T$, where C is the total concentration (mg/L) of each compound in the wine sample and T is the odour threshold value (mg/L) of the compound in water/ethanol. Threshold values were obtained from information available in the literature (references are shown in Table 2).

Sensory analysis

A panel of ten male winemakers (aged between 35 and 60 years) of the Brazilian Enology Association performed the sensory analysis of the wines using the Association of Farroupilha Wine Producers (AFAVIN) wine evaluation chart. In this chart, the descriptive sensory attributes are scored with an intensity scale of 0–5, where 0 corresponds to no perception and 5 as high intensity. The tasters evaluated a set of descriptors that included visual (colour intensity and colour tonality), olfactory (aroma intensity and quality, citric fruits, white flowers, roses, tropical fruits, spices, honey, papaya, herbaceous, acetic and off-aroma) and gustatory (flavour intensity, flavour sharpness, acidity, bitterness, persistence and off-flavour). For the evaluation of the general sensory quality, the panellists used a score from 0 to 100. The sensory analysis room complied with ISO 8589 recommendations (International Organization for Standardization 2007).

The approximately 30 mL sample of each wine at 8°C was poured immediately prior to evaluation and was presented in a wine-tasting glass that complied with ISO 3591:1977 (International Organization for Standardization 1977). The samples, prepared in a separate room, were coded with three digits and the three fermentation replicates were tasted in triplicate in a randomised order. Each taster had 10 min for the evaluation of each sample. Mineral water and bread were provided during each session to neutralise the effects of the previous wine.

Statistical analysis

The results were analysed by ANOVA, multiple comparisons of means (Tukey test), principal component analysis (PCA), and hierarchical cluster analysis, with SPSS software (IBM, Armonk, NY, USA). For the analysis of sensory attributes the median of the scores of each panellist (three independent and randomised evaluation of a fermentation replicate) was used for two-way ANOVA considering panellist, fermentation replicate, and treatments and their interactions (ten panellists, three replicates, five treatments), and mean comparisons of treatments by the Tukey test.

Results

Fermentations conducted with *T. delbrueckii* TPI-4 showed a lag phase of 2 days, while those conducted with *S. cerevisiae* EC1118 or with mixed cultures started immediately after inoculation (Figure 1). Although TPI-4 took longer to initiate the fermentation, its maximum fermentation rate was similar to that of EC1118 and of mixed cultures (Figure 1)

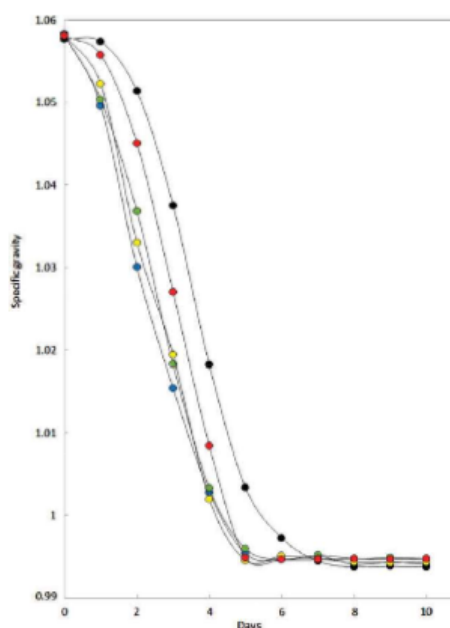


Figure 1. Fermentation profile, determined by the reduction of specific gravity (density), of Moscato Branco wines fermented with *Torulaspora delbrueckii* TPI-4 (●), *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 (■), and with mixed cultures containing 75% TPI-4/25% EC1118 (▲), 50% TPI-4/50% EC1118 (◆) and 25% TPI-4/75% EC1118 (●).

and all of fermentations were completed between 7 and 8 days, reaching a final density of 0.9953–0.9936 (Table 1).

The ethanol concentration of the wines (Table 1) was near the theoretical alcohol concentration according to an initial must sugar concentration of 148 g/L, resulting in an ethanol yield of 88–90%. Despite the small differences among the ethanol concentration of the wines, some were significant. The fermentations with the axenic culture of *S. cerevisiae* attained the highest ethanol concentration followed by the axenic culture of *T. delbrueckii* (Table 1). No difference was detected in the concentration of glycerol, volatile acidity and free SO₂, but treatments differed in TA, pH and residual sugar (Table 1).

Monitoring of the presence of *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* at the end of wine fermentations showed that fermentations conducted with pure cultures remained axenic, while those initiated with a proportion of 25% EC1118/75%TPI-4 and 50%EC1118/50%TPI-4 finished fermentation with 48%EC1118/52%TPI-4 and 87% EC1118/13%TPI-4, respectively. The presence of TPI-4 was not detected in wine fermentations initiated with a mixture of 75%EC1118/25%TPI-4, indicating less than 0.5% *T. delbrueckii* at the end of fermentation.

The mean concentration of 29 compounds, comprising higher alcohols, esters, fatty acids, terpenoids and other volatile compounds, were identified by GC/FID in the muscat wines (Table 2), fermented with EC1118, TPI-4 and with a different proportion of these strains co-inoculated. Among the higher alcohols, significant differences were detected on

Table 1. Mean values and standard deviation of the composition of Moscato Branco wines fermented with monocultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulasporea delbrueckii*, and co-fermented with various proportions of *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii*.

Parameters	100% EC1118	100% TPI-4	25% EC1118 + 75% TPI-4	50% EC1118 + 50% TPI-4	75% EC1118 + 25% TPI-4
Volatile acidity (meq/L)	2.07 ± 0.14a	2.27 ± 0.15a	2.71 ± 0.18a	2.13 ± 0.08a	2.26 ± 0.20a
TA (meq/L)	108.0 ± 0.03b	116.0 ± 4.0a	116.0 ± 0.02a	118.1 ± 2.0a	118.0 ± 0.10
pH	3.30 ± 0.05bc	3.25 ± 0.07c	3.40 ± 0.08a	3.35 ± 0.07ab	3.40 ± 0.02a
Total sugar (g/L)	0.85 ± 0.10a	0.31 ± 0.07c	0.67 ± 0.11b	0.78 ± 0.05ab	0.57 ± 0.03b
Ethanol (% v/v)	8.75 ± 0.10a	8.60 ± 0.05a	7.51 ± 0.28c	8.22 ± 0.13ab	7.82 ± 0.10bc
Glycerol (g/L)	6.23 ± 0.21a	6.43 ± 0.16a	6.27 ± 0.31a	6.32 ± 0.12a	6.44 ± 0.17a
Free SO ₂ (mg/L)	4.8 ± 0.1a	4.8 ± 0.1a	4.8 ± 0.20a	5.6 ± 0.4a	4.8 ± 0.3a
Total SO ₂ (mg/L)	33.6 ± 0.1b	36.8 ± 1.6a	28.3 ± 1.1c	30.4 ± 0.3c	27.2 ± 0.4c

Different letters in a row represent a significant difference by the Tukey test at 95% confidence. EC1118, *Saccharomyces cerevisiae* EC1118; TPI-4, *Torulasporea delbrueckii* TPI-4.

the concentration of 1-propanol, 2-methyl-1-propanol (isobutanol) and 2-phenylethanol (Table 2). Mixed fermentations and EC1118 exhibited the highest concentration of propanol, while the highest concentration of isobutanol and 2-phenylethanol was detected in wines fermented with TPI-4. Moreover, the concentration of volatile fatty acids, compounds with undesirable aromatic characteristics described as cheese, rancid, butter and soapy, was significantly lower in wines fermented with *T. delbrueckii* (Table 2). Conversely, the overall concentration of the ethyl esters of fatty acids, which contribute floral and fruity notes (Ferreira et al. 2000), was higher in wines fermented with TPI-4 and with 25% EC1118/75% TPI-4, which exhibited a particularly high concentration of ethyl hexanoate.

Acetaldehyde (ethanal) concentration was low considering its threshold (500 mg/L), but varied significantly among treatments with the highest concentration in wines fermented with EC1118. Conversely, the highest concentration of diethyl succinate, a product of the condensation between ethanol and succinic acid, was detected in wines fermented with TPI-4.

Grape terpenes are usually found as glycosylated precursors in grapes, but muscat grapes are known as 'aromatic' cultivars with up to 6 mg/L of free monoterpenoids and a low concentration of glycoterpenes (Mateo and Jiménez 2000). The concentration of the seven terpenoids detected in muscat wines was higher than their threshold (Table 2), with their floral and fruity aroma contributing to the aromatic characteristics of muscat wines. The concentration of linalool and linalyl acetate showed significant variation among treatments with higher linalyl acetate and lower linalool concentration in wines fermented with *T. delbrueckii*, an intermediate concentration in wines obtained with 25% EC1118/75% TPI-4 and 50% EC1118/50% TPI-4, and no detection of linalyl acetate in wines fermented with EC1118 and 75% EC1118/25% TPI-4 (Table 2).

In order to assess the influence of the volatile compounds on wine aroma, the OAV was calculated and only the 15 compounds with an OAV greater than 1, which contribute individually to wine aroma (Guth 1997), were considered for multivariate analysis. The highest OAV value was detected for octanoic acid (25.12x), isoamyl acetate (22.42x), ethyl hexanoate (13.65x), rose oxide (11.26x) and linalool (10.88x).

As can be observed in Figure 2a, the first principal component (PC) separates the wines produced by *T. delbrueckii* monoculture, from those fermented with *S. cerevisiae* or co-inoculated and fermented with a different proportion of both species. The compounds that contribute to this

separation were 2-phenylethanol, isoamyl acetate, 2-phenylethyl acetate, linalyl acetate and nerol (Figure 2b), for which TPI-4 wines exhibited the highest concentration (Table 2). Conversely, wines obtained with EC1118 and those co-fermented with 50 and 75% EC1118, showed a low value for these compounds and the highest concentration of hexanoic acid, octanoic acid, linalool and geraniol. The second PC separates wine obtained by co-fermentation using a proportion of 25% EC1118/75% TPI-4. This component showed a high correlation with rose oxide and ethyl decanoate odour values (Figure 2b).

In general, ANOVA analysis of sensory data showed significant variation among treatments and panellists, but no interactions. The general perceptions, as well as the aromatic and gustative characteristics were improved for the wines obtained by co-fermentation with 25% EC1118/75% TPI-4 (Table 3). Wines fermented with a monoculture of *T. delbrueckii* received the second highest general score (80.27), but were considered less equilibrated and, obtained relatively lower scores for aromatic and flavour quality (Table 3). Among olfactory attributes, the main differences were detected in citric and floral aromas, which were more pronounced in wines fermented with EC1118 and a mixed culture of 50% EC1118/50% TPI-4 and in tropical fruit aroma, roses, spices and papaya with higher scores for wines fermented with 25% EC1118/75% TPI-4 and 50% EC1118/50% TPI-4 mixed cultures. Among flavour attributes, wines fermented with the 25% EC1118/75% TPI-4 combination showed the highest score for flavour sharpness associated with lowest acidity and bitterness. It is important to emphasise that despite their differences all the wines received low scores for aromatic and flavour defects (<1.00), indicating low production of undesirable compounds.

The multivariate analysis, considering all the parameters evaluated by the sensory panel, showed two groups (Figure 3), one comprising the wines fermented with TPI-4 and those co-fermented with 25% EC1118/75% TPI-4 and another formed by the wines fermented with EC1118 and co-fermented with a lower proportion of *T. delbrueckii*. Higher scores for intensity and aromatic quality, papaya aroma, flavour intensity, taste sharpness, characterised the first group, but although non-significant, wines fermented with an axenic culture of TPI-4 exhibited higher acetic smell and acid taste.

Discussion

Brazilian muscat wines are characterised by low alcohol concentration, medium concentration of residual sugars and medium to high TA. Associated with the aromatic

Table 2. Mean values and standard deviation of the concentration volatile compounds of Moscato Branco wines fermented with monocultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii*, and co-fermented with various proportions of *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii*

Volatile compounds	Concentration (mg/L)					Olfactory threshold†
	100% EC1118	100% TPI-4	25% EC1118 75% TPI-4	50% EC1118 50% TPI-4	75% EC1118 25% TPI-4	
Higher alcohols						
1-Propanol	110.05 ± 2.49a	50.56 ± 0.94c	84.72 ± 1.14a	102.95 ± 15.10a	102.25 ± 0.89a	500
2-Methyl-1-propanol	25.58 ± 0.88b	35.24 ± 0.71a	24.19 ± 0.52b	21.08 ± 2.32b	23.07 ± 0.35b	75
2-Methyl-1-butanol	25.84 ± 0.74a	25.76 ± 1.04a	24.89 ± 0.04a	24.66 ± 1.15a	24.57 ± 0.13a	65
3-Methyl-1-butanol	157.72 ± 5.57a	162.36 ± 3.96a	154.92 ± 0.06a	147.86 ± 4.74a	148.82 ± 0.36a	300
2-Phenylethanol	13.59 ± 0.18b	44.02 ± 3.41a	26.27 ± 1.67ab	13.19 ± 1.46b	12.44 ± 1.32b	7.50
cis-3-Hexen-1-ol	0.32 ± 0.04a	0.39 ± 0.02a	0.37 ± 0.01a	0.38 ± 0.01a	0.36 ± 0.02a	0.40
Total	333.10	318.33	315.36	310.12	311.51	
Volatile fatty acids						
Hexanoic acid	3.20 ± 0.57AB	2.42 ± 0.80B	2.94 ± 0.46B	3.51 ± 0.36AB	4.09 ± 0.83A	0.42
Octanoic acid	13.23 ± 0.20A	10.24 ± 1.08B	12.35 ± 0.71AB	13.17 ± 0.18A	13.82 ± 0.71A	0.50
Decanoic acid	9.19 ± 0.03A	6.93 ± 0.13B	8.59 ± 0.23A	8.92 ± 0.19A	8.98 ± 0.28A	10
Dodecanoic acid	2.08 ± 0.59AB	2.78 ± 0.81A	ND	0.52 ± 0.73B	ND	—
Total	27.70	22.37	23.88	26.12	26.89	
Acetate esters						
Butyl acetate	0.38 ± 0.13a	0.40 ± 0.16a	0.48 ± 0.05A	0.45 ± 0.15a	0.42 ± 0.14a	1.60
Isoamyl acetate	2.83 ± 0.37b	10.28 ± 0.46a	7.29 ± 0.04ab	4.73 ± 0.20b	4.02 ± 0.45ab	0.26
Hexyl acetate	4.72 ± 0.06a	4.32 ± 0.03a	4.63 ± 0.30a	4.39 ± 0.01a	4.61 ± 0.09a	0.67
Phenylethyl acetate	1.49 ± 0.01b	3.67 ± 0.02a	3.62 ± 0.05a	1.89 ± 0.12b	2.28 ± 0.07b	0.25
Total	9.42	18.67	16.02	11.46	9.05	
Ethyl esters						
Ethyl hexanoate	0.84 ± 0.04b	1.40 ± 0.14a	1.31 ± 0.03a	0.95 ± 0.05b	0.96 ± 0.01b	0.08
Ethyl octanoate	0.76 ± 0.01a	0.67 ± 0.02b	0.72 ± 0.01a	0.73 ± 0.01a	0.75 ± 0.02a	0.58
Ethyl decanoate	0.45 ± 0.01a	0.43 ± 0.01a	0.45 ± 0.01a	0.42 ± 0.02a	0.41 ± 0.04a	0.40
Ethyl dodecanoate	0.61 ± 0.07a	0.72 ± 0.03A	0.79 ± 0.11a	0.77 ± 0.07a	0.83 ± 0.01a	1.50
Total	2.66	3.22	3.27	2.87	2.95	
Terpenoids						
(-)-Rose oxide	1.10 ± 0.57a	1.04 ± 0.25a	1.32 ± 0.08a	1.28 ± 0.08a	0.89 ± 0.27a	0.10
Linalool	0.97 ± 0.37a	0.22 ± 0.02b	0.59 ± 0.02ab	0.45 ± 0.01ab	0.59 ± 0.12ab	0.05
Linalyl acetate	ND	0.46 ± 0.06a	0.28 ± 0.08b	0.29 ± 0.07b	ND	0.05
α-Terpineol	1.56 ± 0.11a	1.20 ± 0.47a	1.75 ± 0.15a	1.56 ± 0.31a	1.56 ± 0.09a	0.40
Citronellol	0.32 ± 0.18a	0.34 ± 0.09a	0.34 ± 0.11a	0.27 ± 0.15a	0.30 ± 0.09a	0.40
Nerol	0.42 ± 0.02a	0.60 ± 0.14a	0.39 ± 0.01a	0.45 ± 0.08a	0.42 ± 0.14a	0.40
Geraniol	0.52 ± 0.14a	0.18 ± 0.26a	0.49 ± 0.08a	0.26 ± 0.36a	0.52 ± 0.39a	0.03
Total	4.89	3.70	4.82	4.29	3.88	
Other volatile compounds						
Ethanal	33.56 ± 4.33a	26.67 ± 4.55ab	19.28 ± 1.73b	23.85 ± 0.01ab	30.03 ± 0.83ab	100
Diethyl succinate	3.77 ± 0.42ab	4.86 ± 0.40a	4.61 ± 0.04ab	3.5 ± 0.23b	3.57 ± 0.01a	200
Ethyl acetate	43.03 ± 2.71a	44.15 ± 0.01a	45.57 ± 0.04a	41.37 ± 6.07a	36.40 ± 8.11a	160
Methanol	54.29 ± 2.28a	49.91 ± 1.62a	54.90 ± 3.99a	49.76 ± 4.24a	54.98 ± 6.06a	—

Statistical analysis ANOVA ($n = 3$) at 95% confidence level with same letters in the row indicating no significant difference. ND, below detection limit. †Olfactory thresholds (mg/L) were obtained from Guth (1997), Lambrechts and Pretorius (2000), Ferreira et al. (2000), Ribéreau-Gayon et al. (2006) and Sacrens et al. (2010).

characteristics of muscat cultivars, these properties are responsible for the growing acceptance, demand and production of these wines (Rizzon et al. 2008).

In recent years, a combination of chemical and sensory analysis has shown that some non-*Saccharomyces* yeast species are able to increase wine complexity and general

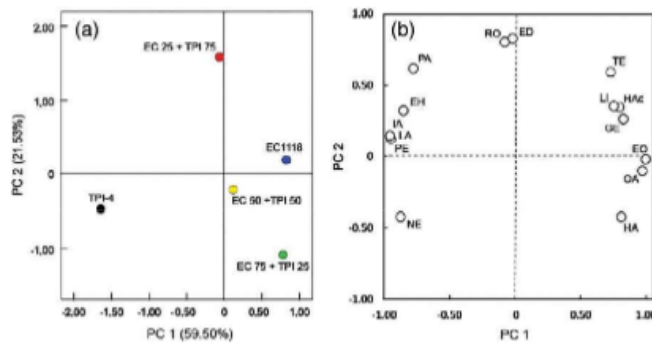


Figure 2. Principal component analysis based on the odour activity values of volatile compounds in Moscato Branco wines fermented with *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 (●), *Torulaspota delbrueckii* TPI-4 (●), and co-fermented with *S. cerevisiae*, and *T. delbrueckii* [EC1118 (25%) + TPI-4 (75%)] (●); [EC1118 (50%) + TPI-4 (50%)] (●) and [EC1118 (75%) + TPI-4 (25%)] (●). (a) Wines distribution and (b) variables contribution. Rose oxide (RO), isoamyl acetate (IA), ethyl hexanoate (EH), linalyl acetate (LA), 2-phenylethanol (PE), nerol (NE), 2-phenylethyl acetate (PA), ethyl decanoate (ED), terpineol (TE), linalool (LI), hexyl acetate (HA), geraniol (GE), ethyl octanoate (EO), octanoic acid (OA) and hexanoic acid (HA).

Table 3. Sensory analysis of Moscato Branco wines fermented with monocultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii*, and co-fermented with various proportions of *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii*.

Attribute	Mean of scores (n = 10)				
	EC1118	EC1118 (75%) + TPI-4 (25%)	EC1118 (50%) + TPI-4 (50%)	EC1118 (25%) + TPI-4 (75%)	TPI-4
Colour intensity	2.77a	2.55a	2.64a	2.64a	2.23b
Colour tonality	2.60a	2.64a	2.59a	2.64a	2.14b
Aroma intensity	3.23a	3.05ab	2.91ab	2.91ab	2.86b
Aroma quality	2.45b	2.77ab	2.82a	2.86a	2.59b
Citric fruits	2.82a	2.73a	2.82a	2.64b	2.50b
White flowers	2.50a	2.41a	2.18b	2.27b	2.18b
Roses	1.78a	1.56b	1.76a	1.89a	1.84a
Tropical fruits	1.63c	1.72bc	1.87b	2.12a	2.08a
Spices	0.86b	0.95ab	0.86b	1.14a	1.23a
Honey	0.95a	0.73b	1.09a	0.86a	0.86a
Papaya	1.25ab	1.09b	1.00b	1.41a	1.64a
Herbaceous	1.64a	1.59a	1.45ab	1.41b	1.25b
Acetic aroma	0.68b	0.59c	0.36c	0.36c	0.82a
Off-aroma	1.23a	1.05ab	0.91b	0.68c	1.05ab
Flavour intensity	2.67b	2.73ab	2.59b	2.82a	2.68b
Flavour sharpness	2.00b	2.09b	2.36a	2.41a	2.27a
Acidity	3.55a	3.55a	3.41a	3.41a	3.64a
Bitterness	1.59a	1.50a	1.45ab	1.36b	1.41ab
Off-flavour	1.68a	1.23b	0.91b	1.00b	1.00b
Persistence	2.50a	2.59a	2.41a	2.55a	2.55a
General quality	78.82b	79.18b	79.64ab	81.18a	80.27ab

Different letters in a row represent a significant difference by the Tukey test at 95% confidence.

quality, breaking the paradigm that *Saccharomyces* yeasts are the only yeasts able to undertake a proper fermentation to produce high quality wines and that considered all other yeasts as spoilage microorganisms. Among the non-*Saccharomyces* yeasts, *T. delbrueckii* has received special attention. Experimental data showed that mixed or sequential fermentations with *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* resulted in wines with improved aromatic and general sensory characteristics. Due to its medium ethanol tolerance (up to 8% v/v), however, the contribution by *T. delbrueckii* occurs at the beginning of fermentation, as from the middle to the end of the process it is rapidly overcome by *S. cerevisiae*.

To increase the contribution of *T. delbrueckii* we selected an ethanol tolerant strain (10% v/v), named TPI-4, among 30 isolates obtained from Brazilian vineyards. This strain showed also low production of H₂S and sulfite and good sensory characteristics which makes it suitable for wine production. Under the particular composition of muscat must,

low sugar concentration and high TA, TPI-4 was able to complete fermentation (0.31 g/L residual sugar) attaining 8.60% (v/v) ethanol in 10 days, with a fermentation behaviour similar to that of the *S. cerevisiae* Control strain, and to that of mixed cultures (EC1118/TPI-4). Wines fermented with *T. delbrueckii*, however, reached a lower concentration of residual sugar indicating that this species deviates sugar metabolism to alternative pathways. High production of two by-products of sugar metabolism have been reported in wines produced with *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* mixed cultures: glycerol (Belda et al. 2017) and succinic acid (Ciani et al. 2016). In contrast, the glycerol concentration of Moscato Branco wines fermented with *T. delbrueckii*, *S. cerevisiae* and mixed cultures was similar; however, although the concentration of succinic acid in the experiments was not evaluated, the higher TA and diethyl succinate concentration detected in wines produced with TPI-4 and 25% EC1118/75% TPI-4 are indicative of higher production of succinic acid by *T. delbrueckii*.

The expressive presence of *T. delbrueckii* at the end of muscat fermentations initiated with 25% EC1118/75% TPI-4 and 50% EC1118/50% TPI-4 demonstrated the efficiency and competitiveness of the TPI-4 strain. Moreover, fermentations with mix cultures, particularly 25% EC1118/75% TPI-4, resulted in wines with a lower alcohol concentration, compared with that of axenic cultures and can be an alternative for lowering ethanol concentration of wines, a feature desired by wine market (Ozturk and Anli 2014).

The analysis of aromatic compounds showed that independent of yeast strain, the total concentration of higher alcohols was below the 300 g/L reported by several authors as a limit below which higher alcohols contribute positively to wine aromatic complexity (Guth and Sies 2002). Despite it, wines prepared from *T. delbrueckii* and mixed cultures showed a lower overall higher alcohol concentration corroborating the results reported by Rojas et al. (2003), Azzolini et al. (2015) and Lu et al. (2015). As previously reported by Azzolini et al. (2015) and Lu et al. (2015) using other strains

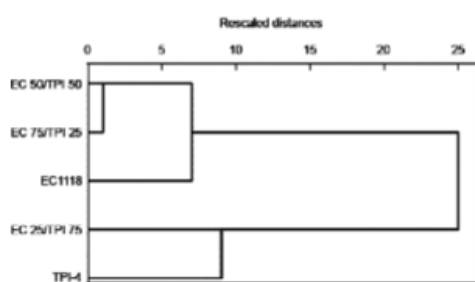


Figure 3. Dendrogram based on the sensory attributes of Moscato Branco wines fermented with *Saccharomyces cerevisiae* (EC1118), *Torulaspota delbrueckii* (TPI-4) and co-fermented with EC1118 (50%) + TPI-4 (50%), EC1118 (75%) + TPI-4 (25%) and EC1118 (25%) + TPI-4 (75%). The dendrogram was constructed using the average linkage between groups algorithm.

of *T. delbrueckii*, wines fermented with TPI-4 exhibited the highest concentration of 2-phenylethanol, the only higher alcohol considered to be aromatically positive.

The concentration of acetate esters, a group of important floral and fruity smelling compounds, was significantly higher in wines obtained with *T. delbrueckii* and 25% EC1118/75% TPI-4 mixed cultures than in those fermented by EC1118. A significant difference was observed for isoamyl acetate (banana, pear) and phenylethyl acetate (rose, honey, fruity, flowery). The twofold difference in total acetates between *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* may be attributed to a higher alcohol acetyltransferase activity, responsible for the transfer of the acetyl group of acetyl-CoA to higher alcohols (Saerens et al. 2010). High production of acetates by *T. delbrueckii* has been reported by several authors using different strains in sequential and co-fermentations of red and white wines (Bely et al. 2008, Comitini et al. 2011, Loira et al. 2014, Renault et al. 2015, Canonico et al. 2016), mango wine (Sadiniemi et al. 2012) and lychee wines (Chen and Liu 2016). Moreover, wines obtained with TPI-4 and mixed cultures exhibited a high concentration of another group of aromatically positive compounds, ethyl esters of fatty acids, which are produced enzymatically during fermentation, and/or from spontaneous ethanolysis of volatile fatty acids (Saerens et al. 2010).

Among free monoterpenoids, the most characteristic compounds of muscat grapes and wines, the concentration of just linalool and linalyl acetate was significantly different. Wines obtained with TPI-4 had the highest concentration of linalyl acetate and the lowest concentration of linalool, corroborating the efficient acetylation activity of *T. delbrueckii* evidenced by the high concentration of acetate esters of the higher alcohols. Moreover, as expected, wines obtained with 50% EC1118/50% TPI-4 and 25% EC1118/75% TPI-4 mixed cultures showed an intermediate concentration of these compounds.

The PCA based on OAV values clearly separates the wines. Wines inoculated with 25% EC1118/75% TPI-4 were characterised by a high concentration of rose oxide, ethyl decanoate, 2-phenylethyl acetate, hexyl acetate, ethyl hexanoate and α -terpineol and an intermediate value for 2-phenylethanol, hexanoic acid, octanoic acid, isoamyl acetate, linalool, linalyl acetate and geraniol. The profile of 25% EC1118/75% TPI-4 fermented wines resembled the characteristics of the wines fermented with monocultures of *T. delbrueckii*, and *S. cerevisiae*, indicating an important contribution of both species, while co-fermentations with a higher proportion of *Saccharomyces* resembled those fermented with EC1118 with a modest contribution of *T. delbrueckii*.

Sensory analysis confirmed the positive contribution of *T. delbrueckii* to wines, and the synergistic effect of *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* on the general quality of wines (Bely et al. 2008, Comitini et al. 2011, Loira et al. 2014, Renault et al. 2015, Canonico et al. 2016).

The main aroma with greatest intensity identified by the tasters, regardless of the yeast and co-inoculation used, was the citric aroma followed by the floral aroma typical of muscat wines. Wines fermented with EC1118 and a 50%/50% mixture, however, received the highest score for these attributes, while TPI-4 and particularly 25% EC1118/75% TPI-4 obtained a higher score for tropical fruits (pineapple and passionfruit), spices and papaya aroma. Wines made with 100% TPI-4 and 25% EC1118/75% TPI-4 received the highest score for general perception (80.2 and 81.3,

respectively). In general, sensory analysis reflected the differences observed on the volatile composition of wines, with higher aromatic scores for those wines with the higher concentration of esters and a lower concentration of volatile fatty acids and higher alcohols, a positive contribution of *T. delbrueckii* for the quality of Moscato Branco wines. In addition to volatile compounds and physicochemical characteristics evaluated in the present study, other compounds may contribute to the quality of wines obtained, such as the release of volatile thiols (Belda et al. 2017), mannoproteins (Belda et al. 2015), organic acids, among others and should be the objective of new studies to fully understand the contribution of *T. delbrueckii* to the sensory characteristics of muscato wines.

Conclusions

The work showed that *T. delbrueckii* (TPI-4) makes a positive contribution to the aromatic characteristics and general sensory quality of the wine, and that the co-fermentation with high proportion of *T. delbrueckii* TPI-4 versus *S. cerevisiae* EC1118 (75:25) has a synergistic effect enhancing the aroma characteristics, flavour intensity and general quality perception of Moscato Branco wines. This positive contribution can be attributed to the increase in the concentration of esters and the reduction in the concentration of higher alcohols and volatile fatty acids. Moreover, the interesting fermentative behaviour of TPI-4 indicates the potential of selected indigenous non-*Saccharomyces* strains for the production of wines with particular and typical aromatic characteristics.

Acknowledgements

The authors thank the Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares (PROSUP), the 'Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior' (CAPES), the Associação Farroupilhense de Vinhos e Espumantes (AFAVIN) and the Cooperativa Vinícola São João.

References

- Azzolini, M., Tosi, E., Lorenzini, M., Finato, F. and Zapparoli, G. (2015) Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspora delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **31**, 277–293.
- Belda, I., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A., Calderon, F. and Benito, S. (2015) Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspora delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99**, 1911–1922.
- Belda, I., Ruiz, J., Beisert, B., Navascués, E., Marquina, D., Calderón, F., Rauhut, D., Benito, S. and Santos, A. (2017) Influence of *Torulaspora delbrueckii* in varietal thiol (3-SH and 4-MSP) release in wine sequential fermentations. *International Journal of Food Microbiology* **257**, 183–191.
- Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf-Pomarède, I. and Dubourdiou, D. (2008) Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*–*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *International Journal of Food Microbiology* **122**, 312–320.
- Brasil (2005) Instrução normativa n° 24 de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. Revoga a portaria n° 77 de 27 de novembro de 1986. <http://www.agricultura.gov.br> [accessed 04/11/2017].
- Bordiga, M., Rinaldi, M., Locatelli, M., Piana, G. and Travaglia, F. (2013) Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots comparison. *Food Chemistry* **140**, 57–67.
- Canonico, L., Agarbatí, A., Comitini, F. and Ciani, M. (2016) *Torulaspora delbrueckii* in the brewing process: a new approach to enhance bioflavour and to reduce ethanol content. *Food Microbiology* **56**, 45–51.

- Chen, D. and Liu, S.Q. (2016) Impact of simultaneous and sequential fermentation with *Torulopsis delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on non-volatiles and volatiles of lychee wines. *LWT- Food Science and Technology* **65**, 53–61.
- Ciani, M., Morales, P., Comitini, F., Tronchoni, J., Canonico, L., Curiel, J.A., Oro, L., Rodrigues, A.J. and Gonzalez, R. (2016) Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines. *Frontiers in Microbiology* **7**, 642.
- Comitini, F., Gobbi, M., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I. and Ciani, M. (2011) Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology* **28**, 873–882.
- Culbert, J.A., Ristic, R., Ovington, L.A., Saliba, A.J. and Wilkinson, K.L. (2017) Sensory profiles and consumer acceptance of different styles of Australian Moscato. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **24**, 96–104.
- Domizio, P., Romani, C., Comitini, F., Gobbi, M., Lencioni, L., Mannazzu, I. and Ciani, M. (2011) Potential spoilage non-*Saccharomyces* yeasts in mixed cultures with *Saccharomyces cerevisiae*. *Annals of Microbiology* **61**, 137–144.
- Ferreira, V., López, R. and Cacho, J.F. (2000) Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**, 1659–1667.
- Garofalo, C., Russo, P., Beneduce, L., Massa, S., Spano, G. and Capozzi, V. (2015) Non-*Saccharomyces* biodiversity in wine and the 'microbial terroir': a survey on Nero di Troia wine from the Apulian region, Italy. *Annals of Microbiology* **66**, 143–150.
- Guth, H. (1997) Identification of character impact odorants of different white varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 3022–3026.
- Guth, H. and Sies, A. (2002) Flavour of wines: towards an understanding by reconstitution experiments and an analysis of ethanol's effect on odour activity of key compounds. Blair R.J., Williams P.J. and Høj P.B., eds. *Proceedings of the eleventh Australian wine industry technical conference*; 7–11 October 2001; Adelaide, SA, Australia (Australian Wine Industry Technical Conference: Adelaide, SA, Australia) pp. 128–139.
- International Organization for Standardization (1977) ISO 3591. Sensory analysis – apparatus – wine-tasting glass (International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland).
- International Organization for Standardization (2007) ISO 8589. Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms (International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland).
- Jolly, N.P., Augustyn, O.P.H. and Pretorius, I.S. (2006) The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *South African Journal of Enology and Viticulture* **27**, 15–39.
- King, E.S., Swiegers, J.H., Travis, B., Francis, L.L., Bastian, S.E. and Pretorius, I.S. (2008) Co-inoculated fermentations using *Saccharomyces* yeasts affect the volatile composition and sensory properties of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 10829–10837.
- Kurtzman, C.P. and Robnett, C.J. (1998) Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie Van Leeuwenhoek* **73**, 331–371.
- Lambrechts, M.G. and Pretorius, I.S. (2000) Yeast and its importance to wine aroma – a review. *South African Journal of Enology and Viticulture* **21**, 98–129.
- Loira, I., Vejarano, R., Bañuelos, M.A., Morata, A., Tesfaye, W., Uthurry, C., Villa, A., Cintora, I. and Suárez-Lepe, J.A. (2014) Influence of sequential fermentation with *Torulopsis delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on wine quality. *LWT- Food Science and Technology* **29**, 915–922.
- Lu, Y., Huang, D., Lee, P.R. and Liu, S.Q. (2015) Effects of co-fermentation and sequential inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulopsis delbrueckii* on durian wine composition. *International Journal of Food Science and Technology* **50**, 2653–2663.
- Mateo, J.J. and Jiménez, M. (2000) Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography* **881**, 557–567.
- O'Donnell, K. (1993) *Fusarium* and its near relatives. Reynolds D.R. and Taylor J.W., eds. *The fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematics* (CAB International: Wallingford, England) pp. 225–233.
- Ozturk, B. and Anli, E. (2014) Different techniques for reducing alcohol levels in wine: a review. *Bio Web of Conferences* **2**, 02012 [accessed 02/11/2017].
- Padilla, B., Gil, J.V. and Manzanares, P. (2016) Past and future of non-*Saccharomyces* yeasts: from spoilage microorganisms to biotechnological tools for improving wine aroma complexity. *Frontiers in Microbiology* **7**, 411.
- Palomo, E.S., Alañón, M.E.A., Maroto, M.C.D., Viñas, M.A.G. and Coello, M.S.P. (2009) Comparison of extraction methods for volatile compounds of muscat grape juice. *Talanta* **79**, 871–876.
- Peña, R.M., Barciela, J., Herrero, C. and García-Martín, S. (2005) Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. *Talanta* **67**, 129–135.
- Renault, P., Coulon, J., De Revel, G., Barbe, J.C. and Bely, M. (2015) Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement. *International Journal of Food Microbiology* **207**, 40–48.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. (2006) *Handbook of enology. 2. The chemistry of wines, stabilization and treatments*, 2nd edn (John Wiley: Chichester, England).
- Rizzon, L.A., Meneguzzo, J. and Gasparin, A.M. (2008) Sistema de produção de vinho moscatel espumante (Sistemas de produção: EMBRAPA, Bento Gonçalves). <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/vinho/SistemaProducaoVinhoMoscatelEspumante.htm> [accessed 22/11/2017].
- Rojas, V., Gil, J.V., Piñaga, F. and Manzanares, P. (2003) Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *International Journal of Food Microbiology* **86**, 181–188.
- Ruiz-García, L., Hellín, P., Flores, P. and Fenoll, J. (2014) Prediction of Muscat aroma in table grape by analysis of rose oxide. *Food Chemistry* **154**, 151–157.
- Sadinemi, V., Kondapalli, N. and Obulam, V.S.R. (2012) Effect of co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulopsis delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima* on the aroma and sensory properties of mango wine. *Annals of Microbiology* **62**, 1353–1360.
- Saerens, S.M., Delvaux, F.R., Verstrepen, K.J. and Thevelein, J.M. (2010) Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Biotechnology* **3**, 165–177.
- Webber, V., Dutra, V.S., Spinelli, F.R., Marcon, A.R., Carnieli, G.J. and Vanderlinde, R. (2014) Effect of glutathione addition in sparkling wine. *Food Chemistry* **159**, 391–398.
- Welke, J.E., Zanús, M., Lazarotto, M., Schmitt, K.G. and Zini, C.A. (2012) Volatile characterization by multivariate optimization of headspace-solid phase microextraction and sensorial evaluation of chardonnay base wines. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **23**, 678–687.

Manuscript received: 19 December 2017

Revised manuscript received: 1 March 2018

Accepted: 5 March 2018

4 CONCLUSÕES

Considerando os trabalhos realizados neste estudo, cada qual com seu objetivo, porém todos complementares para o melhor entendimento das características químicas e sensoriais dos vinhos tranquilos e espumantes moscatéis de Farroupilha, algumas considerações importantes serão descritas a seguir.

Durante o armazenamento em garrafas ocorre uma tendência na diminuição da qualidade geral dos espumantes moscatéis, associada principalmente ao aumento da intensidade de cor, assim como à redução da qualidade de aromas e à nitidez/franqueza. Esse declínio é particularmente elevado após três anos de armazenamento, resultando em produtos com aromas mais complexos, porém sem defeitos evidentes.

Em relação à coloração, nos dois primeiros anos de armazenamento (0 e 1 ano), a cor permanece estável e pouco intensa (Abs 420 nm- 0,019 e 0,028 respectivamente), amarelo com reflexos palha a esverdeado; com 2, 3, 4, 5 anos de armazenamento ocorre um pequeno aumento da intensidade de cor (Abs 420 nm- média de 0,06), amarelo palha com reflexos dourados; e, a partir de 7 anos, já têm-se uma coloração mais intensa (Abs 420 nm- 0,203), amarelo ouro. Em relação aos compostos fenólicos totais, com até 4 anos de armazenamento a concentração em mg.L^{-1} de ácido gálico é em média de 189,6; no 5º ano ocorre um aumento (249,0) e no 6º ano de armazenamento este aumento é ainda maior (388).

Os espumantes com menor tempo de armazenamento (0 e 1 ano) apresentaram maiores concentrações de acetato de isoamila (banana, pera), acetato de linalil (cítrico, bergamota), ácido octanóico (oleoso, manteiga), ácido decanóico (cítrico) e terpineol (lírio); já os espumantes com maior tempo de armazenamento (2, 3, 4, 5 e 6 anos) possuem maiores concentrações de etanal (maçã verde), metanol, 2-metil-1-butanol (trufado, amêndoas), butanoato de etila (maçã), hexanol (mel, cera de abelha), hexanal (maçã, cítrico, vegetal),

geraniol (rosas) e nerol (rosas). As concentrações da maioria dos álcoois e alguns terpenos tendem a aumentar ao longo do tempo de armazenamento e os acetatos tendem a diminuir, porém deve-se levar em consideração a influência em relação às safras, que conforme as condições meteorológicas, podem proporcionar vinhos com diferentes características. De um modo geral, os espumantes mais jovens possuem aromas cítricos e frutados e os espumantes mais velhos apresentam notas de maçã, trufas, amêndoas, rosas e mel. Muitos compostos estão presentes em ambos os grupos, jovens e velhos, porém em diferentes concentrações.

A diminuição dos aromas de frutas e flores tem sido associada à redução da concentração de ésteres, principalmente acetato de isoamila e acetato feniletila, e aumento da concentração de álcoois superiores e succinato de dietila durante o processo de envelhecimento de vinhos tranquilos e espumantes.

Os espumantes moscatéis de Farroupilha e os espumantes Asti italianos, apesar de distinguirem-se organolepticamente, obtiveram uma avaliação de qualidade geral muito próximas, sem defeitos e sem diferenças significativas na análise global sensorial, demonstrando serem produtos de qualidade. A análise de componentes principais demonstrou que os espumantes foram divididos em três grupos, dois italianos e um brasileiro. Verificou-se que os espumantes moscatéis de Farroupilha possuem uma homogeneidade em suas características químicas e sensoriais, as quais corroboram com as características da Indicação de Procedência de Farroupilha. Os espumantes Asti, apesar de estarem em uma região com denominação de origem, possuem algumas particularidades que os dividiram em dois grupos. Dentre as características químicas e sensoriais encontradas, os moscatéis de Farroupilha, possuem menor intensidade de cor e doçura, aromas de frutas (pêssego, maçã, abacaxi e pera) e flores brancas. Esses aromas podem estar associados à maior concentração de acetato de isoamila, acetato de hexila, óxido de roxa, linalol e citronelol. Os espumantes Asti, apresentaram maior intensidade de cor e doçura, menor intensidade em todos os aromas

encontrados nos espumantes brasileiros e maior intensidade dos aromas de leveduras e pão tostado, apresentando maiores concentrações de ácidos voláteis totais e ésteres etílicos que contribuíram para sua separação na análise sensorial.

As variedades utilizadas para a elaboração dos espumantes moscatéis aportam diferentes aromas para os mesmos, contribuindo para uma grande complexidade aromática. A variedade Moscato Giallo possui aromas que remetem a frutas como pera e pitanga e ervas de quintal como alecrim. Os vinhos da variedade Moscato R2 destacaram-se pelas notas de frutas cítricas e alecrim e os vinhos da variedade Moscato Branco apresentaram notas cítricas, pera e pitanga.

As leveduras utilizadas também influenciaram na composição aromática. Os vinhos elaborados com leveduras puras de *T. delbrueckii* apresentaram maiores teores de acetato de isoamila (banana), hexanoato de etila (frutas, anis), 2-metil-1-propanol (alcoólico) e 2-feniletanol (rosas). Essas concentrações tendem a diminuir nas fermentações mistas. Vinhos produzidos com *S. cerevisiae* 100% EC 1118 se destacaram pelos maiores teores de etanal (maçã verde), 1-propanol (pungente), octanoato de etila (abacaxi, pera) e linalol (rosas).

Além dos fatores edafoclimáticos, a composição química e aromática dos vinhos e espumantes são influenciados principalmente pela variedade os quais são elaborados, as leveduras utilizadas e o tempo de consumo desses produtos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo poderá contribuir para o setor vitivinícola nacional, principalmente para Farroupilha, que conquistou recentemente o reconhecimento de Indicação de Procedência para vinhos e outros subprodutos elaborados com uvas moscatéis, e auxiliará no conhecimento dos descritores aromáticos das variedades os quais elaboram-se os vinhos tranquilos e espumantes.

Apesar da tendência do consumo de vinhos e espumantes moscatéis serem entre 12 e 18 meses de armazenamento, este estudo demonstra que esses produtos podem ser consumidos com maior tempo de prateleira ou envelhecimento, sem perder as principais características sensoriais típicas destes produtos. A coloração inicia com baixa intensidade e tons de amarelo palha com reflexos esverdeados (até o 4º ano) e a partir do 5º ano tornam-se mais intensos com coloração amarelo ouro. Os aromas de frutas cítricas (limão, laranja), mamão papaia e frutas frescas (pêssego, maçã) dos primeiros anos de armazenamento, tornam-se mais complexos ao longo do tempo, aparecendo notas de cravo da Índia, mel, batata doce, caramelo e herbáceo a partir do 5º e principalmente do 6º ano.

Os espumantes brasileiros apresentaram organolepticamente qualidade geral muito próxima aos espumantes Asti italianos, o que demonstra que os produtos brasileiros têm muito boa qualidade. As diferenças químicas e sensoriais percebidas entre eles são atribuídas principalmente às peculiaridades das variedades utilizadas em cada região e ao “terroir”, assim como as diferenças culturais e tecnológicas.

O presente estudo permite concluir que os espumantes moscatéis brasileiros possuem um perfil bastante jovem cuja tendência de consumo se dá em até dois anos. Porém, mesmo havendo um tempo de prateleira maior que o usual, os produtos brasileiros mudam suas

características ao longo do armazenamento. Essas mudanças não aportam diferenças significativas na qualidade geral do produto, porém os aromas tornam-se mais complexos.

Os processos de extração de mostos e armazenamento redutivos (utilização de gases inertes, tratamentos a frio) podem contribuir para preservar por mais tempo as características do produto final ao longo do armazenamento. Assim como formas de extração de mosto submetidos a hiper oxidação com posterior clarificação, podem contribuir para a degradação de polifenóis oxidáveis, permitindo uma tomada de espuma sem interferência de compostos oxidásicos durante a fermentação.

6 BLIOGRAFIA COMPLEMENTAR

- Barón, R.; Mayén, M.; Mérida, J.; Medina, M. (1997). Changes in phenolic compounds and browning during biological aging of SherryType Wine. **J. Agric. Food Chem.** 45: 1682-1685.
- Bartowsky E.J., Pretorius I.S. (2009). Microbial Formation and Modification of Flavor and Off-Flavor Compounds in Wine. In: König H., Uden G., Fröhlich J. (eds) **Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine**. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bertrand, A. (1981). Formation des substances au cours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité des vins. **Soc Fr Microbiol**, Reims, pp. 251-267.
- Bordiga, M., Rinaldi, M., Locatelli, M., Piana, G., & Travaglia, F. (2013). Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plotscomparison. **Food Chem**, 140, 57–67.
- Brasil. Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. **Disponível (online)** http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2004/Lei/L10.970.htm#art8 (30 jul. 2017).
- _____. IN nº 24 de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. Revoga a portaria nº 77 de 27 de novembro de 1986. **Disponível (online)** www.agricultura.gov.br (04 abr. 2017).
- _____. Decreto nº 8198 de 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Disponível (online)**

- https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2014/decreto/d8198.htm (03 set. 2017).
- Burns, J.; Gardner, P.T.; Matthews, D.; Duthie, G.G.; Lean, M.E.J.; Crozier, A. (2001). Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **J. Agric. Food Chem.**, 49(12), 795–808.
- Cadastro vitícola, 2015. **Disponível (online)** <http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/home.html> (30 jul. 2017).
- Cañas, I. P. M., Garcia, P.A.T., Romero, G. (2011). Enhancement of flavour properties in wines using sequential inoculations of non-*Saccharomyces* (*Hansenula* and *Torulaspota*) and *Saccaromyces* yeast starter. **Vitis**, 50 (4): 177-182.
- Carrau, F. M. (2003). Characterization of yeast in relation to the ability to utilize nitrogen. Studies of aroma compounds. **PhDthesis**, Universidad de la Republica, Uruguay.
- Carrau, F. M.; Medina, K.; Boido, E.; Farina, L.; Gaggero, C.; Dellacassa, E. (2005). De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast. **FEMS Microbiol Lett.** 243:107–115.
- Castellari, M.; Sartini, E.; Fabiani, A.; Arfelli, G.; Amati, A. (2002). A nalysis of wine phenolics by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column. **J Chromatogr A**, 973, 221–227.
- Cejudo-Bastante, M.J.; Herмосín-Gutierrez, I.; Castro-Vazquez, L.I.; Pérez-Coello, M.S. (2011). Hyperoxygenation and bottle storage of Chardonnay white wines: Effects on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics. **J. Agric. Food Chem.** 59: 4171- 4182.
- Charoenchai, C.; Fleet, G.H.; Henschke, P. A.; Todd, B. (1997). Screening of non-*Saccharomyces* wine yeasts for the presence of extracellular hydrolytic enzymes. **Aust. J. Grape Wine Res.**,3: 2-8.

- Chen, F.; Tholl, D.; Bohlmann, J.; Pichersky, E. (2011). The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. **Plant J**, 66:212–229.
- Cheyrier, V.; Dueñas-Paton, M.; Salas, E.; Maury, C.; Souquet, J. M.; Sarni-Manchado, P.; Fulcrand, H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. **Am. J. Enology Vitic.**, 57: 298-305.
- Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I., Domizio, P. (2010). Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-Saccharomyces Yeasts in Winemaking. A review. **FEMS Yeast Research**. 10: 123133.
- Comitini, F., Gobbi, M., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I., Ciani, M. (2011). Selected nonSaccharomyces wine yeasts in controlled multistarter fermentations with Saccharomyces cerevisiae. **Food Microbiol**. 28: 873-882.
- Cordente, A. G.; Curtin, C. D.; Varela, C., Pretorius, I. S. (2012). Flavour-active wine yeasts. **Appl Microbiol Biotechnol**, 96:601–618.
- Crouzet, J. (2000). Los constituyentes volátiles de la etapa prefermentativa. In: **Fundamentos Científicos y Tecnológicos**. Mundi Prensa.
- Domizio, P.; Romani, C.; Lencioni, L.; Comitini, F.; Gobbi, M.; Mannazzu, I.; Ciani, M. (2011). Outlining a future for non-Saccharomyces yeasts: Selection of putative spoilage wine strains to be used in association with Saccharomyces cerevisiae for grape juice fermentation. **Appl Microbiol Biotechnol**. 147: 170-180.
- Duchêne E, Butterlin G, Claudel P, Dumas V, Jaegli N, Merdinoglu D (2009). A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocates with a major quantitative trait loci for terpenol content. **Theor Appl Genet**. 118:541–552.

- Escudero, A.; Asensio, E.; Cacho, J., Ferreira, V. (2002). Sensory and chemical changes of Young wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. **Food Chem**, v. 77, pp. 325-331.
- Fernández M.; Ubeda, J. F.; Briones, A. I. (2000). Typing of non-*Saccharomyces* yeasts with enzymatic activities of interest in wine-making. **Int. J. Food Microbiol.**,59(1–2): 29-36.
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. **J Sci Food Agr**, 80 (11), 1659-1667.
- Falqué, E.; Fernández, E.; Dubourdieu, D. (2000). Differentiation of white wines by their aromatic index. **Talanta**, 54 (2): 271 – 278.
- Flanzy, C. (2000). **Enología: fundamentos científicos y tecnológicos**. 1 ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 783 p.
- Fregoni, M., Fregoni, C., Ferrarini, R., Spagnolli, F. (2008). **Chimica viticolo-enologica. Elementi per la didattica di settore**. Editore Reda Torino. Torino 5ª ed. 232 p.
- Guerra, C. C.; Zanus, M. C. (2004). I Workshop Internacional de Pesquisa. A Produção de Vinhos em Regiões Tropicais. Características analíticas e sensoriais de vinhos produzidos no Vale do Submédio São Francisco - Brasil. **Disponível (online)** www.cnpqv.embrapa.br/publica/anais/wip2004/185.pdf (22 jan. 2017).
- Guth, H. Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. (1997). **J. Agric. Food Chem.** 45: 3027-3032.
- Heard, G.M. & Fleet, G.H. (1988). The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. **J. Appl. Bacteriol.** 65, 23-28.
- Hosry, L.; Auezova, L.; Sakr, A.; Hajj-Moussa, E. (2009). Browning susceptibility of white wine and antioxidant effect of glutathione. **Int. J. Food Sci. Technol.** 44: 2459-2463.

- Jackson, R.S. (2008). **Wine science: principles and applications**. Academic Press, Boston, USA.
- Jolly, N.P.; Augustyn, O.P.H.; Pretorius, I.S. (2006). The Role and Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Wine Production. **S. Afr. J. Enol. Vitic.** 27, 1.
- Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its Importance to Wine Aroma - A Review. **S. Afr. J. Enol. Vitic.** 21: 98-129.
- Landraut, N.; Poucheret, P.; Ravel, P.; Gasc, F.; Cros, G.; Teissedre, P.L. (2001). Antioxidant capacities and phenolic levels on French wines from different varieties and vintages. **J. Agric. Food Chem.**,49: 3341-3348.
- Lawless, H. T.; Heymann, H. (1998). **Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices**; Kluwer, Academic/Plenum Publishers: Massachusetts.
- Leighton, F.; Urquiaga, I.; Diez, M. S. (1997). **Propiedades antioxidantes del vino y sus componentes**. Presented at XXII World Congress of Vine and Wine. Buenos Aires.
- Lepe, S.J.A.; Leal, I.B. (2004). **Microbiología Enológica. Fundamentos De Vinificación**. 3^a ed Madrid: Mundi-Prensa, 716p.
- Lesschaeve, I. (2007). Sensory Evaluation of Wine and Commercial Realities: Review of Current Practices and Perspectives. **Am. J. Enology Vitic.** 58:2.
- Lona, A. A., 2013. Moscatel Espumante: trinta anos de história no Brasil. **Disponível (online)** <http://adolfolona.blogspot.com.br/2013/02/moscatel-espumante-35-anos-de-historia.html> (05 abr. 2018).
- Loscos, N.; Hernandez-Orte, P.; Cacho, J.; Ferreira, V. (2010). Evolution of the aroma composition of wines supplemented with grape flavour precursors from different varieties during accelerated wine ageing. **Food Chem**, v. 129, p. 205–221.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry** Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428.

- Molyneux, P. Songklanakarin, (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidante activity. **J. Sci. Technol.** 26 (2).
- Nasi, A.; De Gennaro, T.; Avara, V.; Nicollella, V.; Monaco, A.; Mercurio, V.; Addimanda, G.; Granato, T. M.; Chiasese, L.; Ferranti, P. (2010). Determination of varietal volatiles as quality and shelf-lifemarkers/origin and typicalness tracers in southern Italian wines. **Ital. J. Food Sci.** 2: 41–46.
- Nicolli, K. P., Welke, J. E., Closs, M., Camarão, E. B., Costa, G., Manfroi, V., Zini, C. A. (2015). Characterization of the Volatile Profile of Brazilian Moscatel Sparkling Wines Through Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography. **J. Braz. Chem. Soc.** (00): 1-20.
- OIV- MA-B5-19: R (2013). Folin-Ciocalteu index. Compendium of International Methods of Analysis – OIV.
- Palomo, E. S., Coello, P. M. S., Maroto, D.M.C., Viñas, G.M.A. Cabezudo, M. D. (2006). Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat “a petit grains” wines and effect of skin contact. **Food Chem.** 95 (2): 279–289.
- Papadopoulou, D.; Roussis, I.G. (2008). Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by glutathione and N-acetylcysteine. **Int J Food Sci Tech.** 43: 1053-1057.
- Penã, R.M.; Barciela, J.; Herrero, C.; García-Martín, S. (2005). Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. **Talanta.** 67: 129-135.
- Pivetta, M. DOCG Asti, o espumante doce do Piemonte, 2014. **Disponível (online):** <http://sequetin.blogspot.com.br/2010/06/docg-asti-o-espumante-doce-do-piemonte.html>. (14 out. 2017).

- Pretorius I.S., (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**. 16:675–729.
- Rainieri, S.; Pretorius, I. S. (2000). Selection and improvement of wine yeasts. **Annals of microbiol**, 50(1), 15-32.
- Ramey, D.D.; Ough, C.S. (1980). Volatile ester hydrolysis or formation during storage of model solutions and wines. **J Agr Food Chem**. 28, (5): 928-934.
- Rapp, A., Mandery, H. (1986). Wine aroma. **Experientia**. 42: 873-884.
- Renault, P.; Miot-Sertier, C.; Marullo, P.; Hernandez-Orte, P.; Lagarrigue, L.; Lonvaud-Funel, A.; Bely, M. (2009). Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulasporea delbrueckii* species: Potential applications in the wine industry. **Int. J Food Microb**. 134, 201-210.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (2006a) **Tratado de Enologia. Vol. 1. Microbiología del vino vinificaciones**. Buenos Aires, Hemisferio Sur, 2ª ed. 655 p.
- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (2006b). **Tratado de Enologia. Vol. 2. Química del Vino. Estabilización y Tratamientos**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 2ª ed. 554 p.
- Rizzon, L. A. (2010). **Metodologia para análise de vinho**. Embrapa Uva e Vinho, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 116p.
- Rizzon, L. A.; Dall’agnol, I. (2009). **Vinho Branco**. Coleção Agroindústria Familiar. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Uva e Vinho. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília.
- Rizzon, L. A.; Meneguzzo, J.; Gasparin, A. M. (2008). Sistema de produção de vinho moscatel espumante. Sistemas de produção, 17. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves.
- Disponível** **(online)**

- <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscateleEspumante/introducao.htm> (31 jul. 2017).
- Rizzon, L. A.; Gasparin, A. M. (2008). Sistema de produção de vinho moscatel espumante. Cultivares recomendadas. Sistemas de produção, 17. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves. **Disponível (online)**
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoMoscateleEspumante/introducao.htm> (13 nov. 2016).
- Rizzon, L. A.; Miele, A. (2001). Concentração de ácido tartárico dos vinhos da serra gaúcha. **Cienc Rural**. 31,(5): 893-895.
- Rizzon, L. A.; Sganzerla, V. A. A. (2007). Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves, RS. **Cienc Rural**. 37, (30): 911-914.
- Rojas, V.; Gil, J. V.; Piñaga, F.; Manzanares, P. (2003). Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. **Int J Food Microbiol**. 86: 181-188.
- Ruiz-Bejarano, M. J.; Castro-Mejías, R.; Rodríguez-Dodero, M. C.; García-Barroso, C. (2013). Study of the content in volatile compounds during the aging of sweet Sherry wines obtained from grapes cv. Muscat and fermented under diferente conditions. **Eur Food Res Technol**. 237: 905–922.
- Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J.A.; Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J. Science Food Agric**. 76: 270-276.
- Santos, B.A.C. Compostos voláteis e qualidade dos vinhos secos jovens varietal Cabernet Sauvignon produzidos em diferentes regiões do Brasil. (2006). Tese de doutorado. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas.
- Silva Ferreira, A.C.; Pinho, P.G.; Rodrigues, P.; Hogg, T. (2002). Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. **J Agric Food Chem**. 50: 5919-5924.

- Simpson, R.F.; Miller, G.C. (1983). Aroma composition of aged Riesling wine. **Vitis**. 22:51-63.
- Soares, R. D.; Welke, J. E.; Nicolli, K. P., Zanús, M., Camarão, E. B.; Manfroi, V.; Zini, C. A. (2015). Monitoring the evolution of volatile compounds using gas chromatography during the stages of production of Moscatel sparkling wine. **Food Chem.** 183: 291-304.
- Strauss, M.; Jolly, N., Lambrechts, M.; van Rensburg P. (2001). Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. **J. Appl. Microbiol.** 91:182-190.
- Styger, G.; Prior, B.; Bauer, F.F. (2011). Wine flavor and aroma. Revisão. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** 38:1145–1159.
- Usseglio-Tomasset, L. (1998). **Química Enológica**. Mundi- Prensa, Madrid.
- Vaimakis, V.; Roussis, I.G. (1996). Must oxygenation together with glutathione addition in the oxidation of white wine. **Food Chem.** 57, (3): 419-422.
- Viana, F.; Gil, J.; Genovés, S.; Vallés, S.; Manzanares, P. (2008). Rational selection of non-*Saccharomyces* wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits. **Food Microb.** 25: 778-785.
- Vivai Cooperativi di Rauscedo, 1969. **Disponível (online)** <http://www.vignaioli.it/servizi-tecnici/selezione-clonale/moscato-bianco/moscato-bianco-clone-r2/> (31 jul. 2017).
- Voirin, S ; Baumes, R ; Bayonove, C. (1990). Synthesis and nmr spectral properties of grape monoterpenyl glycosides. **Carbohyd. Res.** 207 : 39-56.
- Waterhouse, A. L. (2002). Wine Phenolics. In: **Annals** New York Academy of Sciences. New York Academy of Sciences, New York, USA.
- Webber, V., Dutra, V. S., Spinelli, F. R., Marcon, A. R., Carnieli, G. J. & Vanderlinde, R. (2014). Effect of glutathione addition in sparkling wine. **Food Chem.**, 159: 391-398.

- Welke, J. E.; Zanus, M.; Lazarotto, M.; Schmitt, K.G.; Zini, C.A. (2012). Volatile characterization by multivariate optimization of headspace-solid phase microextraction and sensorial evaluation of chardonnay base wines. *Journal J. Braz. Chem. Soc.* 23 (4), 678-687.
- Welke, J.E., Zanus, M., Lazarotto, M., Pulgati, F.H., Zini, C. A. (2014). Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. *Food Chem.* 164: 427-437.
- Wine Searcher. Moscato d'Asti Wine. (2014). **Disponível (online)** <http://www.wine-searcher.com/regions-moscato+d'asti>. (09 set. 2017).
- Zhang, M., Pan, Q., Yan, G., Duan, C. (2011) Using headspace solid phase micro-extraction for analysis of aromatic compounds during alcoholic fermentation of red wine. *Food Chem.* 125: 743-749.
- Zamora, F. M. (2003) **Elaboración y crianza del vino tinto. Aspectos científicos y praticos.** Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 255 p.
- Zanus, M. C. **Espumante Moscatel - o sabor certo para sua sobremesa.** (2014). Disponível (online): <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/moscatel.html>>. (01 abr. 2017).

7. ANEXOS

7.1 Metodologias das Análises Físico-Químicas

Realizadas segundo IN nº 24 de 08/09/2005 (Brasil, 2005) e Embrapa Uva e Vinho (Rizzon, 2010), conforme descritas abaixo.

7.1.1 Teor alcoólico

Para análise do teor alcoólico destilou-se 50mL dos vinhos em aparelho de destilação e realizou-se leitura direta do destilado em densímetro Marca Mettler Toledo.

7.1.2 Acidez total

Em um Bécher de 250ml, pipetaram-se 5ml de vinho e adicionaram-se 100ml de água destilada. Titulou-se com hidróxido de sódio 0,1N até pH 8.2. Os resultados foram expressos em ($meq.L^{-1}$), calculados através da multiplicação do volume de ml gastos na titulação pela normalidade da solução de hidróxido de sódio (0,1N) e por 1000, dividindo-se o resultado pelo volume de amostra (5ml).

7.1.3 Análise de pH

Para análise de pH, as amostras foram medidas diretamente em phmetro Digimed.

7.1.4 Dióxido de enxofre total ($SO_2 T$)

Pipetaram-se 50 ml de vinho num Erlenmeyer de 250ml, adicionaram-se 25ml da solução de hidróxido de potássio 1N, fechou-se, agitou-se e permaneceu em repouso por 15 minutos. A seguir, adicionaram-se 15ml de ácido sulfúrico a 20% e 2ml de amido 1% e titulou-se com iodo 0,02N.

O cálculo foi efetuado conforme a fórmula (mg/L):

$$SO_2 \text{ (total): } \frac{v \times N \times 32 \times 1000}{V}$$

Onde: v= volume de solução de iodo gasto na titulação em ml

N= normalidade de solução de iodo

V= volume da amostra de vinho em ml

7.1.5 Dióxido de enxofre livre ($SO_2 L$)

Pipetaram-se 50 ml de vinho num erlenmeyer de 250ml, adicionaram-se 2ml de ácido sulfúrico a 60% e 2ml de amido 1% e titulou-se com iodo 0,02N até a cor azulada persistente.

O cálculo foi efetuado conforme a fórmula (mg/L):

$$SO_2 \text{ (livre): } \frac{v \times N \times 32 \times 1000}{V}$$

Onde: v= volume de solução de iodo gasto na titulação em ml

N= normalidade de solução de iodo

V= volume da amostra de vinho em ml

7.1.6 Açúcares redutores e totais

Os açúcares totais (g.L^{-1}) foram quantificados através do método de Fehling. Pipetou-se 50 mL de amostra em balão volumétrico de 100mL e completou-se o volume com água destilada. Realizou-se uma titulação em branco: em um elenmeyer de 250mL, colocou-se 10 ml de fehling A ($69,278 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de cobre pentahidratado), 10 ml de fehling B [346 g.L^{-1} de tartarato duplo de sódio e potássio tetrahidratado ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e 100 g.L^{-1} de hidróxido de sódio], 50 ml de água destilada e 19mL da solução de glicose 0,5% e algumas bolinhas de vidro. Levou-se o frasco ao aquecimento no bico de Bunsen e, iniciada a ebulição, adicionou-se 3 gotas de azul de metileno (1%). Iniciou-se a agitação e titulou-se com glicose (0,5%) até a viragem (desaparecimento da cor azul). Realizou-se este procedimento em triplicata, anotou-se os ml gastos na titulação e calculou-se a média. Após realizou-se a titulação da amostra: em elenmeyer de 250 ml pipetou-se 10 ml de fehling A, 10 ml de fehling B, 40 ml de água destilada, 10 ml da amostra e bolinhas de vidro. Aqueceu-se em bico de Bunsen, e, ao iniciar a ebulição adicionou-se 3 gotas de azul de metileno e iniciou-se a titulação com a glicose 0,5%, sempre com agitação constante. Anotou-se os ml gastos na titulação e realizou-se o seguinte cálculo:

$$AR = \{[(b - a) \times 5] / V\} \times f_1 \times f_2$$

Onde: f_1 = fator de diluição da amostra (2); f_2 = fator de conversão para a expressão dos resultados (em glicose $f = 1$ e em sacarose $f = 0,96$); a = número de ml da solução de glicose gastos na titulação da amostra; b = número de ml da solução de glicose gastos na titulação do branco e V = volume de amostra preparada usada na titulação em ml.

7.1.7 Acidez volátil (AV)

Através de destilação, a separação dos ácidos voláteis se dá através do vapor de água. Pipetaram-se 20 mL do vinho, inseriu-se no balão do aparelho de destilação e levou-se à ebulição com a torneira de vapor aberta, afim de eliminar o ar do aparelho e, eventualmente o dióxido de carbono da água destilada. Em seguida, fechou-se a torneira para que o vapor d'água borbulhe na amostra, arrastando os ácidos voláteis. Recolheram-se 100 ml de destilado e iniciou-se a titulação com hidróxido de sódio 0,1 N, em presença de fenolftaleína. Seja n_1 o volume em mL gastos na titulação, N a normalidade da solução de hidróxido de sódio e V o volume total de amostra. O cálculo da acidez volátil bruta (meq/L) foi calculado segundo a fórmula:

$$AV \text{ (bruta)} = \frac{n_1 \times N \times 1000}{V}$$

Após a titulação do destilado, acidificou-se o meio com 1 gota de ácido clorídrico (1:3), adicionou-se 1mL da solução de amido indicador e titulou-se com iodo 0,01N até a coloração azul, sendo n_2 o volume de iodo gasto na titulação. Tornou-se o meio alcalino (rosa), com 10ml de solução saturada de bórax, acrescentou-se um cristal de iodeto de potássio e titulou-se com solução de iodo 0,01 N até a coloração azul estável. Seja n_3 o volume em mL de iodo gasto. A acidez volátil corrigida é dada pela fórmula:

$$AV \text{ (corrigida)} = 10 (n_1 - 0,1n_2 - 0,05n_3).$$

7.2 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais, Escurecimento e Índice De Cor

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (OIV, 2009), adaptado, em espectrofotômetro UV/VIS na absorvância de 750nm.

Em um tubo de ensaio adicionou-se: 0,1 ml da amostra; 7,4 ml de água destilada; 0,5 ml de Folin-Ciocalteu (0,2N); 2 ml de carbonato de sódio 20%. Após 30 minutos no escuro, realizou-se a leitura em 750 nm com cubetas de 1cm.

Realizou-se uma curva de calibração de ácido gálico nas concentrações de 10, 50, 100, 150, 200, 300 e 500 mg.L-1. Os compostos fenólicos totais foram expressos em mg.L-1 de ácido gálico conforme curva de calibração, dada pela equação: $y = 728,14x - 22,271$, com $R^2 = 0,9987$.

A susceptibilidade ao escurecimento foi determinada através da diferença das absorvâncias a 420 e 520 nm (Horsy et al., 2009).

O índice de cor foi realizado em espectrofotômetro UV/VIS em cubetas de 1cm lidos na absorvância de 420 (Ribéreau-Gayon et al. 2006b).

7.3 Ficha de análise sensorial dos vinhos moscatéis

Os vinhos tranquilos e espumantes foram avaliados através das fichas de análise sensorial, conforme Figura 7 e 8.

DEGUSTADOR:		DATA:			
AVALIAR (com nota de 0 a 5) A INTENSIDADE PERCEBIDA :					
0	0.5	1	1.5	2	2.5
				3	3,5
					4
					4.5
					5
nulo/pouco intenso			bastante intenso		
Característica		Código da amostra			
		1	2	3	4
Visual					
Intensidade de cor amarela					
Intensidade de perlage					
Qualidade da espuma					
Olfativo					
Frutas frescas	Cítricas (limão, laranja)				
	Mamão Papaia				
	Pêssego				
	Maçã / Maçã verde				
	Abacaxi				
	Pêra				
	Goiaba				
	Maracujá				
	Manga / Melão				
Floral	Pitanga				
	Jasmim				
	Rosas				
Ervas-de-quintal	Gerânio				
	Arruda				
	Mangericão				
	Alecrim				
Especiarias / Cravo-da-índia					
Aromas doces	Cidreira / Erva-doce				
	Mel				
	Batata doce				
Microbiológico	Caramelo				
	Fermento / Levedura				
	Pão / Pão tostado				
Herbáceo	Queijo / Lácteo				
	Feno/ palha)				
	Menta				
Volátil / Acético					
Odor indesejável					
Paladar					
Intensidade do sabor					
Nitidez/Franqueza					
Acidez					
Amargor					
Gosto indesejável					
Qualidade Geral (Escala de 0 a 100)					

Figura 7: Ficha descritiva de análise sensorial para os vinhos brancos moscatos tranquilos.

FICHA DESCRITIVA PARA ESPUMANTES MOSCATEIS				
DEGUSTADOR:				
DATA:				
AVALIAR (com nota de 0 a 5) A INTENSIDADE PERCEBIDA:				
0	0.5	1	1.5	2
2.5	3	3,5	4	4.5
5				
nulo/pouco intenso				bastante intenso
Característica	Código da amostra			
	1	2	3	4
Visual				
Intensidade de cor amarela				
Intensidade de perlage				
Qualidade da espuma				
Olfativo				
Intensidade de aroma				
Qualidade do aroma				
Frutas cítricas (limão, laranja...)				
Floral (Jasmim, Rosas, Gerânio)				
Ervas-de-quintal				
Cravo-da-índia				
Mel, batata doce, caramelo				
Mamão Papaia				
Frutas frescas (Pêssego, Maçã...)				
Herbáceo (Feno, Menta, palha)				
Volátil/Acético				
Odor indesejável				
Paladar				
Intensidade do sabor				
Nitidez/franqueza				
Creiosidade				
Doçura				
Acidez				
Amargor				
Gosto indesejável				
Persistência				
Qualidade Geral (Escala de 0 a 100)				

Figura 8: Ficha descritiva de análise sensorial para os vinhos espumantes moscatéis.

7.4 Análises Cromatográficas

7.4.1 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) Agilent® Plus série 6890 (EUA).

Sobre uma alíquota de 5mL de vinho destilado adicionou-se 70 μ L de uma solução 5g L⁻¹ de 4-metil-2-pentanol (padrão interno). O cromatograma obtido, conforme a Figura 9, foi comparado com o cromatograma de uma solução dos padrões envolvidos, segundo o método do padrão interno.

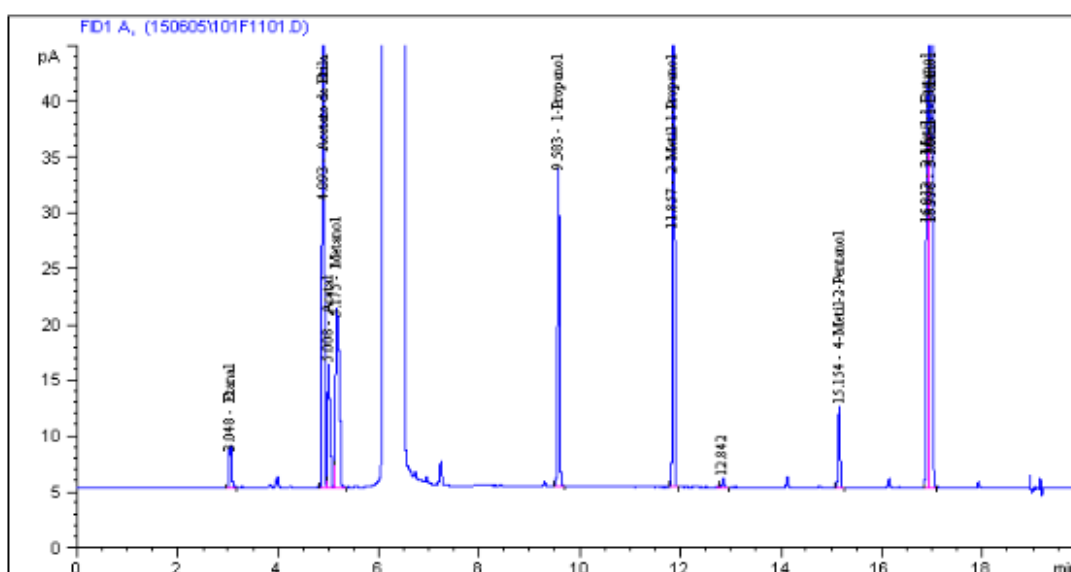


Figura 9: Cromatograma de etanal, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil- 1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol.

Injetou-se no cromatógrafo, 1,0 μ L da amostra no modo “split” com divisão 1:30 a 220°C, 1:1. Foi utilizada uma coluna capilar HP InnoWax 57CB de 30m de comprimento, 320

μm de diâmetro interno e $0,50 \mu\text{m}$ de espessura de filme. O gás vetor foi o hidrogênio em fluxo de $2,0 \text{ mL min}^{-1}(1:1)$ e detector nitrogênio, como gás auxiliar, a 37 mL min^{-1} . As condições de temperatura do forno foram: 40°C por 5 min; 40 a 90°C a 3°C min^{-1} ; 90 a 200°C a $10^\circ\text{C min}^{-1}$; 200°C por 5 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético em 350 mL min^{-1} e hidrogênio a 35 mL min^{-1} . A temperatura do detector foi controlada em 230°C (Webber *et al.* 2014).

Uma solução estoque dos padrões, em solução hidroalcoólica 50% v/v na concentração de 1 g L^{-1} foi preparada e conservada sob refrigeração. Foi realizada curva de calibração com 7 concentrações para cada composto analisado. Esta curva foi inserida na tabela de calibração do cromatógrafo e o cálculo foi realizado através do padrão interno, calculando-se também a linearidade e a repetibilidade do método.

7.4.2 Análises 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) em cromatógrafo Agilent® Plus série 6890 (EUA).

A 50 mL de vinho, adicionou-se $500 \mu\text{L}$ de 3-octanol a aproximadamente 250 mg L^{-1} como padrão interno, e $70 \mu\text{L}$ 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 μ L da amostra foi injetado no cromatógrafo no modo "split" com divisão 60 mL^{min}⁻¹(30:1) a 240°C. Foi utilizada uma coluna capilar HP Innowax de 30 m de comprimento, 250 μ m de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme. O gás vetor foi hidrogênio em fluxo de 2,0 mL min⁻¹ e nitrogênio, como gás auxiliar, a 37 mL min⁻¹. As condições de temperatura do forno foram: 40°C por 5 min; 40 a 230°C a 3°C min⁻¹; 230°C por 20 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético em 350mL min⁻¹ e hidrogênio a 35 mL min⁻¹. A temperatura do detector foi controlada em 230°C (Webber *et al.* 2014). O cromatograma da referência está representado na Figura 10.

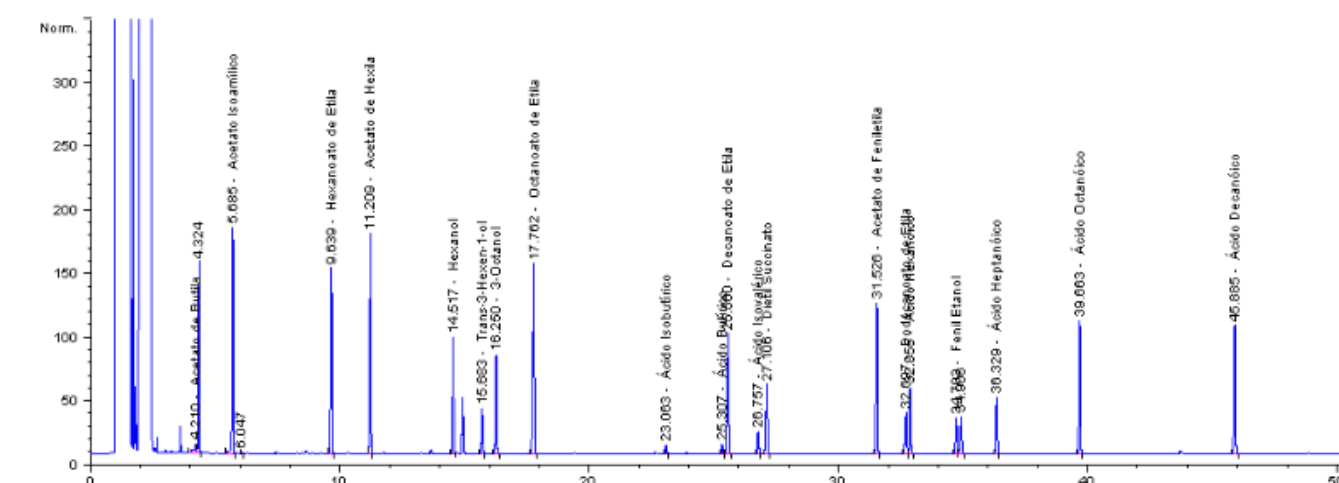


Figura 10: Cromatograma dos ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis e acetatos analisados.

Foi realizada curva de calibração com 7 concentrações para cada composto analisado. Esta curva foi inserida na tabela de calibração do cromatógrafo e os cálculos foram realizados através do padrão interno. O cromatograma obtido foi comparado com o cromatograma de uma solução dos padrões envolvidos.

7.4.3 Análises de Terpenos

Os terpenos (limoneno, linalol, α -terpineol, citronelol, nerol, geraniol, nerolidol), foram analisados utilizando-se micro extração em fase sólida (SPME) com fibra de Polyacrilat marca Supelco segundo adaptação da metodologia proposta por Welke *et al.*, (2012) e Peña *et al.* (2005). Em 20 mL de vinho adicionou-se 5g de NaCl e 80 μ L de padrão interno (3-octanol) a 250 mg. L⁻¹. A amostra foi agitada a 40°C por 5 min e, após, a fibra ((DVB/CAR/PDMS 50/30) foi inserida no espaço acima do líquido (headspace) mantendo em agitação por 40 min a 55°C. Após a extração, fibra foi injetada no cromatógrafo Agilent® Plus série 6890 com detector de ionização de chama (GC/FID). A temperatura do injetor foi de 250 °C; modo dividido 1:20, com permanência da fibra no injetor por 5 min e abertura da válvula após 5 min. A fibra permaneceu em dessorção por 5 min. e após foi retirada do injetor. A coluna utilizada foi CP – Inovax (Polietileno Glicol – 30 m \times 250 μ m \times 0,25 μ m), com hélio 5.0, em fluxo de 2,0 mL.min⁻¹. As condições do forno foram 50 °C por 1 min; 50° a 60° por 10°C.min⁻¹, por 1min; 60° a 200° a 25 °C.min⁻¹, por 8 min, com fluxo de gás constante de 1 mL.min⁻¹. Os compostos terpênicos analisados estão representados na Figura 11.

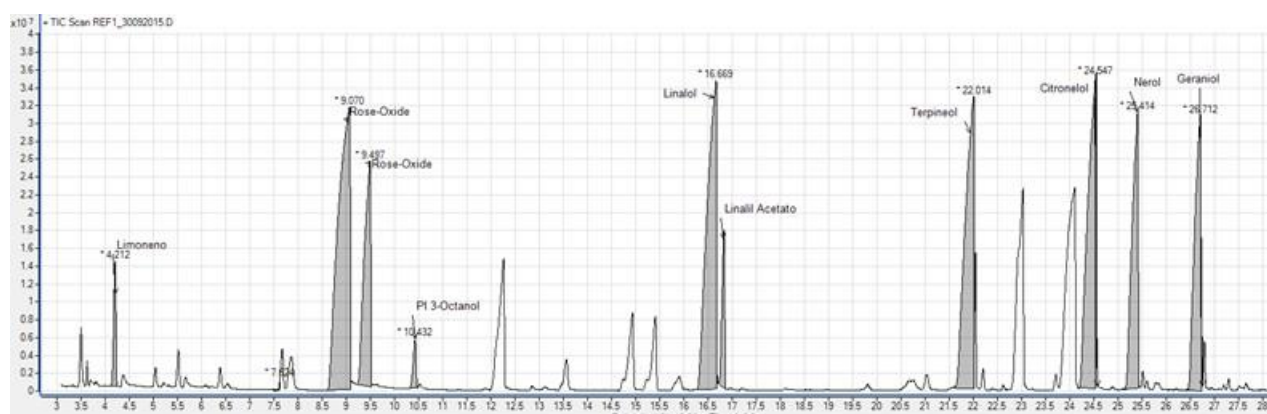


Figura 11: Cromatograma de terpenos analisados: limoneno, rose oxide, linalol, linalil acetato, terpineol, citronelol, nerol e geraniol.