

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Evandro Ficagna

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE MACERAÇÃO NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO FERMENTADO E DO DESTILADO DE PÊSSEGO**
[*Prunus persica* (L) Batsch], cv. CHIRIPÁ

Orientador: Jorge Luiz Ninow.

Co-orientador: Gildo Almeida da Silva.

FLORIANÓPOLIS - SC

JULHO DE 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE MACERAÇÃO NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO FERMENTADO E DO DESTILADO DE PÊSSEGO**

[*Prunus persica* (L) Batsch], cv. CHIRIPÁ

Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Jorge Luiz Ninow.

Co-orientador: Gildo Almeida da Silva.

Evandro Ficagna

FLORIANÓPOLIS, JULHO DE 2005

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE MACERAÇÃO NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO FERMENTADO E DO DESTILADO DE PÊSSEGO**

[*Prunus persica* (L) Batsch], cv. CHIRIPÁ

**Por
EVANDRO FICAGNA**

Dissertação julgada e aprovada como requisito para obtenção do título de **Mestre em Engenharia de Alimentos** no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, área de concentração **Processos da Indústria de Alimentos**.

Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow
Orientador

Prof. Dr. Gildo Almeida da Silva
Co-Orientador

Prof^a. Dr^a. Gláucia Maria F. de Aragão
Coordenadora do CPGENA

Banca examinadora:

Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow (EQA - UFSC)

Prof. Dr. José Miguel Müller (EQA - UFSC)

Prof. Dr. Aparecido Lima da Silva (CCA - UFSC)

Florianópolis, julho de 2005

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade na realização do curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow, pela orientação, amizade e estímulo.

Ao Co-orientador Dr. Gildo Almeida da Silva, pela amizade, dedicação, apoio científico e colaboração intensiva no transcorrer do trabalho.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho (EMBRAPA-CNPUV), pela estrutura e condições de trabalho fornecidas; e a todos seus funcionários que contribuíram para a realização do trabalho.

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves (CEFET-BG), pelo apoio, estrutura e condições de trabalho fornecidas; e a todos meus colegas que contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus companheiros e amigos, em especial Julio e Luciana, pelo incentivo recebido.

Aos meus pais Ângelo e Leda que tanto me apoiaram e confiaram em minha capacidade.

A Deus, pela vida...

SUMÁRIO

SUMÁRIO	i
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS.....	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
I - INTRODUÇÃO	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Fermentação alcoólica.....	9
2.2. Maceração.....	12
2.3. Utilização de dióxido de enxofre.....	14
2.4. Compostos voláteis no fermentado.....	20
2.4.1. <i>Metanol</i>	20
2.4.2. <i>Álcoois superiores</i>	22
2.4.3. <i>Aldeídos</i>	24
2.4.4. <i>Ácidos voláteis</i>	25
2.4.5. <i>Ésteres</i>	27
2.5. Processo de destilação.....	29
2.5.1. <i>Alambique</i>	32
2.5.2. <i>Compostos Voláteis no destilado</i>	36
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1. Matéria Prima.....	39
3.2. Obtenção do mosto.....	40
3.3. Microrganismo e preparo do inóculo	41
3.4. Fermentação do mosto de pêssego	42
3.5. Destilação	43
3.6. Análises físico-químicas efetuadas no mosto de pêssego	45
3.7. Análises dos minerais do fermentado.....	51
3.8. Análises do destilado.....	51
3.9. Análise estatística	52
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO	53

4.1. Análises do Mosto.....	53
4.2. Microrganismo e preparo do inóculo	55
4.3. Fermentação do mosto de pêssego	56
4.4. Influência do tempo de maceração nas características físico-químicas do fermentado	57
4.4.1. Teor alcoólico, densidade e ART.....	58
4.4.2. Extrato seco	59
4.4.3. Acidez e pH	60
4.4.4. Compostos fenólicos e cor.....	61
4.4.5. Dióxido de enxofre (SO ₂).....	63
4.5. Influência do tempo de maceração nos compostos voláteis do fermentado de pêssego	65
4.5.1. Etanal.....	65
4.5.2. Acetato de Etila.....	66
4.5.3. Metanol	68
4.5.4. Álcoois superiores.....	69
4.6. Influência do tempo de maceração nos elementos minerais do fermentado de pêssego	72
4.7. Influência do tempo de maceração nos compostos voláteis do destilado de pêssego	74
4.7.1. Etanal.....	75
4.7.2. Acetato de etila	76
4.7.3. Metanol	77
4.7.4. Álcoois superiores.....	78
V – CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	81
5.1. CONCLUSÕES	81
5.2. SUGESTÕES	82
BIBLIOGRAFIA	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema da atividade do anidrido sulfuroso (LEPE, 2004). ...	15
Figura 2.	Reações do ácido sulfuroso (H_2SO_3) com compostos de função aldeídica e cetônica.....	16
Figura 3.	Produção de álcoois superiores por <i>Saccharomyces</i>.....	23
Figura 4.	Esquema de um aparelho destilador simples (segundo MUTTON & MUTTON, 1992).....	32
Figura 5.	Esquema de um aparelho destilador de 3 corpos (segundo MUTTON & MUTTON, 1992).....	33
Figura 6.	Principais transformações químicas durante a destilação.	37
Figura 7.	Fluxograma das etapas de trabalho.	40
Figura 8.	Destilador descontínuo utilizado no experimento	43
Figura 9.	Crescimento de <i>Sacch cerevisiae</i> Embrapa 20B, expressa em unidades de crescimento óptica (DO), no meio G7 com 10 g.L^{-1} de sacarose comercial. Condições: Agitação 300 rpm, aeração 2 vvm de ar, temperatura 25° C, pH do meio antes da inoculação 5,5; volume de trabalho 35 L. Sem ajuste de pH... 	55
Figura 10.	Evolução dos açúcares redutores totais e do etanol durante a fermentação do mosto de pêssego.....	57
Figura 11.	Influência do tempo de maceração no extrato seco do fermentado de pêssego.....	59
Figura 12.	Influência do tempo de maceração sobre a acidez volátil e a acidez total no fermentado de pêssego.	60

<i>Figura 13. Influência do tempo de maceração sobre os teores de fenóis totais, hidroxycinamatos e flavonóides totais no fermentado de pêssego.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 14. Teores de SO₂ livre e total nos fermentados devido ao tempo de maceração.</i>	<i>63</i>
<i>Figura 15. Nível de acetato de etila devido ao tempo de maceração.</i>	<i>67</i>
<i>Figura 16. Concentração dos álcoois superiores e do metanol devido ao tempo de maceração no fermentado de pêssego.</i>	<i>70</i>
<i>Figura 17. Concentração dos álcoois superiores devido ao tempo de maceração no destilado de pêssego.....</i>	<i>78</i>

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Compostos precursores na formação dos álcoois na fermentação alcoólica.	24
TABELA 2.	Análises físico-químicas do mosto de pêssego (cv. Chiripá).	53
TABELA 3.	Determinações normais do fermentado.	58
TABELA 4.	Compostos voláteis do fermentado com diferentes tempos de maceração.	65
TABELA 5.	Elementos minerais no fermentado de pêssego.	72
TABELA 6.	Compostos voláteis do destilado de pêssego.	74

RESUMO

A cultivar de pêssegos “tipo mesa” Chiripá é a mais plantada no sul do Brasil. Representa 50% da produção na região da Encosta Superior Nordeste do Rio Grande do Sul. A cultura destaca-se por sua importância econômica e social, constituindo-se em uma alternativa para a diversificação da matriz produtora, absorção de mão de obra familiar e geração de renda para as pequenas propriedades. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência do tempo de maceração sobre a composição química do fermentado e do destilado de pêssego cv. Chiripá. Os resultados obtidos demonstraram que o tempo de maceração influenciou significativamente em nove das 47 análises físico-químicas. No fermentado, os elementos minerais e a maioria dos compostos voláteis não foram influenciados pelo tempo de maceração. O acetato de etila apresentou decréscimo com o aumento do tempo da maceração. As análises efetuadas nos fermentados mostraram uma variação significativa no que se refere ao extrato seco, à relação álcool em peso extrato seco reduzido, à acidez volátil, aos polifenóis totais, aos flavonóides totais e ao dióxido de enxofre livre. Com seis dias de maceração constatou-se a maior concentração de flavonóides totais, polifenóis totais e de metanol no fermentado. Quanto ao destilado, o tempo de maceração não influenciou significativamente a maioria dos componentes voláteis do destilado de pêssego. As exceções foram o etanal e o propanol que tiveram variações significativas ao nível de 1% e 5%, respectivamente. O metanol representa o maior empecilho para a elaboração do fermentado ou do destilado de pêssego da variedade Chiripá, pois os valores obtidos estiveram sempre acima do permitido pela legislação brasileira. Havendo a possibilidade de redução drástica do metanol, o tempo de maceração indicado para esta cultivar seria de seis dias, em virtude do aumento dos teores de polifenóis e dos flavonóides totais. Tais compostos apresentam características nutracêuticas importantes.

ABSTRACT

“Chiripá” peach is a table variety widely planted in southern region of Brazil. It represents 50% of the production in the region called Encosta Superior Nordeste, in Rio Grande do Sul - Brazil. This variety distinguishes itself by its economical and social value, since it is an alternative to the diversification of the producing área, and it is also responsible for absorbing familiar labour and by generating more income to the little properties.

The main goal of this work is to study the influence of maceration time upon the chemical composition of the fermented and the destilated of “chiripá” peach. Results have demonstrated that the maceration time had a significant influence in 9 of the 47 physico-chemical analyses. In the fruit fermented, mineral elements and the most volatile compounds were not influenced by macerating time. The ethyl acetate presented a decreasing level with the increasing of the maceration time. The analyses which have been done with the fruit fermented showed a significant variation concerning to the dry extract, to the alcohol in weight/reduced dry extract, to volatile acidity, to total polyphenoids, to total flavonoids and the free sulfur dioxide. After six days of maceration it was observed a higher concentration of total polyphenoids, total flavonoids and methanol in the fermented liquid. Concerning the peach destilated, the macerating time did not significantly influenced its volatile components. Although exception was noticed in relation to ethanal and propanol, which showed significant variations of 1% and 5%, respectively. Methanol represent the main obstacle to the elaboration of the peach fermented and the destilated of the “chiripá” variety, because the obtained values were always higher the ones permitted by Brazilian legislation.

Once we had the possibility of a drastic reduction of methanol, this variety would have a six-day maceration, as the study indicates mainly due to the level of total polyphenoids and flavonoids. These compounds present important nutraceutic features.

I - INTRODUÇÃO

O pessegueiro é uma espécie nativa da China, tendo sido encontradas referências na literatura chinesa de 2000 anos a. C.. Pertence à família *Rosaceae*, subfamília *Prunoidea*, gênero *Prunus* (L.) e subgênero *Amigdalus*. Todas as cultivares comerciais pertencem à espécie *Prunus persica* (L.) Batsch (SACHS & CAMPOS, 1998).

A produção de pêssegos constitui uma atividade econômica relevante e em expansão nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, onde tem sido uma das principais fontes de renda para milhares de famílias. Segundo RASEIRA & NAKASU (1998), mais de 3000 famílias têm na produção de pêssegos sua principal fonte de renda no Estado do Rio Grande do Sul.

A produção mundial de pêssegos é de, aproximadamente, nove milhões de toneladas/ano. Os principais produtores mundiais de pêssego no último ano do qual se dispõe estatísticas (1998) foram a China (2,5 a 3,0 milhões de toneladas), a Itália (1,0 a 1,5 milhões de toneladas), os Estados Unidos (1,0 a 1,5 milhões de toneladas) e a Espanha (0,5 a 1,0 milhão de toneladas). Neste mesmo ano (1998), o Brasil aparece como 13º produtor mundial de pêssegos, com 146 mil toneladas (MARODIN & SARTORI, 2000).

De acordo com RASEIRA & NAKASU (1998), o mercado de pêssegos no Brasil pode ser ainda ampliado, pois o país tem condições de absorver 300.000 toneladas de pêssegos de mesa. Para isso, é necessário produzir frutas de qualidade. O consumo de pêssegos no Brasil é baixo quando comparado ao de outros países. Segundo DUCROQUET & MONDIN (1996), o consumo de

pêssegos no Brasil é da ordem de 0,8 Kg *per capita* ao ano, enquanto que na Grécia é de 27 Kg, na Itália é de 23 Kg, no Chile é de 12,5 Kg e nos Estados Unidos é de 5,5 Kg.

O Rio Grande do Sul é o maior produtor de pêsegos do Brasil, com uma média de 80 mil toneladas/ano, seguido pelos Estados de SP, PR e SC, com tendência ao aumento de produtividade e de área plantada. Em 1997 eram comercializadas anualmente mais de 500 mil mudas em todo o sul do país (NAKASU *et al.*, 1997). Segundo MARODIN & SARTORI (2000), a Metade Sul do Rio Grande do Sul responde por mais de 50% da área plantada do Estado, com mais de 7 mil hectares. Esta região se caracteriza pela produção de frutas destinadas à indústria. Por outro lado, a região da Encosta Superior Nordeste e da Grande Porto Alegre são responsáveis pela produção de frutas para consumo *in natura*. Segundo PERAZZOLO (1999), a produção anual, em 1999, na região da Encosta Superior Nordeste era de 41.017 toneladas. Deste total, a cultivar Chiripá representa 50%, a cultivar Marli contribui com 40%, a cultivar Chimarrita participa com 5% e as demais cultivares contribuem com os 5% restantes. Na safra 2000/2001, a região da Serra Gaúcha produziu cerca de 46 mil toneladas de pêsego que, na sua totalidade, são destinadas ao mercado de consumo *in natura*, numa área de aproximadamente 3.200 hectares, o que representa uma produtividade superior a 14 toneladas/hectare. A cultura destaca-se por sua importância econômica e social, constituindo-se em uma alternativa para diversificação da matriz produtiva, absorção da mão-de-obra familiar e geração de renda às pequenas propriedades (SIDRA, 2002; PROTAS & MADAIL, 2003,).

A cultivar de pêssegos “tipo mesa” Chiripá, criada pela Embrapa de Pelotas (MEDEIROS & RASEIRA, 1998), é a mais plantada no sul do Brasil. Ela produz frutas médio-grandes, redondo-ovaladas, com peso variando de 100g a 190g e com alto acúmulo de sólidos solúveis (em torno de 15° Brix). A polpa é firme, branca, com região avermelhada junto ao caroço. A epiderme tem coloração de fundo creme-esverdeada e avermelhada na superfície, atingindo até 30% da fruta.

Essas frutas são climatéricas, com metabolismo acelerado e bastante susceptíveis a danos mecânicos. Além disso, são colhidas normalmente entre 15 de Dezembro e 15 de Janeiro quando registram-se os maiores volumes de oferta de pêssegos, diminuindo o preço de comercialização. Segundo PARUSSOLO (2001), é necessário adotar práticas de manejo de colheita e pós-colheita para conservá-las por mais tempo e assim prolongar o período de oferta, e viabilizar a expansão do abastecimento em outras regiões do país. As duas mais importantes práticas de manejo de colheita e pós-colheita são: 1) determinação de um estágio de maturação (também chamado ponto de colheita) que proporcione o melhor equilíbrio entre conservabilidade e qualidade sensorial (sabor, aroma, suculência, aspecto visual); e 2) uso de sistemas alternativos de armazenamento refrigerado, como atmosferas modificada (AM) e controlada (AC). Essas práticas nem sempre são possíveis e mesmo quando são adotadas não eliminam perdas significativas dentro da cadeia produtiva. Estas perdas poderiam ser minimizadas se este descarte para consumo *in natura* pudesse ser utilizado para outros fins como ocorre, por exemplo, na produção de vinhos com uvas para

consumo *in natura* que estão fora do padrão (manchas, tamanho das bagas e ponto de maturação inadequados, entre outros) .

Para o consumo *in natura* as características físicas, tais como formato do fruto e coloração da casca e da polpa dos frutos, são determinantes de qualidade. A firmeza da polpa deve ser macia e suculenta. Para a industrialização, principalmente conservas, o fruto deve ser firme, com excelente flavor e elevado teor de ácidos orgânicos (CHAN JÚNIOR, 1980). CHITARRA e CHITARRA (1990) consideram a relação Sólidos Solúveis Totais/Acidez Total Titulável (SST/ATT) uma das melhores formas de avaliação do sabor de um fruto, sendo considerado por KIMBALL (1984) até mais importante do que os seus valores tomados isoladamente.

Como os procedimentos de manejo citados, embora importantes, apresentam limitações, o uso adequado da matéria prima excedente constitui-se em alternativas que podem reduzir perdas e aumentar a renda familiar. Dentro deste contexto, objetivou-se com este trabalho estudar a viabilidade da produção de uma bebida fermentada de pêssego (*cv. Chiripá*). Para este fim foi analisada a influência do tempo de contato do mosto de pêssego com as partes sólidas da polpa sobre o fermentado e o destilado obtidos.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Não se sabe ao certo quando teve início o processo de elaboração de bebidas alcoólicas. Quanto ao álcool, dados relatam que os árabes o utilizavam cotidianamente, uma vez que foram autores de descrições mais precisas em meados do século X, supondo que eles criaram os termos álcool e alambique. Desde os antigos, caldeus, gregos e chineses, antes da era Cristã, a destilação já era realizada. As primeiras menções sobre álcool na Europa datam do século XII (BUSTOS, 1990).

A produção de aguardente deve ter começado em vinícolas nas regiões produtoras de bebidas fermentadas. Aparentemente sua origem remonta ao século VII, quando Marcus Gregus teria destilado vinho tinto e condensado os vapores num elmo, denominado “alembikos”. O nome dado ao produto destilado era “água da vida”, “acquavite” em italiano, “eau-de-vie” em francês e “uisgebeatha” em gaélico. Posteriormente os alquimistas levaram a fórmula para a França. Ao mesmo tempo, por força da expansão romana, os árabes, habitantes da península Sul da Ásia, apossaram-se da fórmula. Foram eles que descobriram os equipamentos para a destilação, semelhantes aos que conhecemos hoje. Eles não usavam a palavra *alkuhul*, e sim *al raga*, originando a palavra *arak*, uma aguardente misturada com licores de anis. Daí espalhou-se por toda a Europa e Ásia. Da França foi para a Itália. O destilado de uva ficou conhaque. Depois entrou em terras germânicas, onde a partir da cereja se destilava o kirsh. Subiu para a Escócia, onde se tornou popular o uísque, destilado da cevada. Do Oriente

Médio para o Extremo Oriente a aguardente servia para esquentar o frio das populações onde não se elaborava vinho. Na Rússia, a vodka de centeio; na China e no Japão, a fórmula de destilação beneficia o arroz, surgindo o sakê. O processo de elaboração foi também para Portugal, que utiliza para destilação seu produto nobre: a uva. Nasce aí a bagaceira (PATARO *et al.*, 2002). Os portugueses, em sua sede de exploração e na tentativa de tomar posse das terras recém descobertas, trazem ao Brasil a cana-de-açúcar, originária da Ásia Meridional. Assim, surgiram os núcleos de povoamento e agricultura.

Na América os índios brasileiros já utilizavam bebidas alcoólicas antes da chegada dos portugueses. Sabe-se que os ameríndios desconheciam o processo de destilação e que as bebidas por eles produzidas eram a partir da fermentação de mostos de caju, mandioca, banana-da-terra, milho, ananás, batata, jenipapo e mel de abelha. De acordo com certos cronistas portugueses e alemães dos séculos XVI e XVII, o preparo destas bebidas não diferia muito de uma tribo para outra, sendo comum a utilização de uma técnica conhecida como 'cauinagem'. Tal processo é utilizado na ativação ou inicialização do processo de fermentação, consistindo, basicamente, na mastigação prévia dos frutos ou raízes usados como matéria prima (CASCUDO, 1983).

De acordo com a legislação brasileira, a bebida alcoólica é definida como um produto refrescante, aperitivo ou estimulante destinado a ingestão humana no estado líquido, sem finalidade medicamentosa, exigindo que o produto destilado obtido de mosto fermentado seja o álcool etílico (AQUARONE *et al.*, 2001).

As bebidas alcoólicas são classificadas em dois grupos: fermentadas e destiladas, sendo que nas últimas os mostos após a fermentação sofrem algum processo de destilação.

As bebidas fermentadas são preparadas por fermentação e operações posteriores de clarificação e acabamento; entre elas encontram-se o vinho, obtido de uvas, e a cidra obtida de maçãs. Existem também fermentados obtidos de grãos e de outras partes vegetais, fermentados de seivas e fermentados de mel.

Em bebidas alcoólicas o álcool em maior quantidade é o álcool etílico ou etanol, um líquido incolor, límpido, de cheiro cáustico e ardente, miscível em água, peso específico 0,7932 a 15° C, massa específica 0,7830 g.L⁻¹ a 20° C, temperatura de ebulição 78,35° C, temperatura de solidificação -135° C, inflamável, bactericida, solvente de diversos compostos orgânicos e inorgânicos (BOURGEAIS, 1995).

O etanol pode ser obtido por via sintética através da hidratação dos hidrocarbonetos insaturados eteno e etino, dos gases do petróleo e do alcatrão da hulha, e por via fermentativa. Nesta, as leveduras etanologênicas fazem a conversão de mono, di e trissacarídeos em etanol.

O álcool etílico, ou etanol, foi descoberto por chineses, que o utilizavam com fins medicinais e em cultos taoístas. Por volta de 323 a.C. difundiu-se pela Europa, através do Egito e dos povos árabes que possuíam alambiques (BUSTOS, 1990). Segundo LAFON *et al.* (1973), a partir dos séculos XII e XIII circulavam na Europa tratados de alquimia, que mencionavam as propriedades mágicas e de inflamação do álcool, surgindo o nome “aguardente”.

Bebidas alcoólicas possuem características próprias de aroma e sabor conferidas pela presença de diversos constituintes do processo fermentativo. Além do etanol, muitos compostos orgânicos, como álcoois superiores, ácidos orgânicos e ésteres podem estar presentes. Do ponto de vista microbiológico, a variação qualitativa e quantitativa destes produtos é devida a linhagem de levedura utilizada (MENDONÇA, 1999). De acordo com DEMAIN (2000), todas as bebidas alcoólicas são produzidas por fermentação, sendo que algumas podem sofrer destilação após o processo fermentativo.

As aguardentes são bebidas alcoólicas fermento-destiladas provenientes de várias matérias-primas (AQUARONE *et al.*, 2001); predominando no Brasil, a produção de aguardente de cana-de-açúcar (LIMA, 1992).

Segundo o Diário Oficial da Comunidade Européia (1989) bebidas destiladas são soluções hidroalcoólicas com propriedades organolépticas especiais para consumo humano.

2.1. Fermentação alcoólica

A fermentação é um processo espontâneo, obtido por meio da contaminação de microrganismos. Foi considerada um processo metabólico exclusivo de microrganismos, ocorrendo na ausência de oxigênio. Atualmente é considerada um processo no qual a fosforilação ocorre em presença de substrato (CALDWELL, 1995). Podemos definir fermentação alcoólica como processo bioquímico pelo qual as leveduras transformam os açúcares do mosto em etanol e gás carbônico (ZAMBONELLI, 2003; NAVARRE, 1994).

O processo de fermentação ocorre graças à ação de enzimas presentes em determinados microrganismos, tais como as leveduras, que transformam os açúcares, susceptíveis a fermentação, presentes no mosto, em etanol, gás carbônico, glicerol, ácido succínico e outros compostos formados em quantidades menos relevantes como ácidos carboxílicos, ésteres, aldeídos e hidrocarbonetos superiores (AQUARONE *et al.*, 2001; PIGGOTT *et al.*, 1989).

A fermentação de um mosto é um processo bioquímico complexo, onde participam especialmente leveduras e bactérias. As leveduras são os microrganismos chave, pois são os responsáveis pela fermentação alcoólica.

Estas estão presentes na superfície dos frutos, superfícies dos materiais e equipamentos de fermentação. As linhagens procedentes dos frutos e do material de fermentação constituem a população indígena, selvagem ou autóctone de leveduras. A fermentação alcoólica pode ter início espontaneamente ou através da inoculação de leveduras selecionadas.

As fermentações espontâneas são aquelas que se realizam com as leveduras provenientes da fruta e ou do material que entra em contato com o mosto.

Quando é inoculada utilizam-se leveduras secas ativas da espécie *Sacch. cerevisiae* selecionadas. Entre as vantagens da fermentação inoculada com leveduras selecionadas frente à fermentação espontânea pode-se citar: (a) menor risco de parada ou lentidão da fermentação, já que com a inoculação se assegura uma concentração de células elevada e em boas condições fisiológicas, (b) produção de fermentados com menor acidez volátil e maior grau alcoólico, pois reduz a ação de leveduras indígenas com metabolismo pouco condizente com a qualidade desejada, (c) maior reprodutibilidade na qualidade do produto final, e (d) maior qualidade sensorial dos fermentados.

A levedura *Sacch. cerevisiae* é uma das espécies mais utilizadas em fermentações industriais. É a mais indicada em processos de fermentação alcoólica, porque suporta níveis elevados de etanol (12 a 15 % v/v). Hidrolisa oligossacarídeos, tais como maltotriose e maltotrealose, em glicose convertendo-os em etanol, como também tolera alta concentração de açúcar sendo osmotolerante (BELIN, 1995).

Em termos gerais, nos processos fermentativos para produção de álcool, é considerado importante que a levedura possua as seguintes características segundo SILVA & SILVA (1987), JARVIS, FOUNTERS & KENSILA (1995); HENICK-KLING (1995) e SILVA (1996): iniciar a fermentação rapidamente; apresentar curta “lag-phase”; ter relativa resistência a baixos valores de pH; tolerância à alta concentração de etanol; ser osmotolerante; ser capaz de

fermentar em temperaturas 10 a 25° C; possuir resistência ao fator “*killer*”; não produzir espuma excessiva; possuir características de floculação; produção mínima ou nula de sulfeto de hidrogênio e exibir um fator de conversão ($Y_{EtOH/S}$) razoável.

Segundo ZAMBONELLI (2003), na produção de fermentados de uva, a seleção adequada da linhagem de levedura para cada tipo de fermentação é uma estratégia muito importante para garantir uma fermentação correta, assim como para melhorar as características do produto. No conjunto de fatores que influem sobre a qualidade de um vinho, além da cultivar e da qualidade da uva, as leveduras podem produzir compostos que dão distinção ao produto obtido.

Existem diversos fatores tanto físicos como químicos que incidem positiva ou negativamente sobre a fermentação alcoólica (NAVARRE, 1994). Os fatores mais relevantes são os seguintes:

- *A temperatura* – Com uma maior temperatura a fermentação alcoólica transcorre mais rapidamente, mas é mais pura. Ou seja, produz-se menos etanol e maior quantidade de compostos secundários que em geral não demonstram melhora de qualidade no fermentado. As leveduras possuem temperatura ótima de 25° C a 30°C. Acima dos 35°C a atividade decresce rapidamente e em torno aos 45°C perdem a vitalidade. Abaixo de 10° C a maior parte das leveduras apresenta atividade metabólica baixa.

- *O oxigênio* – Ainda que a fermentação alcoólica seja um processo anaeróbico as leveduras mantêm uma leve respiração utilizando para isso o oxigênio combinado as moléculas do mosto. No caso de limitações de oxigênio

podem ser necessárias aerações para evitar parada ou lentidão na fermentação alcoólica.

- *Os nutrientes* - Os açúcares são as principais fontes de carbono e de energia para as leveduras e devem estar em concentração superior a 20 g.L^{-1} para que a fermentação alcoólica transcorra em sua velocidade máxima. Importante também são as substâncias nitrogenadas, os sais e os fatores de crescimento (vitaminas) que normalmente são encontrados nos mostos em concentrações suficientes para o desenvolvimento das leveduras.

- *Os compostos químicos de ação negativa* – O acúmulo dos próprios produtos da fermentação alcoólica podem causar inibição. Esses mesmos compostos juntamente a outros presentes no mosto como taninos, agrotóxicos e SO_2 podem atuar como inibidores do crescimento das leveduras (SILVA & SILVA, 1987).

2.2. Maceração

A maceração nos processos fermentativos é o período em que a parte sólida da fruta - película e ou semente - permanece em contato com o mosto. Durante este período as partes sólidas cedem parcialmente ao mosto seus constituintes, e ao mesmo tempo se apropriam de alguns constituintes do mosto (OREGLIA, 1978).

Entre os muitos compostos que as partes sólidas transferem ao mosto, recebem especial atenção os compostos fenólicos, as enzimas, polissacarídeos e substâncias nitrogenadas.

O exemplo clássico deste processo é a elaboração de vinho tinto tradicional, onde a maceração acontece juntamente com a fermentação alcoólica, e a formação do etanol e a elevação da temperatura contribuem para a dissolução dos constituintes da parte sólida. Este incremento em substâncias, principalmente de compostos fenólicos, é o responsável de todas as características específicas, visuais, olfativas e gustativas que diferenciam os vinhos tintos dos vinhos brancos (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998).

Os fatores que influem decisivamente na passagem dos compostos das partes sólidas para o mosto na maceração são a forma do esmagamento (mais ou menos enérgico), o tempo de permanência de contato das partes sólidas com o mosto e os constituintes do meio. Entre os constituintes do meio, a quantidade de etanol exerce papel fundamental (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998).

2.3. Utilização de dióxido de enxofre

O dióxido de enxofre (SO₂), também chamado de anidrido sulfuroso, é universalmente utilizado no setor alimentar, pois evita os processos oxidativos enzimáticos e não enzimáticos, inibe desenvolvimento de microrganismos, especialmente bactérias, possui ação desnaturante, reduzindo a atividade de determinadas enzimas, age como clarificante, aumenta a atividade de enzimas pécnicas, inibe a reação de Maillard, controla a formação de radicais livres, entre outros benefícios. Além disso, sua utilização influi sobre o metabolismo das leveduras, alterando a produção de compostos secundários, especialmente aumentando a produção de glicerol (SILVA & SILVA, 1987). Há muito tempo é empregado na conservação de recipientes vinários e ainda hoje tem papel importante na vinificação e conservação dos fermentados (OREGLIA, 1978).

O dióxido de enxofre não é um produto natural dos mostos, mas é considerado um composto natural dos fermentados. A sua presença é devido ao metabolismo do enxofre das leveduras, que ocorre no final do ciclo, onde são produzidas quantidades que variam de 10 a 40 mg.L⁻¹ de SO₂ (LARUE *et al.*, 1986; USSEGLIO-TOMASSET, 1995). LARUE *et al.* (1986) afirmam que a produção de SO₂ depende da espécie de levedura, sendo favorecida pelos teores elevados de sulfatos e pelas condições de fermentação.

Possui uma importância particular em enologia, devido ao papel significativo que tem estes compostos de enxofre no equilíbrio organoléptico dos vinhos (FLANZY, 1998). Este composto é geralmente volátil, reativo e é percebido em concentrações baixas. Suas diferentes formas de ação sobre a célula microbiana dependem de inúmeros fatores do meio. Seu limite de eficiência

contra bactérias depende da quantidade usada, principalmente em vinhos tintos, pois leveduras e bactérias não têm a mesma sensibilidade e variam entre linhagens. O uso do dióxido de enxofre na vinificação está relacionado com aspectos tecnológicos e sensoriais dos vinhos (PEYNAUD, 1989).

Ele é encontrado simultaneamente na forma combinada e livre. O dióxido de enxofre livre encontra-se no estado de gás " SO_2 ", de ácido " H_2SO_3 " e dos sais HSO_3^- e SO_3^{2-} . O dióxido de enxofre combinado está ligado com compostos orgânicos e inorgânicos do mosto e do vinho de forma algumas vezes reversível e outras irreversível (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1977; OREGLIA, 1978). A Figura 1 ilustra as várias formas de como pode encontrar-se o anidrido sulfuroso nos fermentados.

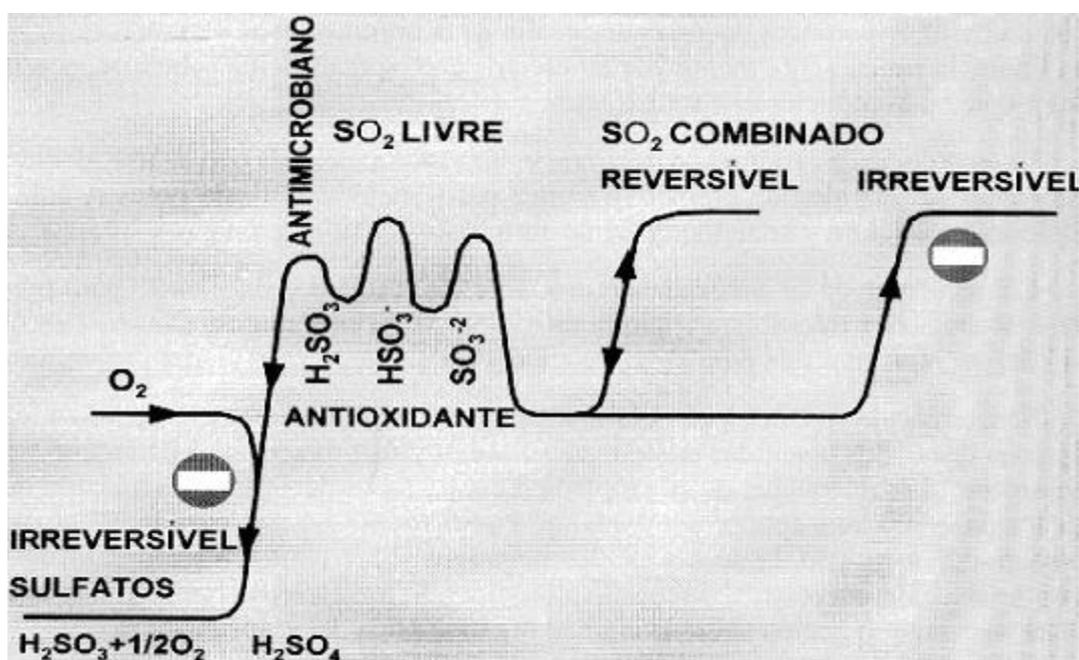


Figura 1. Esquema da atividade do anidrido sulfuroso (LEPE, 2004).

A prevalência do equilíbrio químico sobre as formas do SO_2 (estado livre e combinado) depende do valor do pH do fermentado, portanto quanto mais

elevado for o pH do vinho mais ácido sulfuroso (H_2SO_3) é salificado, tanto que a pH 3,8 praticamente cerca de 99% do ácido sulfuroso está na forma de bissulfito (HSO_3). Neste estado químico, o bissulfito pode combinar-se com numerosos componentes presentes no fermentado, sobretudo com aqueles de função carbonila (aldeídos e cetonas). Quando combinado, o SO_2 perde a maior parte de sua propriedade antioxidante e antisséptica (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1977).

A temperatura exerce influência sobre a relação SO_2 livre e combinado nos fermentados. O teor de SO_2 livre pode aumentar até 30% com o aumento da temperatura de 0 a 30°C (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1977 ;OREGLIA, 1978).

A maior parte do dióxido de enxofre incorporado ao mosto e ao fermentado se combina com compostos orgânicos, sobretudo com a função carbonila (aldeídica e cetônica), conforme Figura 2:

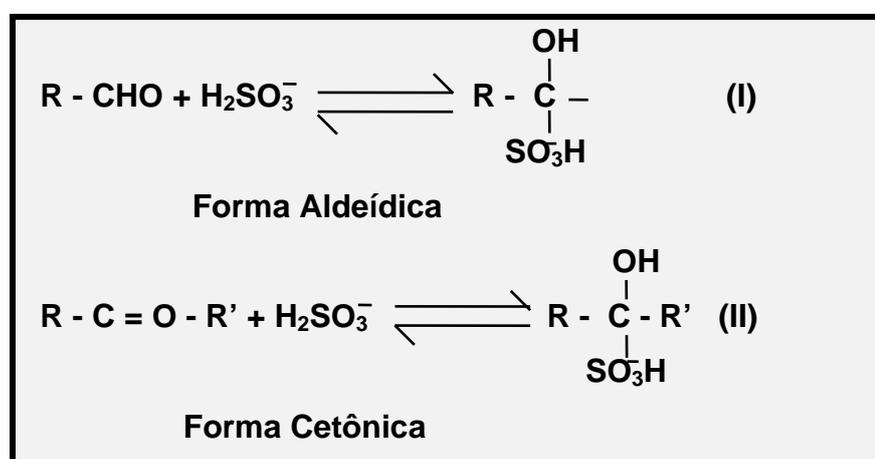


Figura 2. Reações do ácido sulfuroso (H_2SO_3) com compostos de função aldeídica e cetônica.

Segundo RIBÉREAU-GAYON *et al.* (1977) as principais substâncias que se combinam ao dióxido de enxofre nos mostos e vinhos são o acetaldeído, glicose,

arabinose, polissacarídios (arabanos, glucosanos), ácidos cetônicos (pirúvico e α -cetoglutárico); ácidos urônicos (galacturônico e glicurônico) e os produtos de oxidação dos açúcares (ácido ceto 2-glicônico, ácido diceto 2,5 glicônico, ceto 5-frutose e xilose); estes últimos aparecem em quantidades mais elevadas em vinhos de uvas com podridões. Outras substâncias que se combinam em pequenas quantidades com o SO_2 são: o ácido glioxílico, o ácido oxalacético, aldeído glicólico, aldeído glicérico, dehidroxicetona, acetona, acetoína, diacetil, substâncias pécticas e proteínas (DAUDT & MELLER, 1975; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1977).

O dióxido de enxofre no mosto possui ação seletiva sobre as leveduras. Age discriminando microrganismos que já se encontram no mosto e que são provenientes do pomar ou mesmo do próprio ambiente de fermentação. Com isso seleciona as leveduras que produzem melhores aromas e que apresentam maior capacidade de produção de álcool e impede o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis durante a fermentação (NAVARRE, 1994). Como anti-oxidante, o dióxido de enxofre evita que o oxigênio altere as características de frescor e frutado dos vinhos, também previne a oxidação de vinhos brancos e evita que os tintos percam sua tonalidade vermelho intenso ou violáceo mantendo mais estáveis as características de cor destes fermentados (ZOECKLEIN *et al.*, 2001).

Sobre as enzimas da podridão da uva, o dióxido de enxofre possui ação anti-oxidásica impedindo sua atividade, a qual ocasiona a oxidação e a turvação dos mostos e dos vinhos, chamada de quebra ou turvação oxidásica. Durante a fermentação age regulando a temperatura, moderando a velocidade de

decomposição dos açúcares e não permitindo que a temperatura se eleve demasiado. O fermentado assim obtido adquire um aroma mais fino. Nos vinhos brancos, ao retardar o início de fermentação, o dióxido de enxofre colabora para que ocorra uma melhor clarificação do mosto obtido logo após a prensagem (OREGLIA, 1978). Com o SO_2 as impurezas são separadas mais facilmente. O desenvolvimento das bactérias lácticas e acéticas é inibido pelo dióxido de enxofre, contribuindo para manter baixos os níveis de acidez volátil e impedindo a deterioração microbiológica do vinho. Possui ainda ação metabólica atuando na formação de etanal e glicerol.

Segundo CASTINO & UBIGLI (1991), o SO_2 exerce uma ação benéfica para as qualidades gustativas do vinho, devido ao seu baixo nível de oxidorredução; isso possibilita a combinação com determinados componentes do vinho (aldeídos e cetonas), evitando assim formação de substâncias com gosto desagradável. Aliado à utilização de uma linhagem de levedura pura, a adição de SO_2 favorece a formação de compostos voláteis que atribuem qualidade e sanidade ao vinho (TAMBORRA, 1993).

A dose utilizada de SO_2 nos fermentados de uva varia em função de alguns fatores (SILVA, 1994), como: o grau de maturação da uva, estado sanitário, temperatura, teor de açúcar e acidez. Não existindo regra fixa para a quantidade a se empregar, em geral aplica-se 30 a 50 mg.L^{-1} de SO_2 em uvas sadias de maturação média e elevada acidez, 5 a 10 mg.L^{-1} em mostos de uvas sadias bem maduras e de acidez fraca, e de 10 a 15 mg.L^{-1} em mosto de uvas com podridões (PEYNAUD, 1989). Em fermentados de maçã as recomendações práticas

baseiam-se no pH do mosto obtido: pH 3,0 a 3,3, 75 mg.L⁻¹; pH 3,3 a 3,5, 100 mg.L⁻¹, pH 3,5 a 3,8 , 150 mg.L⁻¹ (BEECH & CARR, 1977).

As principais formas de emprego do dióxido de enxofre em enologia são:

- estado gasoso, através de vapores de SO₂ proveniente da combustão do enxofre;
- estado líquido puro (liquefeito);
- estado de solução aquosa (5 a 6% de SO₂);
- estado salino:
 - bissulfito de potássio (KHSO₃) ⇒ 53,5% de SO₂;
 - metabissulfito de potássio (K₂S₂O₅) ⇒ 57,6% de SO₂;
 - sulfito de cálcio (CaSO₃) ⇒ 33,3% de SO₂;
 - sulfito de potássio (K₂SO₃) ⇒ 40,5% de SO₂.

Além das vantagens citadas, o emprego do SO₂ em fermentados de uva apresenta certas desvantagens de ordem tecnológica (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1977; OREGLIA, 1978):

- retarda o envelhecimento e pode inibir a fermentação malolática;
- favorece o aparecimento de instabilidade cúprica com problemas de cor;
- doses exageradas de SO₂ neutralizam o aroma ou o **bouquet**, e atribuem aos fermentados odor picante e irritante, e no final da degustação um amargo característico;
- favorece o aparecimento de gosto de ácido sulfídrico e de mercaptano em vinhos novos que permanecem muito tempo nas borras.

2.4. Compostos voláteis no fermentado

Os estudos dos compostos voláteis formados durante a fermentação alcoólica e os fatores que influenciam na sua síntese tiveram grande impulso a partir de 1960, graças ao progresso da cromatografia em fase gasosa (SOUFLEROS & BERTRAND, 1979).

As substâncias voláteis formadas durante a fermentação alcoólica apresentam um importante papel na definição do aroma dos vinhos, essencialmente os álcoois superiores, os ésteres, os ácidos voláteis e os aldeídos (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975).

2.4.1. Metanol

O metanol é um álcool de estrutura química simples, líquido, incolor, insípido e com leve odor alcoólico. Em determinadas situações, pode ser explosivo e emana vapores tóxicos em temperatura ambiente. Por ter uma estrutura química simples, o metanol é facilmente produzido e encontrado na natureza. O metanol é um constituinte naturalmente presente em bebidas alcoólicas. Algumas bebidas alcoólicas obtidas pela fermentação de frutas podem conter concentrações maiores de metanol, devido à ação de enzimas (pectina-metilesterases) sobre pectinas metoxiladas (BLINDER, *et al.*, 1988).

O metanol, organolepticamente, é imperceptível quando presente, mesmo em grandes quantidades. Entretanto, é substância que pode causar sérios danos a saúde do consumidor, se a quantidade ingerida, ultrapassar o limite tolerado pela legislação.

Devido à grande solubilidade em água e afinidade por lipídios, o metanol é rapidamente absorvido pelo trato digestivo, sendo encontrado em tecidos com altos teores de água e lipídios, por exemplo, olhos, músculos e sangue. As reações metabólicas do metanol são catalisadas pela enzima ADH-álcool desidrogenase hepática (SHAHANGIAN *et al.*, 1984).

A toxicidade do metanol em si é baixa, porém, no seu processo metabólico é produzido aldeído fórmico e ácido fórmico (BRUN & CABANIS, 1993). Esses compostos podem provocar acidose metabólica, lesões oculares, degeneração parenquimatosa do fígado, rins e coração; alterações epiteliais, enfiçema e disfunção cerebral progressiva, além de necrose pancreática (ROMANI, 1990).

GOODMAN & GILMAN (1990), definem os sintomas de uma intoxicação por tal substância como variáveis, desde uma dor de cabeça, náuseas, vômitos, até cegueira e morte. Sua ingestão, mesmo em quantidades reduzidas, em longos períodos de consumo pode ocasionar cegueira ou mesmo a morte (VOGT *et al.*, 1984).

Conforme TIMBRELL (1991), o tratamento de intoxicação aguda ou envenenamento por metanol, envolve primeiramente a administração de um antídoto, que é o etanol. Este vai atuar bloqueando o metabolismo do metanol, por competir pela enzima álcool desidrogenase, que tem maior afinidade com etanol. O metabolismo do metanol pode ser reduzido em até 90% com a administração de uma dose equimolar de etanol. Posteriormente, com bicarbonato de sódio intravenoso, é feita a correção da acidose metabólica. Em casos mais graves pode-se usar hemodiálise. Os limites máximos tolerados para o metanol, em bebidas, são fixados pela legislação brasileira em 0,25 mL/100 mL

de álcool anidro para aguardentes e outras bebidas destiladas, e $0,35 \text{ g.L}^{-1}$ para vinhos (Portaria 371/74 e Portaria 229/88 do Ministério da Agricultura). Esses limites são baseados na ingestão diária aceitável (IDA) e estabelecem parâmetros que auxiliam na detecção de metanol adicionado deliberada ou acidentalmente em bebidas.

As doses tóxicas do metanol para o homem variam de indivíduo para indivíduo. Alguns autores consideram que o consumo de 20 mL provoca cegueira e que 60 mL constitui a dose letal (BLINDER *et al.*, 1988).

Nas duas últimas décadas, foram relatadas por diferentes autores de diversos países ocorrências de casos de intoxicação e morte pelo consumo de bebidas alcoólicas contaminadas por metanol. Este composto é incolor e apresenta odor e sabor imperceptíveis nas bebidas, mesmo em quantidades significativas. Há na literatura citações de casos de intoxicação, em geral graves, que evidenciam o envolvimento do metanol (ZENEON *et al.*, 1996).

2.4.2. Álcoois superiores

Os álcoois com mais de dois átomos de carbono denominam-se álcoois superiores. Os álcoois superiores são compostos aromáticos secundários, ou seja, são produzidos durante a fermentação pela ação das leveduras. São componentes essenciais dentre os aromas e juntamente com os ésteres desempenham papel importante na complexidade aromática dos fermentados (SILVA & SILVA, 1987). Quando estão presentes em baixas concentrações

contribuem favoravelmente no aroma do vinho, mas acima de certos níveis (300 mg.L^{-1}) contribuem negativamente (RAPP & VERSINI, 1991).

A formação dos álcoois superiores durante a fermentação ocorre paralelamente à produção de etanol. São produzidos anabolicamente da glicose e catabolicamente pelos correspondentes aminoácidos (REAZIN *et al.*, 1970). Os formados em maiores quantidades são o metil-3 butanol-1 (álcool isoamílico), o metil-2 propanol-1 (isobutílico), o metil-2 butanol-1 (amílico ativo) e em menor quantidade o propanol-1 (GUYMON *et al.*, 1961).

Segundo CURVELO-GARCIA (1988) os álcoois superiores podem ter origem nos seguintes compostos: aminoácidos, açúcares e ácidos cetônicos.

Conforme BISSON (1991), os álcoois superiores podem ser formados através do mecanismo de Erlich, onde os correspondentes aminoácidos são desaminados e os α -cetoácidos descarboxilados e reduzidos para os respectivos álcoois (Figura 3).

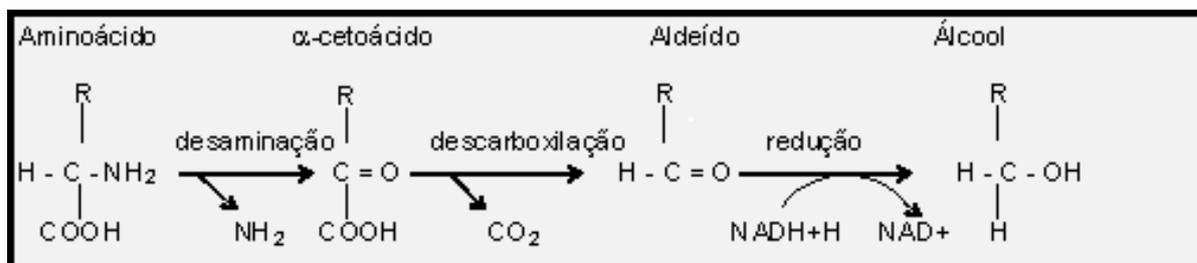


Figura 3. Produção de álcoois superiores por *Saccharomyces*.

A formação de álcoois superiores também pode ser influenciada por variáveis, tais como: concentração de aminoácidos, pH, temperatura, nível de inoculação e tempo de armazenagem do fermentado (AYRAPAA, 1970; ENGAN, 1970). De acordo com GIUDICI *et al.* (1985), os principais fatores responsáveis pela produção total de álcoois superiores no fermentado de uvas são: a composição do meio (pH, concentração de açúcares, conteúdo de nitrogênio), a temperatura de fermentação, o nível de aeração e a linhagem de levedura.

Segundo SUOMALAINEM apud NYKÄNEM (1986), os principais compostos-chaves na formação de álcoois pelas leveduras são indicados na Tabela 1.

TABELA 1. Compostos precursores na formação dos álcoois na fermentação alcoólica.

Álcoois	PRECURSORES		
	Aldeídos	Cetoácidos	Aminoácidos
Etanol	Acetaldeído	Ácido 2-ceto propiônico	Alanina
Glicol	Glioxal	Ácido 3-hidroxy-2-cetopropiônico	Serina
Propanol-1	Propionaldeído	Ácido 2-cetobutírico	Ácido- γ -amino-butírico e treonina
Butanol-1	Butiraldeído	-	-
Metil-2 Propanol-1	Isobutiraldeído	Ácido 2-cetoisovalérico	Valina
Metil-2 Butanol-1	2-Metilbutiraldeído	Ácido 2-ceto-3-metilvalérico	Isoleucina
Metil-3 Butanol-1	Isovaleraldeído	Ácido 2-cetoisocaprício	Leucina
Hexanol-1	Hexanal	-	-
Álcool fenil etílico	-	Ácido 3-fenil-2-cetopropiônico	Fenilalanina
Tirosol	-	Ácido 3-(4-hidroxifenil)-2-cetopropiônico	Tirosina
Triptofol	-	-	Triptofano

2.4.3. Aldeídos

Os aldeídos são compostos muito voláteis, de odor penetrante, que afetam o aroma das bebidas alcoólicas; são intermediários da formação dos álcoois formados pela descarboxilação de oxiácidos, ou então, pela oxidação destes álcoois.

O principal aldeído presente em fermentações é o acetaldeído ou etanal. O acetaldeído é o precursor do álcool etílico, sendo formado a partir do ácido pirúvico. Aldeídos com seis a nove átomos de carbono são formados a partir dos ácidos graxos poliinsaturados linolêico e linolênico, pela ação de duas enzimas: a lipoxigenase e a aldeídoliase. Para que ocorra a passagem de aldeídos para

álcoois é preciso a ação da enzima ADH – álcool desidrogenase (CROUZET, 1986).

Segundo SALTON (1998), os aldeídos e seus respectivos álcoois formados de seis átomos de carbono são responsáveis pelos odores herbáceos, sendo os principais: hexanol-cis-hexeno-3-al e trans-hexeno-2-al; enquanto que os álcoois são: hexanol, cis-hexeno-3-ol e trans-hexeno-2-ol.

Aldeídos e cetoácidos são essenciais para a síntese de aminoácidos e de álcoois superiores; são substâncias formadas na célula de levedura e transferidos para o meio. É durante a fermentação tumultuosa que se formam os mais altos níveis de aldeído (NYKÄNEM, 1986).

A deficiência de nutrientes no fermentado do mosto pode aumentar os níveis de aldeídos no fermentado (vinho), isto porque a formação de álcool etílico fica retardada.

2.4.4. Ácidos voláteis

Além do ácido acético que corresponde a mais de 90% do total dos ácidos voláteis, os encontrados com constituintes normais dos fermentados são os ácidos fórmico, propiônico, butírico, isobutírico, capróico, enântico, caprílico, cáprico, valérico, isovalérico, pelargônico, undecanóico, láurico e mirístico. A principal origem desses ácidos está relacionada ao metabolismo das leveduras (USSEGLIO-TOMASSET, 1995), sendo que os ácidos de cadeia ramificada e os ácidos aromáticos provêm de uma oxidação dos correspondentes álcoois e aldeídos (CURVELO-GARCIA, 1988).

No fermentado de uvas, BAUMES *et al.* (1989), pesquisando a influência da maceração sobre a composição do vinho branco, verificaram que os ácidos voláteis (acético, isobutírico, butírico, capróico, caprílico e cáprico) nos vinhos com maceração, apresentaram um teor 7% menor no total dos compostos voláteis; já nos vinhos sem maceração, o teor em ácidos foi maior, cerca de 9,7% do total dos compostos voláteis.

HERRAIZ *et al.* (1990a) observaram que o tempo de contato das películas da uva na cv. Cencibel provocou um decréscimo nos ácidos cáprico e caprílico; já a adição de SO₂ (200 mg.L⁻¹) na fermentação aumentou apreciavelmente a quantidade destes ácidos.

HERRAIZ *et al.* (1990b) verificaram que a composição de ácidos graxos foi influenciada pela linhagem de levedura. A linhagem de *Sacch. cerevisiae* produziu altas quantidades de ácido capróico, caprílico e cáprico em relação às leveduras *Torulaspota delbrueckii* e *Kloeckera apiculata*; entretanto, *Kloeckera apiculata* formou notáveis quantidades dos ácidos láurico, mirístico, palmítico e palmitoléico e a *T. delbrueckii* de ácido isobutírico.

No caso do fermentado de cana, mesmo nas melhores fermentações, uma pequena parte do açúcar se converte em ácido acético que pode aparecer no mosto em níveis de até 0,8 g de ácido acético por litro, ou pouco mais. A aeração do mosto durante a fermentação pode acarretar conversão de até 30% do açúcar em ácido acético, mesmo que não haja contaminação por bactérias acéticas (MAIA, 1994).

2.4.5. Ésteres

Os ésteres, em geral, são formados durante a fermentação alcoólica (esterificação biológica) graças às leveduras e bactérias, e mais lentamente no curso de envelhecimento do vinho através de esterificação química (MARIÑO *et al.*, 1983). No caso específico das uvas, os ésteres são componentes aromáticos associados a certos cultivares de uvas, estando presentes em baixas concentrações. O antranilato de metila, responsável pelo caráter foxado dos vinhos da *Vitis labrusca*, mas não é encontrado em vinhos varietais de *Vitis vinifera* (NYKÄNEM, 1986).

Os ésteres dos ácidos graxos são formados pela ativação dos ácidos monocarboxílicos, pela descarboxilação oxidativa dos ácidos, pela síntese dos ácidos monocarboxílicos e seus intermediários de cadeia longa, e pela alcoólise dos compostos da acetil-Coenzima A (NYKÄNEM, 1986). Segundo SHINOHARA (1984), a formação dos ésteres etílicos de ácidos graxos sofre influência de diversos fatores: concentração dos ácidos, do etanol, do pH, da temperatura e do tempo de envelhecimento.

Os fatores responsáveis pela formação de ésteres podem ser divididos em internos e externos. Os internos são aqueles que fazem parte da composição do meio, como: os aminoácidos, a glicose, certos ácidos e cátions (MARIÑO *et al.*, 1983); concentração de carbono, suplemento nitrogenado, utilização dos micronutrientes e insaturação dos ácidos graxos sobre os níveis de esteróis (SOLES *et al.*, 1982). Enquanto que os externos são a cultivar de uva, linhagem de levedura, temperatura de fermentação, a concentração de CO₂, a oxigenação

do meio (KILLIAN & OUGH, 1979), turbidez, dióxido de enxofre e o pH do meio (MARIÑO *et al.*, 1983).

De acordo com MAIA (1994), o aroma de ésteres é mais acentuado quando o álcool que os compõem é de baixo peso molecular. Além disso, cada éster tem seu aroma peculiar. Os acetatos de etila e de butila apresentam aroma frutado, acetato de isoamila e o butirato de amila tem aroma de banana, enquanto que os acetatos de álcoois superiores tem aroma cítrico, só que menos pungente do que os ésteres de álcoois menores.

Reações de esterificação também podem ocorrer durante o envelhecimento da bebida, porém em uma velocidade bem menor, requerendo de vários meses a anos para equiparar-se ao teor produzido intracelularmente (MAIA, 1994).

KILLIAN & OUGH (1979) estudaram o efeito da temperatura na formação e retenção de ésteres durante a fermentação de mosto de uva. Os ésteres frutados (acetato de isoamila, acetato de isobutila, acetato de hexila e butirato de etila) foram produzidos e retidos em baixas temperaturas de fermentação (10°C). Já os ésteres de maior ponto de ebulição (fortes) e mais aromáticos (caprilato de etila, acetato de fenil-2-etila e o caprato de etila) foram produzidos e retidos no vinho em grandes quantidades, nas temperaturas de fermentação mais altas (15°C a 20°C). As máximas quantidades de ésteres formados durante a fermentação ocorreram entre 9% a 12% v/v de etanol produzido.

GARAFOLO & PIRACCI (1994) afirmaram que durante a fermentação alcoólica de mostos de uva os ésteres etílicos de ácidos graxos atingiram um nível máximo durante a primeira parte da fermentação (até 4% de álcool),

enquanto que os ésteres acetatos atingiram seu máximo entre 8 a 19% de álcool. As condições do meio (acidez e temperatura) influem sobre a composição dos compostos voláteis, estes são sintetizados em quantidades máximas pela levedura quando há no meio um pH próximo a 3,4 e uma temperatura de fermentação em torno de 20°C.

2.5. Processo de destilação

A separação dos componentes do caldo fermentado é feita através do processo de destilação. Segundo a portaria vigente (BRASIL, 1974) a destilação deve ser efetuada de forma que o destilado tenha o aroma e sabor dos elementos naturais voláteis contidos no mosto fermentado, derivado do processo fermentativo ou formados durante a destilação.

De acordo com CANTAGREL *et al.* (1991), na elaboração do destilado ocorre formação de sabores e odores agradáveis típicos da destilação. Os principais objetivos da destilação são: a extração dos compostos voláteis, a seleção (retificação) das substâncias voláteis e a ocorrência de transformações químicas favoráveis à qualidade do destilado (combinação e degradação de substâncias).

Conforme ONISHI *et al.* (1978) o processo de destilação (tipo de alambique e condições de operação) não somente concentra o álcool etílico mas determina a grande extensão da composição volátil do destilado, além de produzir, pelo aquecimento, certas reações de esterificação que aumentam as quantidades de compostos voláteis e a qualidade do destilado final.

O termo destilação corresponde à separação das substâncias voláteis presentes no fermentado, inicialmente transformadas em vapor e depois condensadas. A operação é conseguida através do calor, necessário para evaporar, e do frio para condensar. O princípio da destilação baseia na diferença entre o ponto de ebulição da água (100° C) e do álcool (78,4° C). A mistura água e álcool apresenta ponto de ebulição variável em função do grau alcoólico. Assim, o ponto de ebulição de uma solução hidroalcoólica é intermediário entre aquele da água e do álcool, e será tanto mais próximo de este último quanto maior for o grau alcoólico da solução.

Segundo LÉTHONEM & SUOMALAINEM (1977) *apud* por BOZA & HORII (1999), a destilação é o segundo estágio na produção de bebida destilada, podendo ter uma significativa influência sobre o conteúdo qualitativo de congêneres, ou compostos orgânicos, os quais estão intimamente relacionados à qualidade final do produto. A natureza e a concentração dos compostos orgânicos formados por reações ou ainda por pirólise têm influências distintas sobre a qualidade sensorial do produto.

Para o processo de destilação é importante agrupar os diversos componentes do vinho (produto resultante da fermentação do mosto), em duas frações: voláteis e não voláteis. Os componentes voláteis são representados por água, etanol, metanol, álcoois superiores, ácido acético, ésteres e gás carbônico. Os não voláteis ou fixos são constituídos de sólidos do mosto, células de levedura e bactérias, minerais e ácidos orgânicos fixos (YOKOYA, 1995).

Os componentes voláteis do vinho possuem diferentes temperaturas de volatilização, sendo possível, portanto, a separação por processo de destilação.

Nesse processo de destilação os componentes mais voláteis, como acetaldeídos e metanol, são recolhidos na primeira fração do condensado, que denomina-se “cabeça”. Na porção intermediária, denominada “corpo” ou “coração” encontramos frações medianamente voláteis, basicamente etanol, e na porção menos volátil, denominada “cauda”, encontramos álcoois superiores e ácidos (YOKOYA, 1995).

Os açúcares não fermentados, as substâncias nitrogenadas (aminoácidos, peptídeos, proteínas e ácidos nucléicos), pectinas, células de leveduras e de bactérias, bagacilho e minerais, constituem a parte sólida que pode estar em solução ou em suspensão. O gás carbônico é o principal constituinte gasoso do vinho (NOVAES *et al.*, 1974).

Segundo BOZA & HORII (1999), quando o mosto fermentado é aquecido, várias reações químicas entre os componentes do vinho se dão durante a destilação, bem como, processos de partição entre seus componentes que, em parte se incorporam à bebida e em parte permanecem no resíduo da destilação.

No Brasil, os aparelhos de destilação mais usados são o alambique e a coluna contínua, embora exista um grande número de aparelhos de destilação, oferecendo uma ampla faixa de bebidas destiladas.

Na Serra Gaúcha, de modo geral, os alambiques utilizados para a elaboração do destilado de vinho são do tipo **Charantais** e não estão equipados de colunas retificadoras ou de deflagmadores que permitem obter destilados com graduação alcoólica mais elevadas.

2.5.1. Alambique

Alambique é uma palavra que originou-se do grego, “ambix”, definida como um vaso com pequena abertura.

Na fabricação artesanal e semi-artesanal de aguardente, a destilação descontínua em alambique simples é a mais usada. Este alambique, mostrado na Figura 4, é descontínuo com fogo direto, que inclui duas sucessivas destilações, denominado método **Charentais** (SOUFLEROS & BERTRAND, 1991).

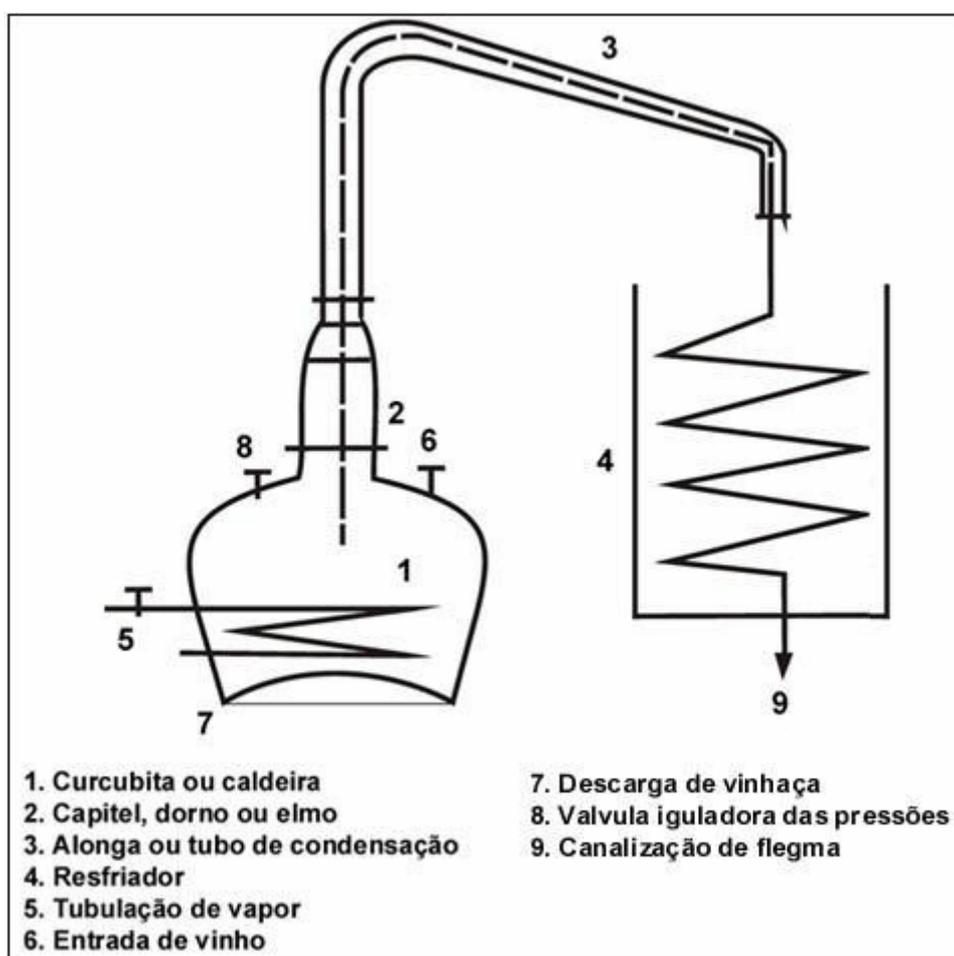


Figura 4. Esquema de um aparelho destilador simples (segundo MUTTON & MUTTON, 1992)

A destilação em alambiques, garante a obtenção de um produto rico em compostos orgânicos, também chamado de congêneres ou compostos secundários, devido a um excesso de retrogradação e redistilação da fração final do vinho.

Em destilarias de médio porte, o alambique de três corpos mostrado na Figura 5 é o mais comum. A destilação metódica, realizada através da coluna de destilação contínua é comum em destilarias de médio e grande porte.

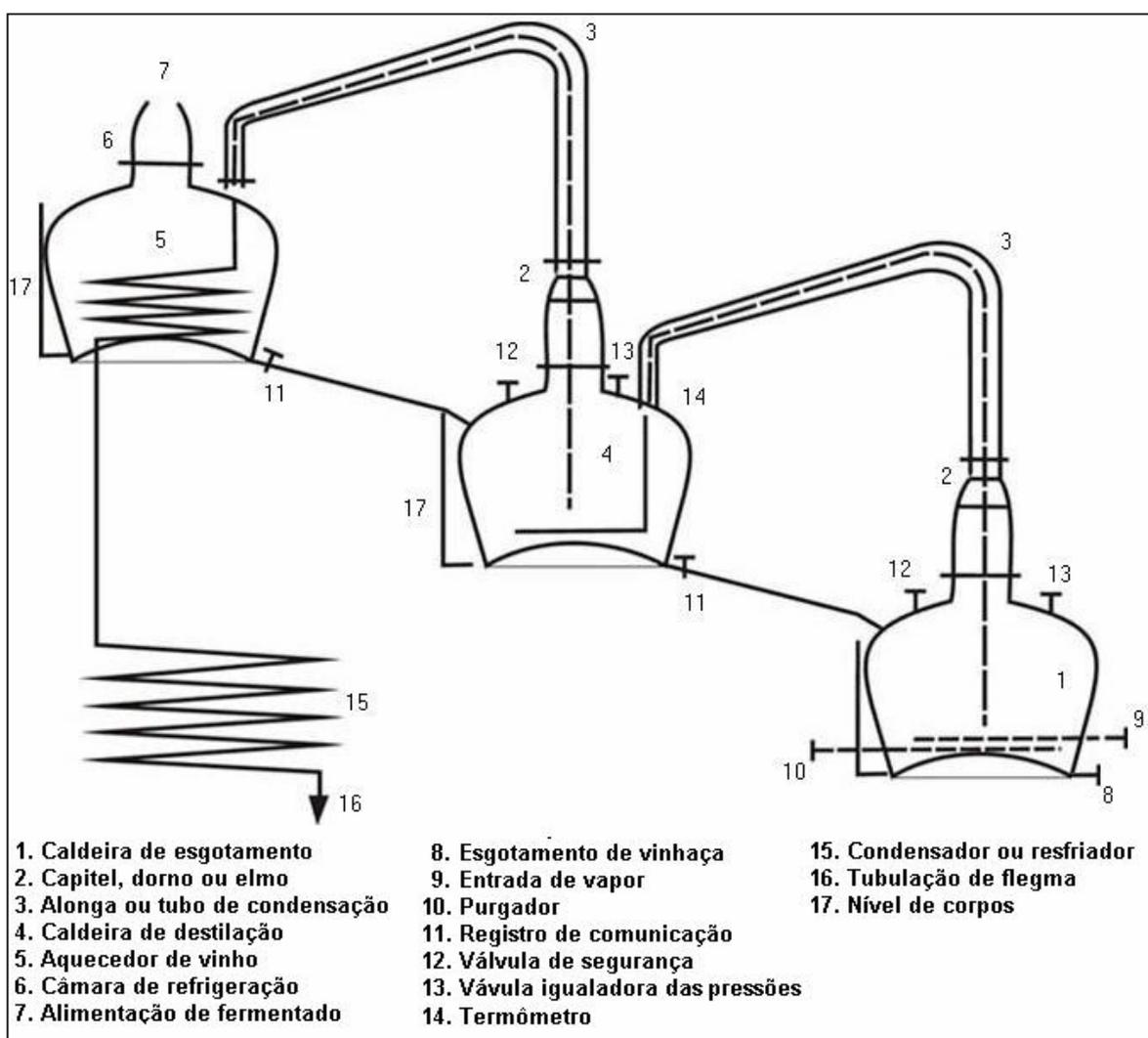


Figura 5. Esquema de um aparelho destilador de 3 corpos (segundo MUTTON & MUTTON, 1992)

Segundo BOZA & HORII (1999), no alambique efetuam-se duas destilações do vinho, sendo que, originalmente, eram realizadas no mesmo corpo. Com o aperfeiçoamento do método, na região de **Cognac** na França, passou-se a utilizar dois corpos, objetivando minimizar o nível de impurezas e aumentar a produtividade da operação. O primeiro corpo, "**Wash still**" ou caldeira de esgotamento e o segundo, "**low wines still**" ou caldeira de destilação, denominando-se a técnica de dupla destilação. O vinho é aquecido no "**Wash still**" produzindo vapores, que em parte alcançam o capitel ou "**chapiteau**", onde ocorre o processo de refluxo, isto é, processo de seleção dos compostos voláteis, sendo que parte desses são condensados retornando ao "**wash still**" enquanto as substâncias mais voláteis são conduzidas através do "**swan's neck**" ou alonga, para uma serpentina perfurada da caldeira de destilação onde o vinho se enriquece de substâncias mais voláteis e se aquece, ocorrendo a segunda destilação. A primeira destilação do vinho é feita até que o destilado contenha teor alcoólico de 20%, sendo redestilado no "**low wines still**" até resultar num destilado, cujo teor alcoólico varia de 35 a 60 % dependendo do tipo de bebida. Na primeira destilação ocorrem as reações mais importantes, sendo influenciadas por fatores como: características do vinho, pH, acidez, tamanho do alambique, temperatura gerada na caldeira, tempo de destilação, presença de células de leveduras, limpeza do alambique (LÉAUTÉ, 1990). As reações ocorridas durante o processo destilatório são numerosas, o que justifica a excelência da técnica de bidestilação em alambiques. Compostos voláteis que já se encontram no vinho podem sofrer acréscimo ou decréscimo na sua concentração, dependendo do tipo

de reações envolvidas. Novos compostos voláteis podem surgir, e geralmente são importantes para o aroma do destilado.

Quando o vinho é submetido ao processo de destilação obtêm-se duas frações: o flegma e a vinhaça. O flegma que é o produto principal, é uma mistura hidroalcoólica e contém os componentes voláteis do vinho sendo classificado de acordo com a graduação alcoólica em flegma de baixo grau (35 a 65 °GL) e flegma de alto grau (90 a 96 °GL). A vinhaça compreende a parte não volátil do vinho, sendo que na destilação simples a perda de etanol nesta fração é considerável, uma vez que sua recuperação exige consumo grande de energia, sendo, portanto, antieconômica (YOKOYA, 1995).

Os destilados obtidos em aparelhos destilatórios construídos em cobre podem apresentar quantidades apreciáveis desse elemento químico. Para evitar o excesso deste elemento pode-se fazer uso de aparelhos construídos com o aço inoxidável, sendo então necessária a remoção de compostos sulfurados presentes no destilado, que são responsáveis pelo odor desagradável do produto. Esta remoção é possível através do uso de um dispositivo de filtração de vapor instalado no capitel do alambique (FARIA, 1982).

Conforme CANTAGREL *et al.* (1991) o alambique de cobre é indispensável para a obtenção de destilados finos pois o cobre catalisa certas reações químicas de complexação de moléculas, formando sais insolúveis, evitando que tais moléculas atuem sobre características organolépticas de maneira negativa. Estas reações químicas de complexação ocorrem, principalmente, com os ácidos graxos (butírico, capróico, cáprico, caprílico) e os compostos solúveis (mercaptanos). Neste caso, deve-se assegurar uma higienização adequada do

alambique, evitando que entre uma destilação e outra acumulem-se resíduos que provoquem oxidação do cobre, que é conhecido como zinabre ou azinhavre.

O cobre é um metal maleável, bom condutor de calor, resistente ao desgaste físico e tem função essencial na formação de sabor e aroma do produto. Entre as superfícies de cobre do destilador e substâncias presentes no fermentado ocorrem reações especialmente importantes, que são capazes de remover ou modificar muitos produtos desagradáveis. O cobre atua como catalisador de reações de oxidação-redução, nas quais compostos sulfurados voláteis transformam-se em compostos insolúveis, enquanto a crosta cúprica formada na superfície da chapa exposta aos vapores do destilador catalisa a esterificação dos ácidos orgânicos pelo álcool, bem como a redução e conseqüente remoção de sulfetos orgânicos e mercaptanos (YOKOYA, 1995).

Segundo AMERINE *et al.* (1972) o destilado melhora consideravelmente com a remoção da fração “cabeça”, quando os vinhos são de baixa qualidade. Já quando são de boa qualidade, o odor da fração “cauda” é menos desejável do que o odor da fração “cabeça”.

2.5.2. Compostos Voláteis no destilado

Com os progressos da cromatografia gasosa houve grande avanço na avaliação dos compostos voláteis formados e os fatores que influenciam sua síntese durante o processo bioquímico da fermentação alcoólica.

Para LITCHEV (1989), o aroma dos destilados de vinho é formado por numerosos compostos, como os compostos carbonilas, os álcoois superiores, os

ésteres, os acetais, os compostos fenólicos, as lactonas, o conteúdo de compostos nitrogenados e a soma dos microelementos. Estas substâncias passam progressivamente durante toda a destilação não por ordem de sua volatilidade, mas devido às tensões de vapor que resultam em sua solubilidade em água ou em álcool (LAFON *et al.*, 1973).

No caso do fermentado de uvas, segundo LEA & PIGGOTT (1995), as principais reações convertendo o açúcar da uva (glicose e frutose) para álcool e dióxido de carbono são acompanhadas de reações secundárias, as quais conduzem à formação de diversos constituintes (ésteres, álcoois superiores, glicerol, ácido pirúvico) responsáveis pelo **bouquet** do vinho.

Os principais objetivos da destilação são a extração dos compostos voláteis, a seleção (retificação) das substâncias voláteis e a ocorrência de transformações químicas, basicamente combinação e degradação de substâncias favoráveis à qualidade do destilado. Conforme SALTON (1998), as principais transformações químicas que ocorrem durante a destilação podem ser definidas segundo a Figura 6.

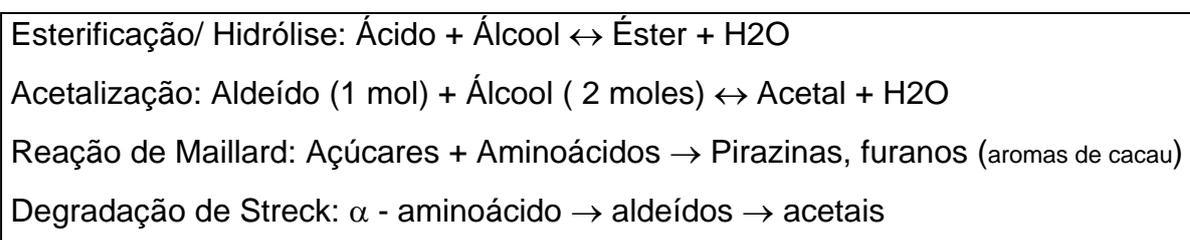


Figura 6. Principais transformações químicas durante a destilação.

Segundo ONISHI *et al.* (1978) o aquecimento produzido durante o processo de destilação produz certas reações de esterificação que aumentam as quantidades de compostos voláteis e a qualidade do destilado final. O processo

de destilação (tipo de alambique e condições de operação) além de concentrar o álcool etílico, determina também, em grande extensão, a composição do destilado.

Os álcoois superiores e os ésteres são de origem metabólica, porém são previsíveis e ajustáveis, conferindo ao destilado aroma e sabor (MAIA, 1994). Os aldeídos de até oito átomos de carbono têm aromas penetrantes, geralmente enjoativos e são considerados indesejáveis em bebidas destiladas; porém os aldeídos com mais de dez átomos de carbono apresentam aroma agradável (MAIA, 1994). Durante a destilação, uma grande parte dos aldeídos presentes no vinho é separada como composto integrante da porção cabeça. Conforme VARGAS & GLORIA (1995), o teor destes pode ser controlado através do uso de levedura apropriada, substrato adequado, controle do tempo de fermentação e recolhimento da fração ideal do destilado.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1. *Matéria Prima*

O trabalho consistiu na realização de 12 fermentações, seguidas de armazenamento e destilação, com polpa de pêssegos (*Prunus persica* (L) Batsch). cv. Chiripá. Foi realizado na EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Uva e de Vinho e no CEFET/BG – Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves. Na EMBRAPA foram realizados trabalhos nos Laboratórios de Microbiologia, Microvinificação, Enoquímica e Instrumentação. No CEFET/BG foram utilizados os setores da agroindústria e da vinícola assim como o Laboratório de Enoquímica. Todo o trabalho foi realizado no ano de 2005.

A Figura 7 mostra o fluxograma das etapas do trabalho.

Utilizou-se pêssego da cv. Chiripá por representar quase 50% das cultivares de pêssego plantadas na serra gaúcha. O pêssego foi obtido parte em pomar da Embrapa e parte em pomares comerciais no distrito de Pinto Bandeira, Bento Gonçalves, Região Nordeste do Rio Grande do Sul.

Os pêssegos foram armazenados em câmaras frigoríficas de ar refrigerado a $0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e 85-92% de umidade relativa por 21 dias. Após este período os pêssegos foram pré-selecionados descartando frutos impróprios.

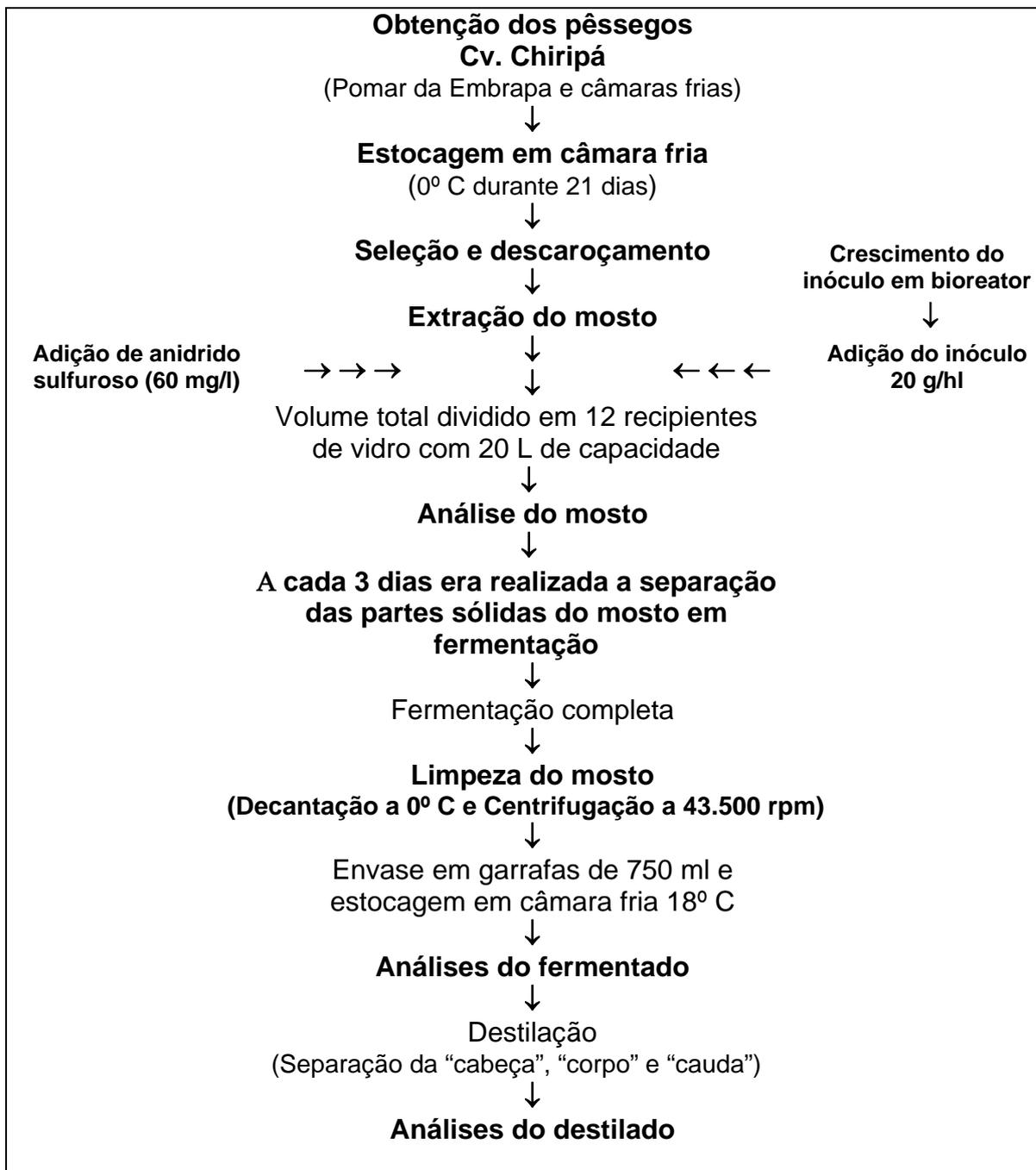


Figura 7. Fluxograma das etapas de trabalho.

3.2. Obtenção do mosto

A partir do pêssego selecionado foi feito um descaroçamento manual, seguido de tritramento e de despulpamento por meio de uma máquina despulpadeira marca Italmetal. Esta é constituída de duas peneiras cilíndricas

com furos cada vez menores colocados em série. A primeira peneira extratora tem furos da ordem de 1,0 a 1,5 mm, permitindo a remoção de pedaços de caroço e da epiderme do pêssego triturado. O pêssego triturado penetra no interior da peneira e é comprimido contra a parede da mesma por batedores giratórios. A superfície da peneira é mantida livre em virtude da inclinação dos batedores, que determina um movimento das peles e pedaços de caroços em direção a saída. A segunda peneira é semelhante a primeira sendo chamada de refinadora. Com furos da ordem de 0,7 mm, esta permite a separação dos fragmentos ainda menores que passaram pela primeira peneira.

Na ocasião do despulpamento foi adicionado cerca de 60 mg.L^{-1} de anidrido sulfuroso e, em seguida, $0,20 \text{ g.L}^{-1}$ de levedura *Sacch. cerevisiae* para iniciar a fermentação.

3.3. Microrganismo e preparo do inóculo

O inóculo foi preparado a partir de uma cultura mantida em agar em tubo inclinado a 18° C . As células foram transferidas para seis frascos de Fernbach de 2.800 mL, contendo 600 mL de meio G7 (SILVA, 2002). As culturas foram incubadas em agitador giratório (New Brunswick Scientific CO, Inc - PsychroThermTM, USA) a 25° C e com rotação de 150 rpm por 16 horas. As culturas foram transferidas para um bioreator (Biolaffite, Poissy, France) equipado com controle de temperature, pH e medida interna de pressão com 50 L de capacidade útil. Agitação, aeração, temperatura e pressão interna foram fixadas em 300 rpm, 2 vvm (ar), 25° C e 0,3 bar, respectivamente. O pH do meio foi monitorado, mas não foi controlado. O crescimento foi monitorado por

espectrofotometria, Ainda na fase exponencial de crescimento o sistema de aeração foi desligado. Nestas condições, o microrganismo permaneceu por mais 16 horas.

3.4. Fermentação do mosto de pêssego

Foi utilizado para cada dez litros de mosto um litro de suspensão de células contendo 10^8 células.mL⁻¹. A contagem de células foi feita em câmara de Neubauer melhorada. Ao mosto foi adicionado uma solução aquosa com 5% de SO₂ de modo a obter 60 mg de SO₂ por litro de mosto. Após duas horas em repouso, o mosto foi inoculado com *Sacch. cerevisiae* preparado no item anterior. O mosto assim obtido foi dividido em lotes de 15 L e transferido para bombonas de vidro (Pirex) de 20 L de capacidade. Em cada recipiente foi colocada uma válvula de Müller. Os recipientes foram transferidos para câmara fria onde todo o processo fermentativo ocorreu a 18° C.

Os tratamentos dizem respeito ao tempo de maceração definido em três, seis, nove e doze dias.

A fermentação alcoólica foi monitorada pela determinação de açúcares redutores totais (ART) e etanol a cada três dias. O término da fermentação alcoólica foi observado pela parada de borbulhamento do gás carbônico e pela análise do açúcar residual. Concluída a fermentação alcoólica foi efetuada estabilização em câmara fria a 0°C, por um período de 14 dias. Após este período o fermentado foi submetido a centrifugação continua a 12.000 x g (Cepa, New Brunswick Scientific CO, Inc) em rotor V4A-TR. Após a centrifugação o

fermentado foi envasado em garrafas de 750 mL e posto em câmara fria a 18° C para uma maior estabilidade.

3.5. Destilação

A destilação realizou-se com um total de 750 mL em um destilador descontínuo de cobre de 7 litros de capacidade, com retificador tipo deflagmador e de aquecimento a gás (Figura 8).

Utilizou-se a seguinte metodologia de destilação: 4% do volume total da caldeira foi considerado cabeça; o destilado entre 75° GL a 50° GL foi classificado como constituinte de coração ($\pm 80\%$ do volume total de destilado). O restante do destilado (cauda), assim como a cabeça, foi eliminado.

As destilações permitiram a obtenção de aproximadamente 60 mL de destilado com graduação alcoólica de 50° GL e tempo de destilação de aproximadamente 2 horas, isto ocorrendo devido ao processo de retificação do álcool através do deflagmador que permitia um constante resfriamento da parte superior do destilador (chapéu ou capitel) com água. Recolhido o destilado o mesmo foi armazenado para posterior análise química.

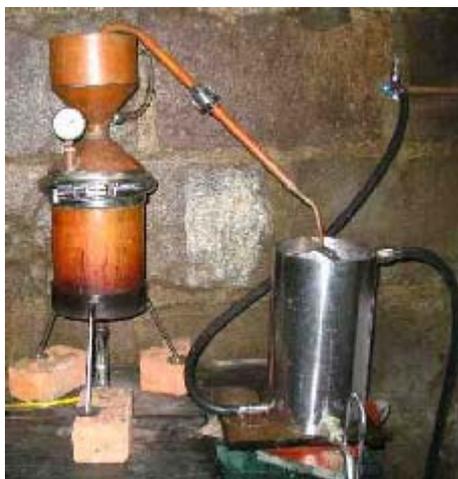


Figura 8. Aparelho de destilação descontínuo utilizado no experimento.

O armazenamento das amostras com aproximadamente 60 mL e 50% v/v de etanol foi feito em refrigerador para evitar possíveis perdas nos componentes voláteis do destilado.

3.6. Análises físico-químicas efetuadas no mosto de pêssego

Todas as variáveis analisadas foram as seguintes:

- Densidade:

Densidade relativa 20/20°C, efetuada através de um densímetro digital ANTON PAAR, modelo DMA 45.

- ° Brix

A quantidade de sólidos solúveis foi determinada através de refratômetro AO (American Optical).

- Acidez total

A acidez total foi determinada pela titulação com NaOH 0,1 N, utilizando como indicador o azul de bromotimol, cuja viragem ocorre entre o pH 7.0 a 7.2, usando 5 mL de mosto ou fermentado, completando com 20 mL de água destilada. Pela fórmula chegamos aos valores.

Acidez total (mEq/L) = Volume NaOH gastos x 20.

- pH

O pH foi determinado em medidor de pH Corning (MOd. 130, USA) .

- SO₂ Livre

A concentração de SO₂ livre foi avaliada por meio da titulação direta do fermentado com iodo, na presença do amido como indicador. Corresponde ao anidrido sulfuroso encontrado no estado de SO₂ e de combinações de minerais do tipo, H₂SO₃, HSO₃⁻ e SO₃²⁻. De 50 mL de fermentado, adicionam-se 2 mL de H₂SO₄ (2:1) e 2 mL de amido 1% como indicador; a seguir titulou-se com I₂ 0,02 N até o ponto de virada. A fórmula usada é a seguinte:

$$\text{SO}_2 \text{ livre (mg.L}^{-1}\text{)} = \text{mL gastos I}_2 \text{ 0,02 N} \times 12,8$$

- SO₂ total

A concentração de SO₂ total foi avaliada por meio da titulação após liberação do anidrido sulfuroso em um meio alcalino e depois em um meio ácido, posteriormente, é oxidado pelo iodo até alcançar coloração azul, utilizando amido como indicador (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976). Partindo de 50 mL de fermentado, adicionam-se 25 mL de KOH 1 N, deixando-se em repouso por 15 min; adicionam-se 15 mL de H₂SO₄ 1:4 e 2 mL de amido. A seguir titula-se com I₂ 0,02 N. Partido-se do valor final usa-se a mesma fórmula utilizada para determinação do anidrido sulfuroso livre.

3.3. Análises efetuadas no fermentado de pêssego

- Densidade relativa 20/20°C, Acidez total, pH, SO₂ livre e SO₂ total.

Estas análises foram efetuadas da mesma forma que no mosto.

- Teor alcoólico

O grau alcoólico foi analisado por meio definido por RIBÉREAU-GAYON *et al.*, (1976) e adotado pelo Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho. A amostra é alcalinizada e destilada em aparelho Destilador Eletrônico Enoquímico (GIBERTINI). O grau alcoólico medido por densimetria, utilizando o densímetro ANTON PAAR.

- Açúcares redutores totais (ART)

Os açúcares redutores totais foram analisados por meio do licor de Fehling (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976). Em um Frasco de Erlenmeyer foi adicionado 10 mL de solução Fehling A, 10 mL de solução Fehling B e 20 mL de vinho diluído a 50 %; ferveu-se por 2 minutos e resfriou-se em gelo, foram acrescentados 3 mL de solução de iodeto de potássio a 30%, 10 mL de ácido sulfúrico a 17%. Titulou-se com tiosulfato de sódio a 0,1N utilizando como indicador 2 mL de amido a 1% formando um complexo de cor azul; no momento da viragem este adquire coloração esbranquiçada, anotando-se o volume gasto (1).

Para determinar a quantidade de íons de cobre existentes na solução cuproalcalina procedeu-se da mesma forma, substituindo a amostra de vinho diluída por água destilada, anotando-se os mL de tiosulfato de sódio gastos (2).

A diferença entre o número de mL gastos na titulação da amostra (1) com a titulação em branco (2) levados à tabela segundo MEYER & LEIGUE-ALBA (1991), forneceu a quantidade de açúcares redutores totais em g.L^{-1} .

- Extrato seco

Colocou-se as cápsulas de inox em estufa, após foram resfriadas em dessecador e pesadas (a); adicionaram-se 25 mL de amostra de vinho na cápsula e levou-se ao banho-maria por três horas, após foi retirada e acondicionada em dessecador para perda de umidade e posterior pesagem (b). Pela seguinte fórmula chegamos ao valor final de extrato seco, em g.L^{-1} :

$$\text{Extrato Seco (g.L}^{-1}\text{)} = (b-a) \times 40$$

Onde:

a: peso da cápsula

b: peso da cápsula + extrato

40 corresponde ao fator de ajuste.

- Extrato seco reduzido

O extrato seco reduzido foi obtido por meio da diminuição ao extrato seco da quantidade de açúcares redutores que excederam a 1 g.L^{-1} .

- Relação álcool em peso / extrato seco reduzido

Relação álcool em peso/extrato seco reduzido é obtida através de cálculo dado pela seguinte fórmula:

$$\text{Relação A/ES} = \frac{\text{Alcool (\%)} \times 8}{\text{Extrato Seco Reduzido}}$$

- Intensidade de cor (IC)

A intensidade de cor no fermentado foi medida num espectrofotômetro LambdaBio (Perkin Elmer) UV/VIS medindo a absorbância (Abs) a 420 nm, 520 nm e 620 nm e utilizando a fórmula $IC = Abs_{420} + Abs_{520} + Abs_{620}$ (RIBÈREAU-GAYON *et al.*, 1976). Foi utilizada uma cubeta com passo de 1 mm.

- Polifenóis totais

Os polifenóis totais dos fermentados foram medidos a 280 nm com um espectrofotômetro LambdaBio (Perkin Elmer) UV/VIS, de acordo com metodologia definida por ILAND *et al.* (2000). Utilizou-se a seguinte formula:

$$\text{Polifenóis totais} = (A_{280} - 4)$$

- Pigmentos Marrons

Os pigmentos marrons dos fermentados foram medidos a 420 nm com um espectrofotômetro LambdaBio (Perkin Elmer) UV/VIS, de acordo com metodologia definida por ILAND *et al.* (2000)

- Hidrocianamatos Totais

Os hidrocianamatos totais dos fermentados foram medidos a 320 nm com um espectrofotômetro LambdaBio (Perkin Elmer) UV/VIS, de acordo com metodologia definida por ILAND *et al.* (2000). Utilizou-se a seguinte formula:

$$\text{Hidrocianamatos Totais} = A_{320} - 1,4$$

- Flavonóides Totais

Os flavonóides totais dos fermentados foram medidos a 280 nm e 320 nm com um espectrofotômetro LambdaBio (Perkin Elmer) UV/VIS, de acordo com metodologia definida por ILAND *et al.* (2000). Utilizou-se a seguinte formula:

$$\text{Flavonóides Totais} = (A_{280} - 4) - 2/3 (A_{320} - 1,4)$$

- Etanal, acetato de etila, metanol, propanol-1, metil-2 propanol-1(álcool isobutílico), metil-2 butanol-1(álcool amílico ativo), e metil-3 butanol-1(álcool isoamílico):

Amostras foram destiladas antes das análises e os componentes determinados por meio de cromatógrafo de gás Perkin Elmer AutoSystem XL, com detector de ionização de chama; coluna capilar CPWAX 57CB (50m x 0,25mm i.d.). A técnica de injeção utilizada foi *splitless*, e as condições de análise foram as seguintes: gás de arraste: hélio (30 psi, vazão 1,8 mL/min); temperatura do injetor: 160°C; temperatura do detector: 210°C; período *splitless*: 2 minutos; temperatura da coluna: 40°C por 5 minutos até 60°C, a 2°C/min, sendo mantida a 200°C por 8 minutos.

3.7. Análises dos minerais do fermentado

- K, Na, e Rb foram determinados através da emissão de chama. Utilizou-se um aparelho Perkin - Elmer 2380 (Perkin - Elmer, 1976), seguindo-se a metodologia do fabricante.

- Ca, Mg, Mn, Fe, Cu e Zn foram determinados através da absorção atômica. Utilizou-se um aparelho Perkin-Elmer 2380 (Perkin - Elmer, 1976), seguindo-se a metodologia do fabricante .

- O fósforo (P) foi determinado utilizando-se o método descrito por TEDESCO *et al.* (1985) baseado na fotolorimetria. A amostra foi diluída 1:150 e após tratada com solução sulfomolibdica e ácido ascórbico a 2%, foi feita a leitura de absorbância a 725 nm no espectrofotômetro UV visível (marca PERKIN-ELMER, modelo LAMBDA 3), o valor final obteve-se plotando o resultado da leitura numa curva de regressão de valores de P.

3.8. Análises do destilado

- Teor alcoólico

O teor alcoólico do destilado foi determinado por aerometria aferindo o destilado a temperatura a 20° C e medindo com alcoômetro.

- Etanal, acetato de etila, metanol, propanol-1, metil-2 propanol-1, metil-2 butanol-1 e metil-3 butanol-1:

Utilizou-se a mesma metodologia e aparelhagem das determinações realizadas nos fermentados, diferindo apenas no cálculo final. Após obter a concentração dos compostos voláteis em mg.L^{-1} (idem ao fermentado) os resultados foram transformados em g/100 mL de álcool anidro segundo a fórmula:

$$\text{Concentração (g/100 mL de álcool anidro)} = \frac{C(\text{mg/l}) \times 10}{\% \text{ v/v} \times 1000}$$

Onde: C: concentração da substância em mg.L^{-1}

GL: grau alcoólico (% v/v)

3.9. Análise estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, tendo um total de 12 amostras, 3 para cada tempo de maceração. Os resultados foram submetidos à análise de variância e a comparação das médias foi efetuada pelo teste de Tukey ($P=0,05$ e $P=0,01$). Em alguns resultados utilizou-se de análise por regressão polinomial.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises do Mosto

As análises físico-químicas do mosto de pêssego logo após o despulpamento e a adição de SO₂ são indicadas na Tabela 2.

TABELA 2. Análises físico-químicas do mosto de pêssego (cv. Chiripá).

Análises	Polpa de pêssego (cv. Chiripá)
Açúcares Redutores Totais (g.L ⁻¹)	101,0
Acidez total (mEq/L)	48,0
°Brix	12,3
pH	3,98
SO ₂ Total (mg.L ⁻¹)	49,3
SO ₂ Livre (mg.L ⁻¹)	38,2

O potencial de acúmulo de sólidos solúveis do pêssego cv. Chiripá é em torno de 15° Brix, o que conseqüentemente forneceria um teor alcoólico maior ao produto final. Mas em função do potencial de conservação que aumenta à medida que se antecipa a colheita, o fruto geralmente é colhido com uma quantidade menor de açúcares. O mosto, ou polpa, de pêssego apresentou características de ° brix e açucares redutores totais (ART) muito próximas a encontradas em mostos de maçãs utilizadas para elaboração de sidra (DRILLEAU, 1995) e a alguns mostos de uvas utilizados para vinhos (OREGLIA, 1978). Algumas variedades de uva como Couderc 13 e Isabel e variedades de maçã como Fuji e Gala, apresentam características muito semelhantes a aquelas obtidas no mosto de pêssego com relação ao ° Brix e a quantidade de ART. As variedades citadas são

muito utilizadas para elaboração de fermentados e destilados. SOUFLEROS *et al.* (2001) estudando a possibilidade do aproveitamento do kiwi grego para produção de fermentado encontrou valores de °brix e concentração de açúcares muito próximos ao do mosto de pêssego. O caldo de cana possui uma concentração em açúcares que em certas circunstâncias se assemelha, porém normalmente possui teores mais elevados, variando entre 11 a 18% (AQUARONE, 2001).

A acidez total da polpa de pêssego apresenta valores próximos às uvas cv. Isabel e cv. Couderc 13, muito utilizadas na Serra Gaúcha para elaboração de vinhos e destilados (SALTON, 1998). Esta característica está muito relacionada a safra e as condições climáticas durante a maturação das frutas.

O pH 4,0 do mosto de pêssego está próximo ao pH do mosto de maçã (3,5-4,0) e demonstra-se alto quando comparado aos valores do mosto de uva da Serra Gaúcha, especialmente região de Bento Gonçalves, onde é normal encontrar mostos com pH em torno de 3,3. Em relação ao caldo de cana utilizado para elaboração de aguardente, o pH é menor pois está compreendido normalmente entre 5,2 e 5,8 (MAIA, 1994).

O dióxido de enxofre presente no meio está em doses recomendadas em fermentações para evitar maiores problemas com desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e alterações oxidativas de ordem química e enzimática (PEYNAUD, 1989; DRILLEAU, 1995). O SO₂ livre no meio influencia o desenvolvimento das leveduras e bactérias nativas aumentando a contribuição da levedura inoculada no mosto. Quando não utilizado, aumentam as quantidades de compostos formados por leveduras e bactérias nativas, ocasionando contribuições negativas nas características sensoriais do produto acabado.

4.2. Microrganismo e preparo do inóculo

O microrganismo utilizado no experimento foi a levedura autóctone neutra Embrapa-20B selecionada a partir de uvas da cultivar Riesling Itália (*Vitis vinífera*) em Bento Gonçalves no ano de 1984.

O crescimento da levedura no bioreator não apresentou “lag-phase”, indicando uma boa adaptabilidade ao meio de cultura utilizado. A fase exponencial de crescimento durou todo o período estabelecido para o desenvolvimento do microrganismo (Figura 9). A velocidade específica de crescimento máxima do microrganismo foi de $0,23 \text{ h}^{-1}$ ($r^2=0,99$).

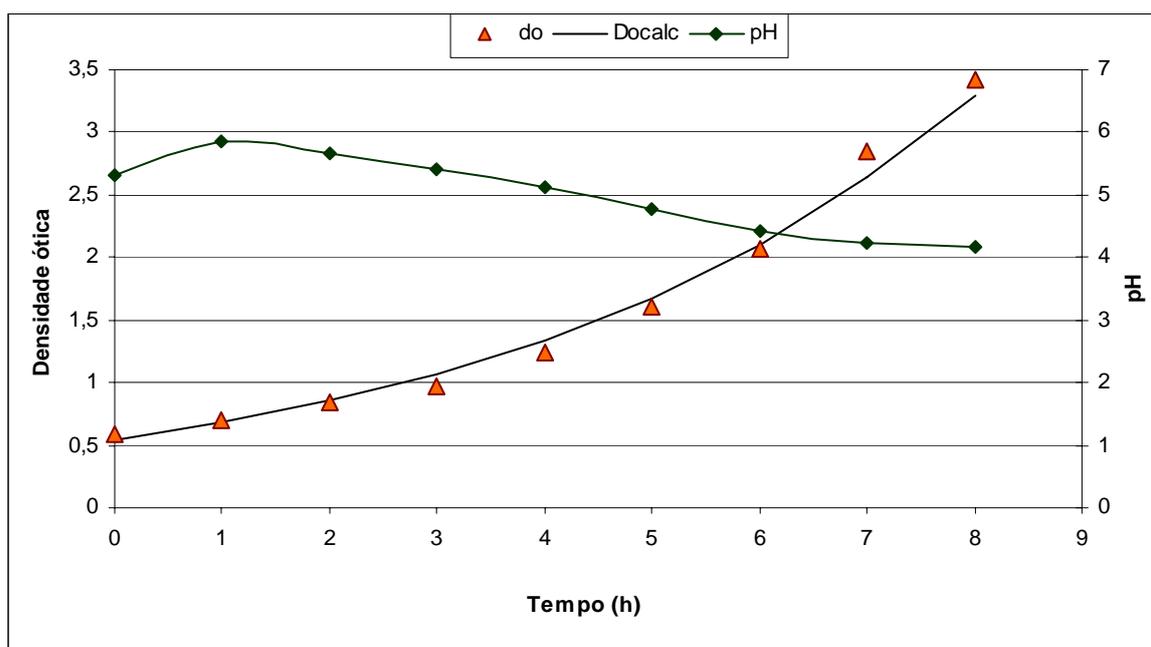


Figura 9. Crescimento de *Sacch. cerevisiae* Embrapa 20B, expressa em unidades de crescimento óptica (DO), no meio G7 com 10 g.L^{-1} de sacarose comercial. Condições: Agitação 300 rpm, aeração 2 vvm de ar, temperatura 25° C , pH do meio antes da inoculação 5,5; volume de trabalho 35 L. Sem ajuste de pH.

O pH sofreu variação, mostrando inicialmente um aumento e depois uma queda. Entre uma hora após a inoculação e quatro horas de crescimento a taxa de queda foi de 0,25 unidades de pH/h, com um coeficiente de determinação (r^2) de 0,99. Depois deste período, entre quatro e sete horas, a queda foi mais acentuada, tendo uma taxa da ordem de 0,3 unidades de pH/h, com um coeficiente de determinação (r^2) de 0,99. O valor de pH no tempo de oito horas mostra uma tendência para a estabilização. Mesmo com esta variação o pH permaneceu entre 5,85 e 4,0. O meio de cultura possui uma capacidade tamponante interessante.

4.3. Fermentação do mosto de pêssego

Durante a fermentação foram monitorados o consumo de açúcar e a produção de etanol (Figura 10). Nos seis primeiros dias após a inoculação da levedura Embrapa 20B ao mosto de pêssego ocorreu a fase tumultuosa, onde houve grande consumo dos açúcares e alta produção de etanol e CO_2 . Nestes primeiros dias, a levedura encontra no meio substrato em excesso, pouca quantidade de álcool e oxigênio dissolvido na massa líquida. Nestas condições o microrganismo seria estimulado a respirar se a concentração de ART fosse baixa. Com uma concentração inicial de ART elevada (101 g.L^{-1}), o microrganismo é estimulado a fermentar. Lentamente, as condições se alteram em direção à anaerobiose, estimulando ainda mais o processo fermentativo.

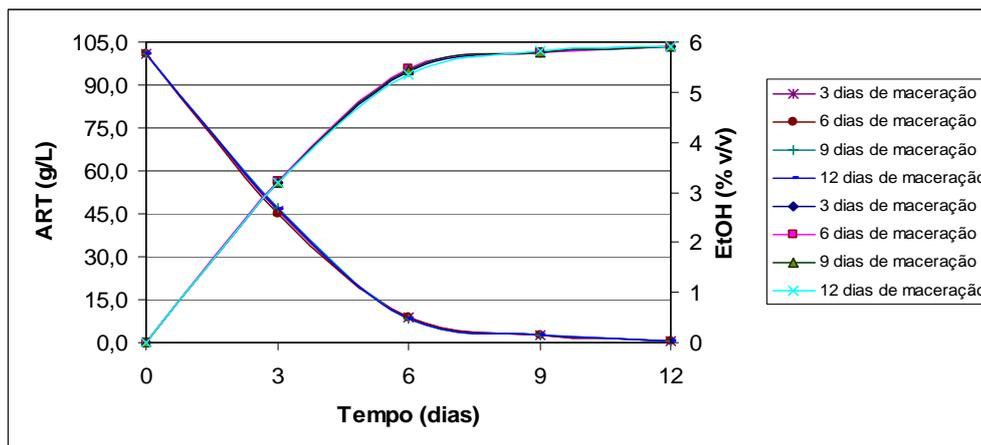


Figura 10. Evolução dos açúcares redutores totais e do etanol durante a fermentação do mosto de pêssigo, a diferentes tempos de maceração.

Depois do sexto dia iniciou a fase lenta de fermentação onde o substrato do meio começa a ficar escasso e a atividade metabólica das células de leveduras diminui. O tempo de maceração não afetou a velocidade de consumo dos açúcares e nem a formação do etanol. O álcool final em todos os tratamentos foi 5,9% v/v, mostrando um fator conversão ($Y_{\text{etoh/s}}$) de 0,46. Isto mostra que os tratamentos não tiveram a menor interferência sobre a formação de etanol e nem sobre o fator de conversão.

4.4. Influência do tempo de maceração nas características físico-químicas do fermentado

Os resultados das análises físico-químicas realizadas no fermentado de pêssigo mostraram que os fermentados apresentam diferenças significativas ($P < 0,05$) segundo o tempo de maceração, nas seguintes características: extrato seco total, relação álcool em peso/extrato seco reduzido, acidez volátil, polifenóis totais, flavonóides totais e dióxido de enxofre livre (Tabela 3). Com relação as demais análises, não foram observadas diferenças significativas.

TABELA 3. Determinações normais do fermentado.

Variáveis	Tempo de Maceração				CV (%)
	3 DIAS	6 DIAS	9 DIAS	12 DIAS	
Densidade (20/20°)	1,005	1,005	1,005	1,005	-
Álcool (% v/v)	5,9	5,9	5,9	5,9	-
Acidez total (mEq/L)	44,0a	43,6a	44,0a	44,3a	0,41
Acidez volátil (mEq/L)	9,6Aa	11,0 ABab	11,3ABb	13,3Bb	7,64
pH	3,95a	3,95a	3,94a	3,95a	0,18
Extrato seco (g.L ⁻¹)	22,39Aa	22,41Aab	22,45ABb	22,50Bc	0,08
R=etanol/E. S. R.	2,11Aa	2,11Aab	2,10ABb	2,10Bb	0,08
Açúcares redutores (g.L ⁻¹)	0,4a	0,5a	0,3a	0,4a	0,53
Fenóis totais (l 280)	17,53Aab	18,53Aa	16,26Ab	16,11Ab	3,76
Hidroxícimatos (u. a.)	7,6570a	7,7036a	7,7274a	7,1836a	5,97
Flavonóides totais (u. a.)	8,4336ABab	9,2486Aa	7,1117Bb	7,3222Bb	0,51
Pig. marrons (420 nm)	0,1102a	0,1026a	0,0860a	0,1037a	23,00
C420c%	50,07a	55,70a	48,23a	52,43a	8,66
C520c%	30,03a	27,52a	29,61a	27,81a	5,61
C620c%	19,90a	16,78a	22,15a	19,82a	47,94
DO 420+DO 520+DO 620	0,2201a	0,1842a	0,1783a	0,1978a	30,94
DO 420/DO 520	1,6887a	2,0209a	1,7962a	1,9060a	13,23
SO ₂ total (mg.L ⁻¹)	52,05a	51,32a	50,01a	49,49a	4,81
SO ₂ combinado (mg.L ⁻¹)	33,27a	33,40a	33,80a	34,13a	7
SO ₂ livre (mg.L ⁻¹)	18,78a	17,92ab	16,21ab	15,36b	6,14

Médias na linha seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa entre si.

Médias na linha seguidas por letras minúsculas apresentam diferença significativa entre si a nível de 5% de probabilidade (P<0,05).

Médias na linha seguidas por letras maiúsculas apresentam diferença significativa entre si a nível de 1% de probabilidade (P<0,01).

CV = Coeficiente de variação - DO= Densidade ótica em nanômetros - u.a.= unidade de adsorbância

4.4.1. Teor alcoólico, densidade e ART

O teor alcoólico do fermentado é dependente do teor de ART do pêssego e, conseqüentemente, do seu estado de maturação. O teor alcoólico final do

fermentado de pêssego foi de 5,9 % v/v não sendo influenciado pelo tempo de maceração. A densidade e o teor alcoólico tem uma relação inversa, quanto maior o teor alcoólico, menor será a densidade. Não havendo variação do teor alcoólico era esperada uma densidade constante, o que foi constatado nas análises.

Em todos os tratamentos o teor de ART final foi menor que 1 g.L^{-1} , não havendo diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. A pequena quantidade de açúcares ao final da fermentação se reveste de importância porque dá maior estabilidade biológica ao fermentado (ZAMBONELLI, 2003)..

4.4.2. Extrato seco

As análises revelaram que o extrato seco encontrado no fermentado de pêssego está dentro de limites encontrados em um vinho branco que é de 20 a 30 g.L^{-1} (ZOECKLEIN, 2001). O teor de extrato seco teve uma variação altamente significativa ($P < 0,01$), havendo um aumento do extrato seco devido ao tempo de contato do líquido com as partes sólidas (Figura 11).

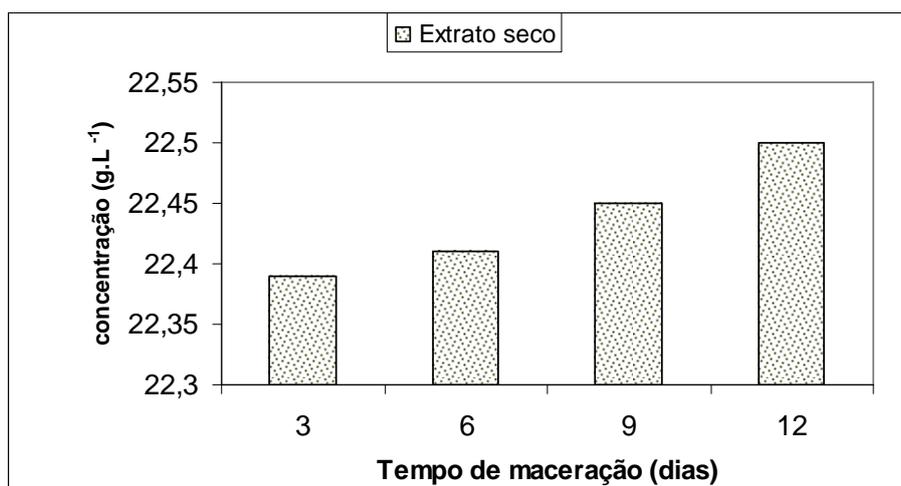


Figura 11. Influência do tempo de maceração no extrato seco do fermentado de pêssego.

4.4.3. Acidez e pH

Sabe-se que a quantidade de ácido acético (principal ácido da acidez volátil formada) varia de acordo com as condições de fermentação. A composição do mosto e a linhagem de levedura são fatores que interferem diretamente na evolução da acidez volátil (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975; PEYNAUD, 1989). Observa-se (Figura 12) um incremento da acidez volátil com o aumento do tempo de maceração. Este comportamento também tem sido observado, em alguns casos, durante a elaboração de vinho. Isto se deve, possivelmente, à microflora presente na casca da uva, rica em bactérias e leveduras oxidativas que produzem altas concentrações de ácido acético (SUÁREZ-LEPE & IÑIGO, 2004). Convém salientar que os valores detectados estão abaixo do limite máximo permitido pela legislação (20 mEq/L) para vinhos.

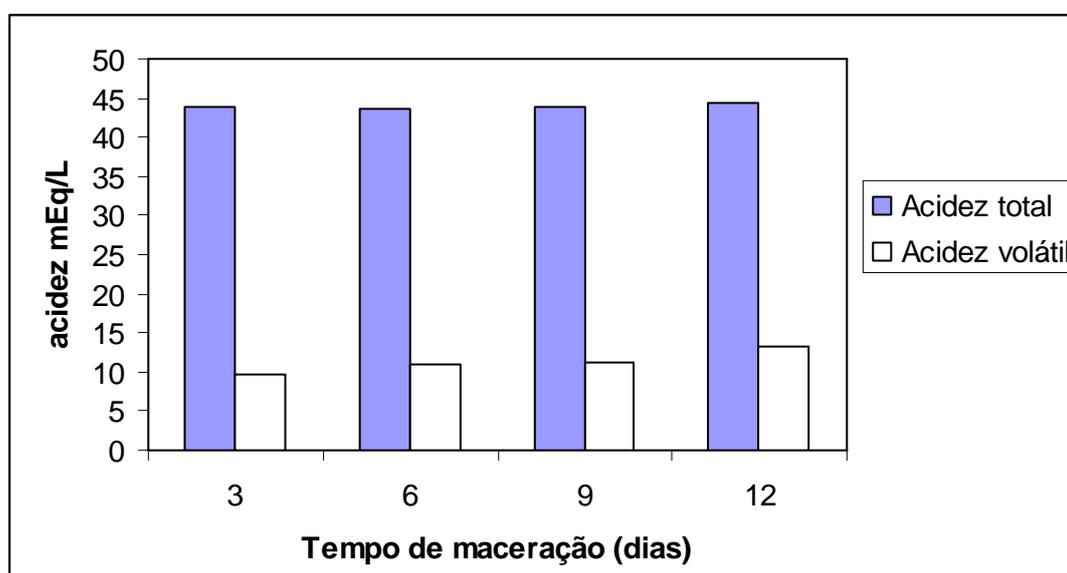


Figura 12. Influência do tempo de maceração sobre a acidez volátil e a acidez total no fermentado de pêssigo.

Os valores de acidez total e de pH no fermentado final não demonstraram diferença significativa ($P > 0,05$), indicando a não interferência dos tratamentos nas variações numéricas observadas.

4.4.4. Compostos fenólicos e cor

Os polifenóis presentes em alimentos e bebidas possuem atividade antioxidante. Estão relacionados com a prevenção de doenças degenerativas de caráter crônico como câncer e enfermidades cardiovasculares (MANACH *et al.*, 2004). Em bebidas alcoólicas fermentadas estes compostos fenólicos estão presentes em quantidades variadas. Fazem parte do grupo dos compostos fenólicos os ácidos fenólicos, flavanóides, estilbenos, cumarinas e taninos. Os ácidos fenólicos são subdivididos em ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos. Os hidroxicinâmicos compreendem os ácidos p-cumárico, caféico, ferúlico e sináptico (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000). Estes ácidos fazem parte de compostos denominados fitoquímicos. Nas plantas, os compostos fenólicos apresentam propriedades de defesa e estão relacionados com a coloração. No homem, estão associados com a redução de riscos de doenças crônicas como câncer e doenças cardiovasculares. O pêssego está entre as frutas de maior concentração de compostos fenólicos. Neste trabalho foram avaliadas as quantidades de hidroxicinamatos totais, flavonóides totais e fenóis totais do fermentado de pêssego.

Os hidroxicinamatos totais não apresentaram variação significativa devido ao tempo de maceração. Seus valores variaram entre 7,1838 e 7,7274 unidades de absorvância (u.a.). Estes valores são semelhantes aos encontrados por

SOMER & ZIEMELIS (1985) que mediram a absorvância a 320 nm em 230 vinhos brancos comerciais e obtiveram valores de hidroxinamatos totais que variaram entre 2,9 e 13,1 u. a. Os flavonóides totais e os fenóis totais apresentaram diferença altamente significativa devido ao tempo de maceração. Houve maior liberação destes compostos no sexto dia de maceração (Figura 13). Após este período ocorreu decréscimo na concentração. Sob este ponto de vista, o tempo de maceração que se deve utilizar no processo de elaboração do fermentado de pêsego da cultivar Chiripá é de seis dias.

Os tratamentos aplicados não interferiram significativamente sobre ($P>0,05$) a cor e nos percentuais de participação de cada cor individualmente sobre o total da coloração do fermentado. A maior participação foi da cor amarela (420 nm) no fermentado. Na avaliação da tonalidade de cor (DO_{420}/DO_{520}) também não houve variação significativa ($p>0,05$).

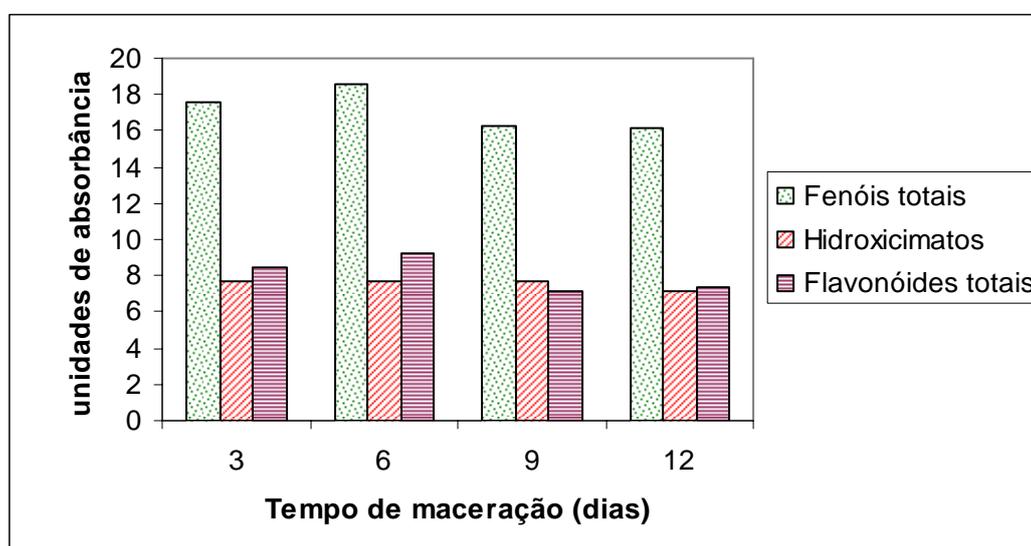


Figura 13. Influência do tempo de maceração sobre os teores de fenóis totais, hidroxicimatos e flavonóides totais no fermentado de pêsego.

Os pigmentos marrons, absorvância a 420 nm, não apresentaram variação significativa ($P>0,05$) com a maceração, apresentando valores entre 0,0860 a 0,1102 u. a. Estes valores estão próximos a vinhos brancos que apresentam características de cor entre o amarelo escuro ou amarelo ouro (FERNANDEZ-ZURBANO *et al.*, 1995).

4.4.5. Dióxido de enxofre (SO_2)

O teor de dióxido de enxofre total em um fermentado é dado pelo equilíbrio químico entre o SO_2 no estado livre e o combinado. Não se constatou variação na quantidade de SO_2 total e combinado no fermentado, porém houve variação significativa ($P<0,05$) para o SO_2 livre devido ao devido ao tempo de maceração. Com o aumento do tempo de maceração, houve uma diminuição dos teores de SO_2 livre (Figura 14).

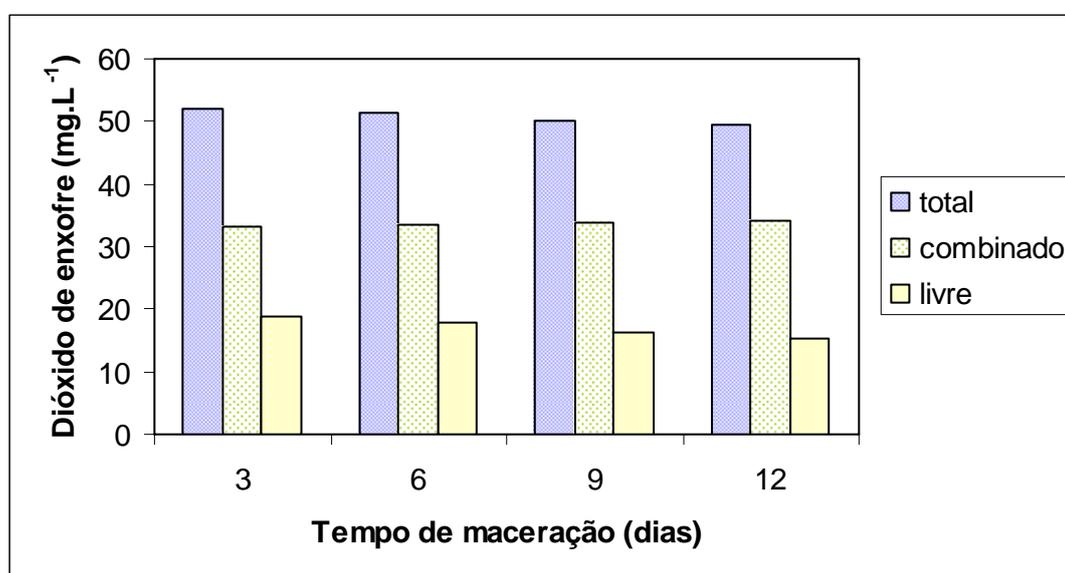


Figura 14. Teores de SO_2 livre, combinado e total nos fermentados devido ao tempo de maceração.

As perdas de SO_2 no estado livre encontrada no fermentado se devem, além das combinações, a perdas por evaporação ocorridas durante o processo fermentativo. São as quantidades de dióxido de enxofre livre que possuem ação sobre os microrganismos dependendo de fatores, entre eles pH, temperatura e constituição do meio (SUÁREZ-LEPE & IÑIGO, 2004).

As quantidades de dióxido de enxofre presentes no meio podem também ter origem microbiana, pois a capacidade da levedura *Sacch. cerevisiae* em produzir dióxido de enxofre é comum, tanto que não são descritas linhagens privadas desta capacidade (SUAREZ-LEPE, 1997). Nesta espécie, cerca de 50% das linhagens, formam quantidades inferiores a 10 g.L^{-1} . Numerosas são as linhagens que produzem quantidades entre 10 e 20 g.L^{-1} . Menos freqüentes, mas não raras são aquelas linhagens que superam estes níveis, podendo alcançar 200 a 300 g.L^{-1} (ZAMBONELLI, 1988). Segundo SILVA & FICAGNA (2003) a levedura Embrapa 20B/84 que foi inoculada ao mosto apresenta característica de formar quantidades elevadas de SO_2 durante a fermentação alcoólica quando comparada a outras leveduras.

4.5. Influência do tempo de maceração nos compostos voláteis do fermentado de pêssego

Os compostos voláteis do fermentado de pêssego (Tabela 4), com exceção do metanol e do acetato de etila, não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) devido aos tratamentos.

TABELA 4. Compostos voláteis do fermentado com diferentes tempos de maceração.

Componentes (mg.L ⁻¹)	Tempo de Maceração				CV (%)
	3 DIAS	6 DIAS	9 DIAS	12 DIAS	
Etanal	33,0a	26,1a	23,7a	23,6a	18,45
Acetato de etila	3,7	1,4	0,6	0,2	-
Metanol	417,3a	422,2a	376,8b	410,3ab	3,71
Propanol-1	99,5a	80,7a	81,0 a	92,8 a	11,28
Metil-2 Propanol-1	12,1a	15,7a	12,5a	13,9a	13,39
Metil-2 Butanol-1	12,9a	13,4a	10,9a	12,5a	9,95
Metil-3 Butanol-1	46,4a	48,9a	40,4a	45,6a	10,15
Soma álcoois superiores	171,0a	153,6a	143,8a	164,8a	8,34

*Como houve repetições com valores não detectados, a análise de variância não foi efetuada.

Médias na linha seguidas pela mesma letra minúscula não apresentam diferença significativa entre si a nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Médias na linha seguidas pela mesma letra maiúscula não apresentam diferença significativa entre si a nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

CV = Coeficiente de variação -

4.5.1. Etanal

O etanal é um aldeído importante nos fermentados de uva. Sua formação durante a fermentação alcoólica depende da linhagem da levedura, do pH, de substâncias nitrogenadas, da temperatura de fermentação e, principalmente, da

quantidade de dióxido de enxofre (SO₂) adicionado ao mosto. O dióxido de enxofre estimula a produção de etanal com o qual se combina diminuindo sua ação antisséptica (ZAMBONELLI, 1988).

O tempo de maceração não provocou diferença significativa no teor de etanal ($P > 0,05$) do fermentado de pêssego. O valor mais alto obtido com três dias de maceração (33,03 mg/L⁻¹) foi baixo quando comparado com valores normalmente obtidos em vinhos. DAUDT & MELLER (1975) encontraram em 19 tipos de vinhos brasileiros o teor médio de etanal de 161,64 mg/L.

O limite sensorial do etanal no vinho oscila entre 100 e 125 g.L⁻¹. Em concentrações superiores pode conferir ao vinho um odor característico descrito como de frutos secos ou maçã ralada e demasiadamente madura (ZOECKLEIN *et al.*, 2001).

4.5.2. Acetato de Etila

Os teores deste éster no fermentado de pêssego foram extremamente baixos e muitas vezes não detectados. Das doze amostras analisadas, em quatro não foi detectada presença de acetato de etila. As médias mostraram um decréscimo na quantidade deste composto com o aumento do tempo de maceração (Figura 15).

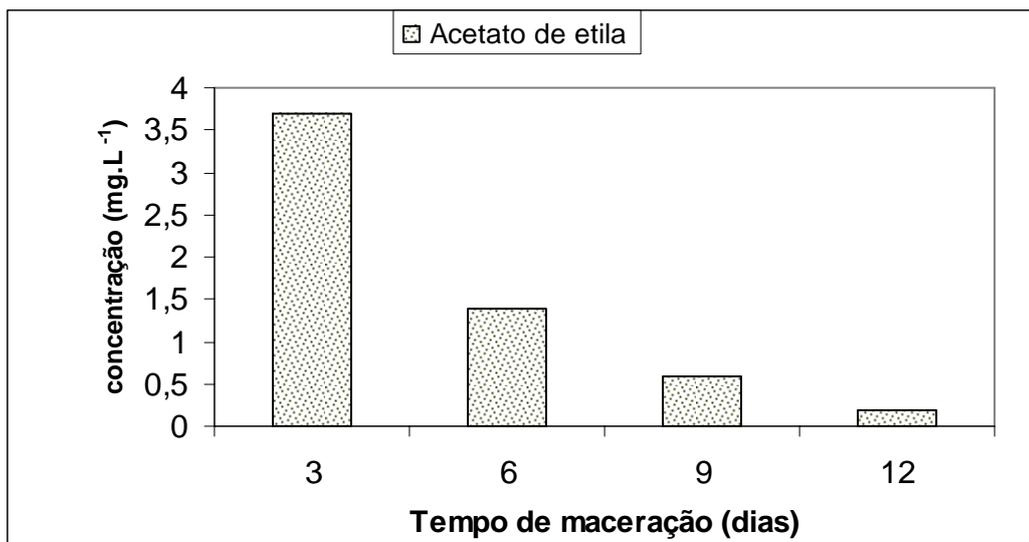


Figura 15. Nível de acetato de etila devido ao tempo de maceração.

O acetato de etila é o éster formado pelas leveduras em maior quantidade durante fermentações alcoólicas (BERTRAND *et al.*, 1978). As mais elevadas concentrações de acetato de etila são obtidas por *Hansenula* e *Pichia* e os mais baixos níveis são produzidos com *Sacch. cerevisiae*. O acetato de etila é formado em condições aeróbicas e não é derivada da ação da estearase do ácido acético e do álcool etílico. Sua formação se dá por outro mecanismo. Já foram obtidas evidências do envolvimento da Acetil Coenzima A (Acetil-CoA) na formação do acetato de etila (AMERINE & JOSLIN, 1970). Dependendo da linhagem de levedura pode formar, no processo de fermentação de mosto de uva, até 554 mg.L⁻¹ (DAUDT & OUGH, 1975). Vinhos novos contêm teores raramente inferiores a 50 mg.L⁻¹, com tendência a aumentar durante o envelhecimento (CURVELO-GARCIA, 1988). O acetato de etila, em baixas concentrações contribui positivamente para o aroma e em concentrações elevadas apresenta contribuição negativa (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998). As características sensoriais do acetato de etila são descritas como “odor a solvente para esmalte

de unhas” e, a concentrações de 150 até 200 mg.L⁻¹ confere “notas” de avinagramento ao vinho (ZOECKLEIN *et al.*, 2001).

4.5.3. Metanol

Os teores de metanol encontrados nos experimentos foram elevados. A análise estatística mostrou diferença significativa ($P < 0,05$) dos teores devido ao tempo de maceração. Os valores variaram em um intervalo de 370,8 a 422,2 mg.L⁻¹ sendo que houve um decréscimo com o aumento de tempo da maceração. Porém é importante destacar que todos os valores excederam ao limite máximo estabelecido pela legislação brasileira de 350 mg.L⁻¹ para vinho. Segundo ZOECKLEIN *et al.* (2001) fermentados elaborados com frutas distintas das uvas, como ameixas e damascos, podem conter quantidades altas de metanol devido ao seu conteúdo relativamente alto em pectina. SOUFLEROS *et al.* (2001) encontraram em seis amostras de fermentados de kiwi de diferentes safras um valor médio de 663 mg.L⁻¹. VALLE *et al.* (2004) obtiveram valores em torno de 160 mg.L⁻¹ em sidras na Espanha. Mesmo valor encontrado por VIDRIH & HRIBAR (1999) em sidras elaboradas com mosto macerado de maçãs da cultivar Gala. O teor em metanol nos vinhos brancos varia de 40 a 120 mg.L⁻¹ enquanto as quantidades formadas em vinhos tintos são superiores, de 120 a 250 mg.L⁻¹. GNEKOW & OUGH (1976) observaram que o conteúdo de metanol alcança seu nível máximo no início da fermentação em vinhos brancos enquanto que em vinhos tintos, que fermentam junto com as partes sólidas, o conteúdo aumenta durante toda a fermentação produzindo quantidades muito maiores.

A determinação do metanol é importante por causa da toxicidade que este álcool apresenta. O metanol não é proveniente da atividade do metabolismo de *Sacch. cerevisiae* mas pela atividade de enzimas pécticas dos frutos. A pectinesterase cataliza a desesterificação do metil éster do polímero do ácido poligalacturônico para formar ácido péctico, metanol e íons hidrogênio. Estas alterações provocam mudanças estruturais nos frutos e outros produtos de origem vegetal. Pectinesterase de pêssego é estável quando aquecida a 55°C por 5 minutos, a atividade decai em 23% a 65°C e é inativada a 70°C por 5 min (JAVERI & WICKER, 1991).

4.5.4. Álcoois superiores

Durante a fermentação as leveduras produzem além do etanol outros álcoois com mais de dois carbonos chamados de álcoois superiores ou mais comumente de óleo fusel. Os mais freqüentes são o metil-3 butanol-1 (álcool isoamílico), o metil-2 propanol-1 (isobutílico), o metil-2 butanol-1 (amílico ativo) e o propanol-1 (GUYMON *et al.*, 1961). No fermentado de pêssego as quantidades individuais e sua soma total não tiveram uma variação significativa ($P > 0,05$) devido à maceração (Figura 16).

Segundo GIUDICI *et al.* (1993), a produção destes álcoois durante a fermentação alcoólica é influenciada principalmente pelas condições do meio, entre elas, a concentração de açúcares, o pH, o conteúdo e tipo de nitrogênio disponível, a temperatura de fermentação, a aeração e a linhagem de levedura.

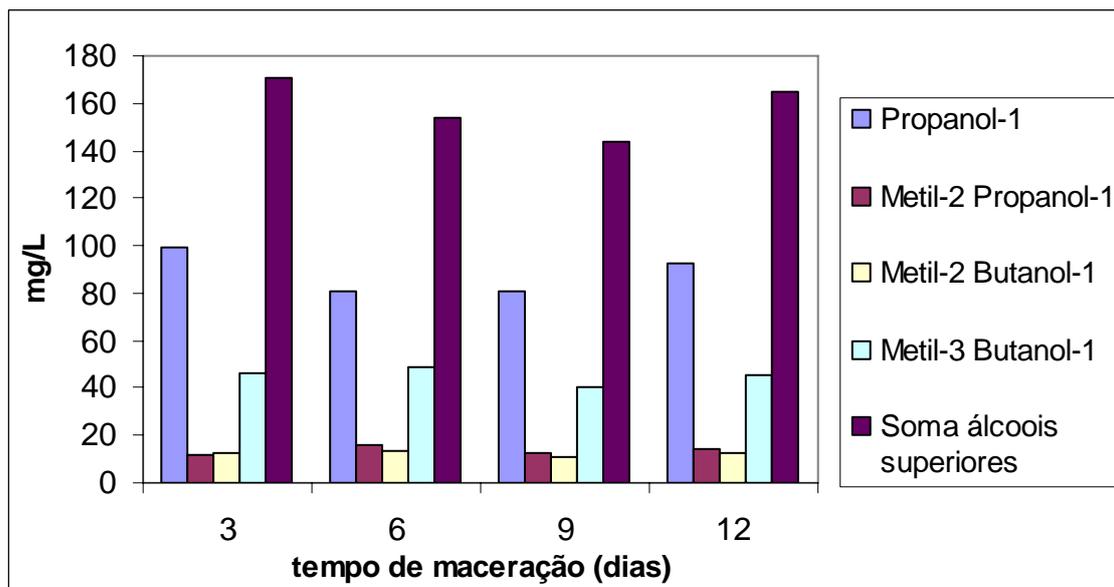


Figura 16. Concentração dos álcoois superiores devido ao tempo de maceração no fermentado de pêssgo.

O propanol-1 representou mais de 50% da quantidade total dos álcoois superiores em todos os tratamentos, sendo que, seus teores são altos quando comparados a fermentados de outras frutas como maçã, kiwi e uva. Os valores permaneceram em um intervalo de 80,7 a 99,5 mg.L⁻¹ não apresentando variação significativa. TAMBORRA (1993) estudando a formação de alguns álcoois superiores durante a fermentação alcoólica em vinho branco encontrou o valor máximo de 48 mg.L⁻¹ de propanol-1 quando o vinho continha apenas 8% de álcool. HERRERO *et al.* (2003) em estudos com fermentado de maçã variedade Fuji, e VIDRIH & HRIBAR (1999) analisando sidras elaboradas com as variedades Gala e Gloster, encontraram valores próximos a 16 mg.L⁻¹. Segundo DAUDT & OUGH (1975), o propanol-1 ao contrário dos demais álcoois superiores é formado pelas leveduras no início da fermentação alcoólica a baixas temperaturas de

fermentação, e quando há disponibilidade de maior quantidade de substâncias nitrogenadas.

Os álcoois metil-2 propanol-1 e metil 2 butanol-1 apresentaram valores muito próximos. O álcool metil-3 butanol-1 foi encontrado em quantidades superiores, quase duas vezes maiores que os dois álcoois anteriores somados.

Em geral o metil-3 butanol-1 (álcool isoamílico) é o álcool superior mais abundante no fermentado de uvas, representando aproximadamente 55% do total (LEE & COOLEY, 1981). No fermentado de pêssago este álcool representou uma fração menor, aproximadamente 28% do total de álcoois superiores.

Quanto a soma dos álcoois superiores encontrada no fermentado de pêssago, o valor médio encontrado (159,57 mg/L) esta próximo aos teores encontrados em sidras e vinhos. Em vinhos de mesa, AMERINE e OUGH (1976) encontraram concentrações totais de álcoois superiores variando desde 140 mg/L até 420 mg/L. SOUFLEROS *et al.* (2001) encontraram, em seis fermentados de kiwi de diferentes safras, o valor mínimo de 211 mg/L. HERRERO *et al.* (2003), VALLES *et al.* (2004) e VIDRIH & HRIBAR (1999), em estudos com sidras, encontraram valores próximos aos obtidos neste trabalho. Segundo RAPP & VERSINI (1991), os álcoois superiores em concentrações de até 300 mg/L contribuem para a desejável complexidade do vinho, entretanto, quando esta concentração excede 400 mg/L afetam negativamente a qualidade do vinho.

4.6. Influência do tempo de maceração nos elementos minerais do fermentado de pêssego

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos com relação aos teores dos elementos minerais dos fermentados ($P > 0,05$) (Tabela 5).

O conhecimento da quantidade de cátions de um fermentado é necessário, uma vez que representam a maior parte da fração inorgânica (cinzas), participam dos processos de clarificação e estabilização e são componentes importantes para a caracterização de uma determinada região (FLANZY, 1998).

TABELA 5. Elementos minerais no fermentado de pêssego.

Componentes (mg.L ⁻¹)	Tempo de Maceração				Média	DP	CV (%)
	3 DIAS	6 DIAS	9 DIAS	12 DIAS			
K	1940,8a	1919,6a	1903,4a	1930,2a	1924,0	30,67	1,59
Na	8,7a	9,0a	9,3a	7,8a	8,7	2,08	23,92
Ca	30,0a	30,9a	31,5a	31,2a	30,9	1,11	3,61
Mg	55,4a	55,1a	55,6a	59,0a	56,6	1,83	3,23
Mn	0,8a	0,9a	0,8a	0,7a	0,8	0,06	7,07
Cu	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-
Fé	2,3a	2,2a	2,4a	3,0a	2,5	0,42	17,03
Zn *	0,2a	0,2a	0,4a	0,8a	0,4	-	-
Rb	6,9a	6,9a	6,9a	7,0a	6,9	0,16	2,32
P	66,3a	73,0a	98,9a	56,3a	73,6	24,54	33,33

*Como houve repetições com valores não detectados, a análise de variância não foi efetuada.

Médias na linha seguidas pela mesma letra minúscula não apresentam diferença significativa entre si a nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$)

Médias na linha seguidas por letras minúsculas apresentam diferença significativa entre si a nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Médias na linha seguidas por letras maiúsculas apresentam diferença significativa entre si a nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

DP = Desvio padrão - CV = Coeficiente de variação

Os teores de minerais nos frutos e conseqüentemente em seus fermentados dependem da cultivar, das condições climáticas, do tempo de colheita, da temperatura de fermentação e de armazenamento, do pH, da porcentagem de álcool e da utilização de auxiliares de filtração.

Os elementos fósforo e potássio apresentaram altas concentrações quando comparadas ao fermentado de uva. Segundo DAUDT *et al.* (1987), os teores de fósforo aumentam com a maturação da uva, são normalmente maiores nas variedades de uvas tintas que nas brancas e há sempre menor concentração no fermentado em relação ao mosto. Os autores encontraram, em vinho da cv. Flora com dois meses após a segunda trasfega, $17,3 \text{ mg.L}^{-1}$ de fósforo e na cv. Napa Gamay $28,3 \text{ mg.L}^{-1}$. SALTON (1998), estudando quatro cultivares de uvas e as características de seus fermentados, obteve valores abaixo de 33 mg.L^{-1} em todos os experimentos. O valor médio de fósforo no fermentado de pêsego foi de $73,6 \text{ mg.L}^{-1}$, o que corresponde a duas vezes os valores citados acima.

A concentração de potássio encontrada também foi elevada. O valor médio foi de $1924,0 \text{ mg/L}$, quantidade muito superior aos teores de K encontrados por SALTON (1988) no vinho Couderc 13 ($737,0 \text{ mg/L}$); ROSIER *et al.* (1988) encontraram, em vinho Couderc 13 com maceração da película, 560 mg/L . Estes valores são maiores do que os teores mínimos encontrados por RIZZON & SALVADOR (1987) em 55 amostras de vinhos tintos da MRH 311 ($745,0 \text{ mg/L}$).

O interesse maior nestes dois elementos está vinculado à possibilidade de alterações no produto pronto. Segundo ZOECKLEIN *et al.* (2001), o fósforo existe naturalmente nos fermentados de uva na forma mineral e orgânica; em teores elevados, este elemento participa na formação de precipitados de fosfato férrico,

causando turvação. Segundo AMERINE & OUGH (1976), o potássio, nos vinhos engarrafados, pode provocar a formação de tartarato ácido de potássio, induzindo à precipitação.

4.7. Influência do tempo de maceração nos compostos voláteis do destilado de pêssego

Os compostos voláteis do destilado definem sua qualidade. Os resultados, expressos em mg/100 mL de álcool anidro, encontram-se na Tabela 6.

O álcool etílico de todas as amostras do destilado foi medido na saída do destilador sendo de 50 % v/v para todas as amostras.

TABELA 6. Compostos voláteis do destilado de pêssego.

Componentes (mg/100mL*)	Tempo de Maceração				CV (%)
	3 DIAS	6 DIAS	9 DIAS	12 DIAS	
Etanal	71,9Aa	20,3Bb	21,6Bb	20,1Bb	31,00
Acetato de etila	3,6a	9,5a	8,5a	6,2a	44,40
Metanol	530,0a	569,4a	528,6	537,5a	4,13
Propanol-1	143,1Aa	135,6Aab	138,3Aab	127,6Ab	3,96
Metil-2 Propanol-1	27,9a	27,4a	25,8a	25,5a	6,97
Metil-2 Butanol-1 + Metil-3 Butanol-1	73,4a	79,8a	77,0a	76,8a	9,62
Soma álcoois superiores	243,9a	243,4a	241,1a	229,9a	3,80

*Resultados em mg/100 mL de álcool anidro. - CV = Coeficiente de variação -

Médias na linha seguidas por letras minúsculas apresentam diferença significativa entre si a nível de 5% de probabilidade (P<0,05).

Médias na linha seguidas por letras maiúsculas apresentam diferença significativa entre si a nível de 1% de probabilidade (P<0,01).

Médias na linha seguidas pela mesma letra minúscula não apresentam diferença significativa entre si a nível de 5% de probabilidade.(P<0,05)

As variações numéricas observadas para a maioria dos compostos voláteis não foram significativas ($P > 0,05$). As exceções foram para o etanal e para o propanol que tiveram variações significativas ao nível de 1% e 5%, respectivamente.

4.7.1. Etanal

O destilado de pêssigo apresentou teores de etanal que variaram de 20 a 70 mg/100 mL de álcool anidro, demonstrando uma diminuição com o tempo de maceração (Figura 15). Estes teores estão próximos aos encontrados em análises de “brandy” (destilado de vinho) e de aguardente de cana. SALTON (1988) encontrou, em destilados de vinho, valores abaixo de 40 mg/100 mL de álcool anidro. RIZZON *et al.* (1992) encontraram teores de etanal variando de 2 mg (verificar) a 21 mg/100 mL de álcool anidro nos conhaques da MRH 311. COSTA (2002), estudando perfil analítico de aguardentes na região central do Rio Grande do Sul, encontrou na região de Jaguari uma média de 18,38 mg/100 mL e, na região Quarta Colônia, uma média de 12,59 mg/100 mL de álcool anidro..

Os aldeídos embora sejam constituintes normais de fermentados e de destilados, podem produzir modificações indesejáveis sobre o aroma dos mesmos (Curvello-Garcia, 1988).

Segundo GAY-BELLILE (1983), o etanal é um produto característico da “cabeça” do destilado; devido a sua alta constante de volatilidade é de difícil separação e desta forma mais da metade do etanal formado no fermentado encontra-se no destilado.

No fermentado de cana, durante um processo fermentativo normal, aldeídos, principalmente o etanal, são formados nas primeiras horas, mas tendem

a diminuir, podendo, com aeração, desaparecer nas etapas finais RIGOTT, (1989). NASCIMENTO *et al.* (1997), em concordância com vários autores, determinaram a predominância absoluta do etanal sobre os demais aldeídos em aguardente de cana. Quando presentes em excesso no produto final, os aldeídos podem provocar náuseas, vômitos, cefaléia, decréscimo da pressão cardíaca e taquicardia (LABIANCA, 1974).

4.7.2. Acetato de etila

Os teores de oscilaram entre 4 e 9 mg/100 mL de álcool anidro. A concentração de ésteres, em acetato de etila, presente nas amostras se mostrou abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira para destilados (200 mg/100 mL de álcool anidro) e também abaixo dos valores normalmente encontrados em destilados. COSTA (2002) encontrou valores médios de 29,25 mg/ 100 mL de álcool anidro em aguardentes na Região de Quarta Colônia, região central do Rio Grande do Sul. RIZZON *et al.* (1992) encontrou teores médios de 72 mg/100 mL de álcool anidro.

O acetato de etila é, dentre os ésteres do destilado de fermentado de uvas, aquele encontrado em maior quantidade. Teor elevado deste éster participa de forma negativa na qualidade do mesmo, sendo que é um componente característico da “cabeça” do destilado (LAFON *et al.*, 1973). Segundo BORZANI *et al. apud* MAIA (1994), o acetato de etila corresponde a cerca de 80% do conteúdo total de ésteres da aguardente de cana.

4.7.3. Metanol

O metanol é produto comum em destilados e fermentados e não representa perigo ao consumidor, quando presente em pequenas quantidades. Sua determinação em destilados é fundamental devido à sua toxicidade. Para CANTAGREL *et al.* (1991), o metanol é um produto característico da “cabeça” do destilado, por isso parte deste pode ser eliminada durante o processo de a destilação.

Era esperado que o teor de metanol no destilado de pêssego aumentasse devido ao tempo de maceração, porém não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Este aumento devido à maceração pode ser observado em fermentados de uva onde o contato prolongado das partes sólidas com o mosto provoca aumento no metanol no produto final. Este é um dos motivos pelos quais vinhos tintos não são matérias-primas adequadas para a elaboração de destilado. Vinhos brancos elaborados com maceração tendem a apresentar os mesmos problemas (RIZZON *et al.*, 1992). Os teores deste componente no destilado de pêssego oscilaram entre 528,6 e 569,4 mg/100mL de álcool anidro. Estes valores ultrapassam os limites da legislação que é de 0,250 mL (200 mg) de metanol em 100 mL de álcool anidro, para a aguardente de cana, e de 500 mg/100 mL de álcool anidro para destilados de vinho. HERNANDES-GOMEZ *et al.* (2001), estudando diferentes métodos de destilação em fermentados de melão, encontraram valores de metanol próximos aos encontrados neste trabalho, associando estes valores, a enzimas pectolíticas encontradas na fruta. Segundo GOODMAN (1990), o metanol é uma substância que pode causar sérios danos à saúde do consumidor se ingerida em quantidade acima do limite permitido.

4.7.4. Álcoois superiores

Segundo CANTAGREL *et al.* (1991) os álcoois superiores constituintes de um fermentado encontram-se quase que integralmente nos destilados de vinho, mesmo que estes sejam os principais constituintes da “cabeça” do destilado. Isto se confirmou nos valores encontrados no destilado de pêssigo. Como no fermentado, foram constatadas altas concentrações de propanol-1 e baixas concentrações de metil-2 propanol-1, metil-2 butanol-1 e metil-3 butanol-1 (Figura 17). Os teores destes álcoois superiores são utilizados como um dos critérios de qualidade em destilados (SOUFLEROS & BERTRAND, 1979).

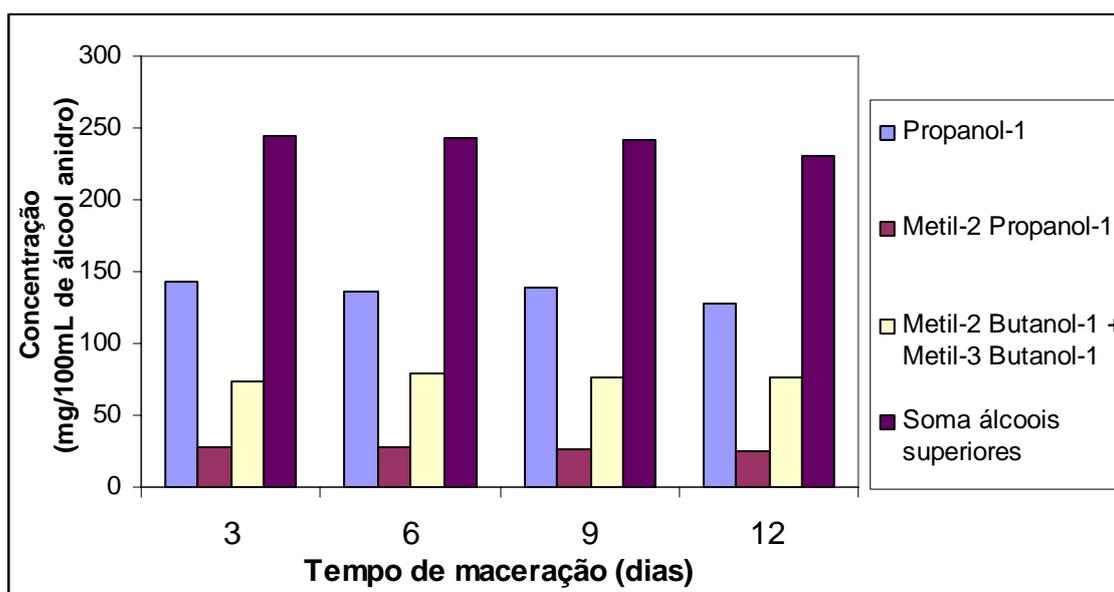


Figura 17. Concentração dos álcoois superiores devido ao tempo de maceração no destilado de pêssigo.

O propanol-1 mostrou diferença significativa com o tempo de maceração ($P < 0,05$), apresentando uma redução com o decorrer da maceração. Seus valores, assim como no fermentado, foram altos quando comparados ao

“brandy” (destilado de vinho) e à aguardente (destilado de cana). RIZZON *et al.* (1992), analisando destilados da MRH 311, e SALTON (1998), estudando o destilado de quatro variedades de uvas, encontraram teores muito próximos, com valores máximos em torno de 38 mg/L de álcool anidro. O valor médio mais alto encontrado por COSTA (2002), em aguardente de três microrregiões da região central do Rio Grande do Sul, foi de 16,838 mg/100mL de álcool anidro. Estes valores estão muito abaixo do menor valor (127,6 mg/100 mL) encontrado no maior tempo de contato do mosto com as partes sólidas. A concentração de n-propanol em aguardentes definem sua classificação. Por suas propriedades sensoriais, valores elevados deste metabólito caracterizam aguardentes de baixa qualidade (ALMEIDA & BARRETO, 1971). O tipo e o teor de aminoácidos presentes no mosto a ser fermentado influenciam a quantidade de n-propanol formada. Uma vez que aminoácidos como treonina e metionina são reguladores das rotas metabólicas de compostos sulfurosos, estes aminoácidos estão relacionados com a produção deste composto (BOZA & HORII, 1999). Assim, leveduras não produtoras de ácido sulfídrico normalmente produzem quantidades elevadas de n-propanol. Neste sentido, estudo feito por SILVA & DALARMI (2003) comprova que a levedura EMBRAPA-20B utilizada no inóculo é deficiente no que diz respeito à formação de H₂S.

Os demais álcoois superiores e a quantidade total dos álcoois superiores não sofreram variação significativa ($P > 0,05$) com o tempo de contato com as partes sólidas. A média da soma dos álcoois superiores (239,9 mg/L de álcool anidro) mostra valores abaixo dos encontrados em “brandy” e em aguardente de cana. Segundo LAFON *et al.* (1973), um destilado de vinho jovem

possui teores de álcoois superiores próximos a 250 mg/100 mL de álcool anidro; com o envelhecimento, os teores de álcoois superiores podem alcançar concentrações de até 700 mg/100 mL de álcool anidro.

Os teores de álcoois superiores totais dependem das condições do processo fermentativo. Fermentações na presença de borras ao longo da fermentação alcoólica provocam aumento de até 50% no teor destes álcoois, exceto do propanol-1 (MARLY-BRUGEROLLE, 1978). Neste trabalho não foi encontrada esta relação, pois os álcoois superiores não variaram devido ao tempo de maceração.

V – CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1. CONCLUSÕES

Nas condições do experimento, o tempo de maceração influenciou significativamente em 9 das 47 análises efetuadas no fermentado e no destilado de pêssego.

Nos fermentados a maceração interferiu significativamente no que se refere ao extrato seco, à relação álcool em peso e extrato seco reduzido, à acidez volátil, aos polifenóis totais, aos flavonóides totais e ao dióxido de enxofre livre.

O tempo de maceração alterou os teores dos compostos fenólicos no fermentado sendo que a máxima extração destes foi alcançada no sexto dia de maceração.

Os teores dos elementos minerais dos fermentados não foram influenciados pelo tempo de maceração, sendo que as quantidades de fósforo e potássio encontradas foram duas vezes superiores as observadas em fermentados de uva.

Quanto ao destilado, o tempo de maceração não influenciou significativamente a maioria dos componentes voláteis do destilado de pêssego. As exceções foram o etanal e o propanol que tiveram variações significativas ao nível de 1% e 5%, respectivamente.

Os minerais, metanol e álcoois superiores analisados não apresentaram a evolução esperada em consequência do tempo de maceração.

Em condições semelhantes ao experimento não é possível obter um fermentado ou destilado de pêssego variedade Chiripá devido às altas concentrações de metanol formadas durante o processo.

5.2. SUGESTÕES

Este trabalho abre oportunidades para futuros trabalhos envolvendo o pêssego cv. Chiripá e o seu melhor aproveitamento. Como sugestões para futuras pesquisas podemos citar:

- Avaliar a atividade das enzimas pécticas do pêssego da cultivar Chiripá.
- Estudo de formas de inibição da atividade das enzimas pécticas.
- Estudo de métodos para redução do metanol em bebidas com elevados teores deste composto.
- Modificar a metodologia do processo de maceração durante a elaboração do fermentado de pêssego (cv. Chiripá), de modo a reduzir os teores de metanol.
- Possibilidade da utilização do pêssego cv. Chiripá para elaboração de produtos alternativos como bebida alcoólica frisanse ou vinagre.

BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, M. E. W.; BARRETO, H. H. C. **Álcoois superiores em aguardentes de cana por cromatografia em fase gasosa**. Revista do Instituto Adolfo Lutz. v. 31, p. 117-124, 1971

AMERINE, M.A.; BERG, H.W.; CRUESS, W.V. **Technology of wine making**. The avi publishing company, Inc. 1972. Westport, 3.ed. 802p.

AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. **Analisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1976. 158p.

AQUARONE, E.; LIMA, V. A.; BORZANI, W. **Biotechnologia - Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo. Edgar Blucher, 230 p. (Biotechnologia, v. 5). 2001.

AYRAPAA, T. **Effect of temperature on the formations of high alcohols by culture yeasts**. Brauwissenschaft, nurnberg, v 23, v. 23, n. 1, p. 48-55, 1970.

BAUMES, R.; BAYONOVE, C.; BARILLÉRE, J.M.; SAMSON, A.; CORDONNIER, R.E. **La macération pelliculaire dans la vinification en blanc - Incidence sur la composante volatile des vins**. Vitis, Landau, v.28, p.21-48, 1989.

BEECH, F. W.; CARR, J. G. **Cider and Perry**. In Economic Microbiology, Vol. I: Alcoholic Beverages; Rose, A. H., Ed.; Academic Press: London, U.K.; 139-313. 1977.

BELIN, J. M. Las Leveduras. In Bourgeois, C. M.; Larpent, J. P. **Microbiología Alimentaria, Fermentações Alimentarias**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1995. cap 2 p. 19-30.

BERTRAND, A.; MARLY-BRUGEROLLE, C.M.; SARRE, C. **Influence du debourbage des mouts et du sulfitage sur les teneurs en substances volatiles des vin et des eaux-de-vie.** I - Etude des vins. *Connaissance Vigne et du Vin*, Talence, v.12, n.1, p.35-48, 1978.

BISSON, L.F. **Influence of nitrogen on yeast and fermentation of grapes.** In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN IN GRAPES AND WINE, 1991, Washington. *Anais...* Washington: The American Society Enology and Viticulture, 1991. 323p. p.78-89.

BLINDER, F.; VOGES, E. & LAUGE, P. **The problem of methanol concentration admissible in distilled fruit spirits** _ *Food Additives Contam* 5(3): 343-51, 1988.

BOURGEOIS, C. M.; LARPENT, J. P. **Microbiología Alimentaria.** Zaragoza: Ed. Acribia, 1995. 366p.

BOZA, Y.;HORII, J. **Influência da destilação sobre a composicao e a qualidade sensorial da aguardente de cana-de-açúcar.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 18, n. 1, p. 1-14, jan./mar. 1999.

BRASIL. Leis, decretos, etc. **Portaria no 229 do Ministério da Agricultura de 25 de outubro de 1988.** *Diário Oficial*, Brasília, 31 de outubro de 1988. Seção I. p.29.948. Aprova a complementação dos padrões de identidade e qualidade para o vinho, referidos no decreto no 73.267 de 06-12-1973.

BRASIL. Leis, decretos, etc. **Portaria no 371 do Ministério da Agricultura de 09 de setembro de 1974.** *Diário Oficial*, Brasília, 19 de setembro de 1974. Seção I (suplemento). p.3. Aprova a complementação dos padrões de identidade e

qualidade para as bebidas e demais produtos referidos no decreto no 73.267 de 06-12-1973.

BRUN, S.; CABANIS, J.C. _ **Securité alimentaire en matière de vin** _ Ann Fals Exp Chim 86(914): 9-16, 1993.

BUSTOS, L. **História e elaboração do “BRANDY”**. Revista do Vinho. Elo Editora e Artes Gráficas, Caxias do Sul, v.4, n. 19, p. 3- 5, 1990.

CALDWELL, D.R. **Microbial Physiology and Metabolism**, Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, IA, USA, 1995. 353 p.

CANTAGREL, R.; LURTON, L., VIDAL, J. P.; GALY, B. **La distillation charentaise pour l’obtention des eaux-de-vie de cognac**. In: BERTRAND, A. LES EAUX – DE – VIE TRADITIONNELLES D’ORIGINE VITICOLE. Lavoisier – Tec & Doc, Paris, 1991. 290p.

CASCUDO, L. da CÂMARA. **Historia da alimentação no brasil**. ,Belo Horizonte, Itatiaia/EDUSP, 1983. Vols 1 e 2.

CASTINO, M.; UBIGLI, M. **Il contributo dell’anidride solforosa di origine sia naturale, sia esogena, alla valutazione sensoriale dei vini**. Annali dell’Istituto Sperimentale per L’Enologia, Asti, v.22, p.223-227, 1991.

CHAN JÚNIOR, H. T. Passion fruit. In: NAGY, S.; SHAW, P. E. **Tropical e subtropical fruits: composition,properties and use**. Westport: AVI, 1980. p. 300-315.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças, fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 293 p.

COSTA, E. R. D. **Perfil analítico das aguardentes produzidas na região central do estado**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002, 73 p. (Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos).

CROUZET, J. **Les enzymes et l'arôme des vins**. Revue Française d'Oenologie, Paris, n.102, p.42-49, 1986.

CURVELO-GARCIA, A. S. **Controle de qualidade dos vinhos**. Química Enológica, Lisboa, Instituto da Vinha e do Vinho. 245p. 1988.

DAUDT, C. E.; OUGH, C. S. **Efeitos da variedade de microrganismos, temperatura, SO₂ e variedade de uva sobre a formação de álcoois superiores**. Rev. Brasileira de Tecnologia, v. 6, p. 301 – 305, 1975.

DAUDT, C.E.; GARCIA, N.G.; RIZZON, L.A. **Minerais em videiras, mostos e vinhos. II- Minerais em mostos, sua utilização durante a fermentação alcoólica e presença em vinhos**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.7, n.2, p.189-204, 1987.

DAUDT, C.E.; MELLER, A.C. **Acetaldeído e gás sulfuroso total em vinhos: suas determinações e importância**. Revista do Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, v.5, n.2, p.97-101, 1975.

DEMAIN, A. L. **Microbial biotechnology Trends in Biotechnol**. London, v. 18, p. 26-31, jan. 2000.

DRILLEAU, J. F. La Sidra. In Bourgeois, C. M.; Larpent, J. P. **Microbiología Alimentaria, Fermentaciones Alimentarias**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1995.

DUCROQUET, J. H, J; MONDIN, V. P. **Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: pêssego e ameixa**. Florianópolis : EPAGRI, 1996. 73p. (EPAGRI. Boletim Técnico nº 80).

ENGAN, S. **The influence of some aminoacids on the formation of higher aliphatic alcohol and esters.** Journal Institute of brewing, London, v. 76, n. 3, p. 254-256, 1970.

FARIA, J. B. **Processo e equipamento para eliminação de cobre contaminante das aguardentes,** Patente (Brasil) PI 8206688, 1982.

FERNANDEZ-ZURBANO, P.; FERREIRA, V.; PEÑA, C.; ESCUDERO, A.; SERRANO, F.; CACHO, J. **Prediction of oxidative browning in white wines as a function of their chemical composition.** J. Agric. Food Chem., 43: 2813-17. 1995.

FLANZY (C.), **OEnologie : fondements scientifiques et technologiques.** Collection Tec et Doc Lavoisier Ed. Paris. 1998.

GARAFOLO, A.; PIRACCI, A. **Évolution des esters des acides gras pendant la conservation des vins. Constantes d'équilibre et énergies d'activation.** Bulletin de L'O.I.V., Paris, v.67, n.757-758, p.225-245, 1994.

GAY-BELLILE, F. **Elaboration du cognac.** Institut de Chimie Analytique et du Controle de la Qualité. Marseille, 40p, 1983.

GIRARDI, C. L. ROMBALDI, C. V. PARUSSOLO, A. DANIELI, R. **Manejo pós-colheita de pêssegos cultivar Chiripá.** Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 28. 36 p. 2000.

GIUDICI, P.; SILVESTRONI, O.; GHIDONI, G. **Influenze della fonte azotata sulla attivit di ceppi di lievito con riferimento alla formazione di alcoli superiori.** Vignevini, Bologna, n.12, p.51-57, 1985.

GIUDICI, P.; ZAMBONELLI, C; KUNKEE, R. E. **Increased production of n-propanol in wine by yeast strains having an impaired ability to form**

hydrogen sulfide. American Journal of Enology and Viticulture, v. 44, n. 1, p. 17 – 21, 1993.

GNEKOW, B.; OUGH, C. S. **Methanol in wines and must: source and amounts.** Am. J. Enol. Vitic, 27, 1±6. 1976.

GOODMAN, L. A. & GILMAN. A. **Pharmacological basis of therapeutics.** 8nd ed., 11625p, Rd. Copyright, 1990.

GUYMON, J.F. **Chemical aspects of distilling wines into brandy.** In: WEBB, A.D. Chemistry of Winemaking. American Chemical Society, Washington, 3ª reimpressão, p.232-253, 1978.

GUYMON, J.F.; INGRAHAM, J.L.; CROWELL, E.A. **The formation of n-propyl alcohol. by *Saccharomyces cerevisiae*.** Archives of Biochemistry and Biophysics, New York, n.95, p.163-168, 1961.

HENICK-KLING, T. **Control of malo-lactic fermentation in wine: energetics, flavor modification and methods of starter culture preparation.** Journal of Applied Bacteriology, v.24, p.29-37, 1995. Supplement.

HERNANDES-GOMES, L. F.; ÚBEDA, J.; BRIONES, A. **Melon fruit distillates: comparison of different distillation methods.** Journal Science and Food Chemistry. n. 75, p. 487–500. 2001.

HERRAIZ, T.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; CABEZUDO, M.D. **Effects of the presence of skins during alcoholic fermentation on the composition of wine volatiles.** Vitis, Landau, v.29, p.239-249, 1990a.

HERRAIZ, T.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; CABEZUDO, M.D. **The influence of the yeast and type of culture on the**

volatile composition of wines fermented without sulfur dioxide. American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v.41, n.41, 1990b.

HERRERO, M.; GARCÍA, L. A. ; MARIO Diaz, M. **The Effect of SO₂ on the Production of Ethanol, Acetaldehyde, Organic Acids, and Flavor Volatiles during Industrial Cider Fermentation.** J. Agric. Food Chem. 51, 3455-3459. 2003.

ILAND, P.; EWART, A.; SITTERS, J.; MARKIDES, A. AND BRUER, N., **Chemical analysis: Red wine colour and phenolic measures.** In-Techniques for chemical analysis and quality monitoring during winemaking, ed. P. Iland; A. Ewart; J. Sitters; A. Markides; N. Bruer. Patrick Iland Wine Promotions. Adelaide, Australia, pp. 100-1001. 2000.

JARVIS, B.; FORTERS, M.J.; KENSILLA, W.P. **Factors affecting the developments of cider flavor.** Journal of Applied Bacteriology, v.24, p.5-18, 1995. Supplement.

KILLIAN, E. E. & OUGH, C. S. **Fermentation esters – formation and retention as affected by fermentation temperature.** American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v. 30, n. 4, p. 301 – 305, 1979.

KIMBALL, D. A. **Factors Affecting the rate of citrus fruits.** Proceeding Florida State Horticultural Society, Gainesville, v. 97, p. 40-44. 1984.

LABIANCA, D. A. **Acetaldehyde Síndrome and Alcoholism,** Analyst, v. 47, p.21, 1974.

LAFON, J.; COUILLAUD, P.; GAY – BELLE, F. **Le Cognac. As distillation.** Editions J. B. Baillièrè, Paris, 285p, 1973.

LARUE, F.; MURAKAMI, Y.; BOIDRON, J.N.; FOHR, L. **Premières observations sur l'utilisation des acides octanoïque et decanoïque comme adjuvants a l'anhydride sulfureux pour la stabilisation des vin doux.** Incidences organoleptiques. *Connaissance Vigne et du Vin*, Talence, v.20, n.2, p.87-95, 1986.

LEA, A. G. H. & PIGGOTT, J. R. **Fermented Beverage production.** 1nd ed. Londres: Chapman & Hall, 428p, 1995.

LÉAUTÉ, R. **Distillation in alambic.** *American Jourans of Enology and Viticulture.* V. 41, n. 1, p. 90 – 103, 1990.

LEE, C.Y.; COOLEY, H.J. **Research note higher-alcohol contents in New York wines.** *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v.32, n.3, p.244-246, 1981.

LEHTONEM, M.;SUOMALAINEM, H. Rum. In ROSE, A. H. (Ed) **Alcoholic beverages.** London: Academic Press, 1977. v 1, cap 9. (Economic Microbiology series).

LIMA, V. A. **Produção nacional de aguardente e potencial dos mercados internos e externos.** In: Mutton, M. J. P. e Mutton, M. A. *Aguardente de cana. Produção e Qualidade.* Jaboticabal: FUNEPE, p. 151 – 163, 1992.

LITCHEV, V. **Influence of oxidation processes on the development of the taste and flavor of wine destillates.** *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v.40, n.1, p.31-35, 1989.

MAIA, A. B. **Componentes secundários da aguardente.** *Stab*, Piracicaba, v. 12, n 6, p. 29-34, jul./ago. 1994.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. **Polyphenols: food sources and bioavailability.** Am.J Clin Nutr. 79(5), 727-747. 2004.

MARIÑO, J. I. M.; IGLESIAS, J. L. M.; DÁVILA, F. H. *et al.* **Présence et évolution des esters supérieurs, en fonction des différents facteurs, au cours de la fermentation alcoolique.** Revue Française d`Oenologie, Paris, v. 23, n. 90, p. 41 – 48, 1983.

MARLY-BRUGEROLLE, C.M.; SARRE, C.; BERTRAND, A. **Influence du debourbage des mouts et du sulfitage sur les teneurs en substances volatiles des vins et des eaux-de-vie.** II - Etude des eaux-de-vie. Connaissance Vigne et du Vin, Talence, v.12, n.12, p.111-120, 1978.

MARODIN, G. A. B. & SARTORI, I. A. **Situação das frutas de caroço no Brasil e no mundo.** In: I Simpósio Internacional de Frutas de Caroço - Pêssegos, nectarinas e ameixas. Porto Alegre - RS - Brasil, 117p, 2000.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. **Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta.** ALAN. [online]. mar. 2000, vol.50, no.1 [citado 29 Junho 2005], p.5-18. Disponível em World Wide Web: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0004-0622.

MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. **A cultura do pessegueiro.** Brasília: EMBRAPA-SPI; Pelotas: EMBRAPA-CPACT. 1998. 251p.

MENDONÇA, A. T.; SCHWAN, R. F.; SANCHES, N. M.; WHEALS, N. M.; DIAS, D.; **Avaliação fisiológica das leveduras fermentativas de caldo de cana-de-**

açúcar. In CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA SALVADOR, 20., 1999, Salvador, BA. Resumos... Salvador, 1999. 269 p.

MEYER, C.R.; LEYGUE-ALBA, N.M.R. **Manual de métodos analíticos enológicos.** Caxias do Sul: UCS, 1991. 49p.

MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. **Aguardente de Cana: Produção e Qualidade.** FUNEP. Jaboticabal:, 171 p. 1992.

NAKASU, B. H; RASEIRA, M. C. C; CASTRO, L. A. S. **Frutos de caroço: pêssigo, nectarina e ameixa no Brasil.** Informe Agropecuário, v. 18, nº 189, p. 8-13, 1997.

NASCIMENTO, R. F.; CERRONI, J. L.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. **Comparação dos métodos oficiais de análise e cromatográficos para a determinação dos teores de aldeídos e ácidos em bebidas alcoólicas.** Ciência e Tecnologia dos Alimentos, V.18, N.3, pg 350-355 agosto-outubro, 1998.

NAVARRÉ, C. **L'oenologie.** 4ª ed. Ed. Lavoisier Tec. & Doc., París. 1994.

NYKÄNEM, L. **Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages.** American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v.37, n.1, p.84-96, 1986.

ONISHI, M.; CROWELL, E.A.; GUYMON, J.F. **Comparative composition of brandies from Thompson Seedless and three white-wine grape varieties.** American Journal Enology and Viticulture, Davis, v.29, n.1, p.54-59, 1978.

OREGLIA, F. **Enología teórico-práctica.** 2.ed. Buenos Aires: Ediciones Instituto Salesiano de Artes Gráficas, v.1, p.205-220, 1978.

PARUSSOLO, A. **Armazenamento refrigerado de pêssegos [*Prunus persica* (L) Batsch], cv. Chiripá**. Pelotas. Universidade Federal de Pelotas. 2001. (Dissertação de Mestrado em Ciências).

PERAZZOLO, A. S. 1999. **Cultivares de pêssegos, ameixas e nectarinas**. In: Encontro Nacional Sobre Fruticultura de Clima Temperado, II, 1999, Fraiburgo-SC. Anais. Fraiburgo: EPAGRI. p. 70-76.

PEYNAUD, E. **Enología práctica. Conocimiento y elaboración del vino**. 3ª ed. Ed. Mundi Prensa, Madrid. 1989.

PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUCAN, R.E.B. **The Science and Technology of Whiskies**. New York: Longman Scientific & Technical, 1989. 410 p.

PROTAS, J.F. da. S.; MADAIL, J.C.M. **Características econômicas e sociais da produção de pêssego no Rio Grande do Sul**. In Garrido, L.T.; Botton, M. (Ed). Sistema de produção de pêssego de mesa na região da Serra Gaúcha. Capturado em 02 de maio de 2005. Online. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegoDeMesaRegiaoSerraGaucha/>

RAPP, A.; VERSINI, G. **Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines**. International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine, p.156-164, 1991.

RASEIRA, M. C. B; NAKASU, B. H. **Situação e perspectivas do cultivo de fruteiras de clima temperado no Rio Grande do Sul - frutas de caroço**. In: Reunião técnica de Fruticultura, V, 1998, Veranópolis-RS. Anais. Veranópolis: FEPAGRO. p. 21-22.

REAZIN, G.; SCALES, H.; ANDREASEN, A. **Mechanism of major congener formation in alcoholic grain fermentations.** Journal Science and Food Chemistry, Barking, n.18, p.585-589, 1970.

RIBÉREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONÈCHE B., LONVAUD A., **Traité d'Oenologie –Microbiologie du vin.** Vinifications, ed. Dunod, 1998.

RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., RIBÉREAU-GAYON, P. y SUDRAUD, P. (1975) **Sciences et Techniques du Vin**, vol. 2. Dunod, Paris.1975.

RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P. **Traité d'Oenologie: sciences et techniques du vin.** Paris: Edition Dunod, vol I, 1975. 676p.

RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P. **Traité d'Oenologie: sciences et techniques du vin.** Paris: Edition Dunod, vol II, 1976. 556p.

RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P. **Traité d'Oenologie: sciences et techniques du vin.** Paris: Edition Dunod, vol IV, 1977. 643p.

RIGOTT, J. R. **Distilled Beverage Flavour.** Weinheim: VCA, 1989.

RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G. **Teores de cátions dos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH-311).** Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, p.1-4, 1987. (EMBRAPA-CNPUV. Comunicado Técnico, 4).

RIZZON, L.A. **Composição química dos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) - Compostos voláteis.** Bento

Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 1987. 4p. (EMBRAPA-CNPUV. Comunicado Técnico, 5).

RIZZON, L.A.; ROSA, E.O.; SALVADOR, M.B.G.; ZUCCO, N.M.G. **Características analíticas dos conhaques da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311)**. Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Campinas, v.12, n.1, p.43-51, 1992.

ROMANI, F.A. _ **Metanol** _ Rev Bras Oftalmol 49(2): 87-88, 1990.

ROSIER, J.P.; RIZZON, L.A.; PEDRUCCI, G. **Diferenciación analítica de los sistemas de vinificación para obtener vinos blancos con la variedad "Couderc 13"**. In: JORNADAS LATINOAMERICANAS DE VITICULTURA Y ENOLOGIA, 3., Mendoza, 19 a 24 ago. 1988, p.1-12.

SACHS, S.; CAMPOS, A. D. **O pessegueiro**. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. A cultura do pessegueiro. Brasília: EMBRAPA-SPI; Pelotas: EMBRAPA-CPACT. 1998. Cap. 1.

SALTON, M. **Influência do dióxido de enxofre e cultivares de videira na composição química e na qualidade do destilado de vinho**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1988, 157p. (Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos).

SHAHANGIAN, S.; ROBINSON, V.L. & JENNISON, T.A. _ **Formate concentrations in a case of methanol ingestion** _ Clin Chem 30(8): 1413-4, 1984.

SHINOHARA, T.L. **L'importance des substances volatiles du vin. Formation et effects sur la qualité**. Buletin de l'O.I.V., Paris, v.57, n.641-642, p.606-618, 1984.

SILVA, G. A. ; **O uso de SO₂ como preventivo químico e sua relação com reações de hipersensibilidade.** HortiSul, v 3, n.1, p.29-33, 1994.

SILVA, G. A. da. **Produção de metabólitos no armazenamento de uvas 'Isabel' (Vitis labrusca L.) e sua relação com temperatura e vácuo.** Ciência Rural, Santa Maria, v 30, n4 p 705-711, 2000.

SILVA, G. A. FICAGNA, E. **Características fermentativas de quatro linhagens de leveduras autóctones e uma linhagem comercial.** X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia. Bento Gonçalves- RS, 03 a 05 de dezembro de 2003.

SILVA, G. A. **The occurrence of killer sensitive and neutral yeasts in brazilian riesling itálico grape must and the effect of neutral strains on killing behavior.** Applied Microbiology Biotechnology, v.46, p.112-121, 1996.

SILVA, G. A.; DALARMI L. **Comportamento de leveduras isoladas de uvas Cabernet Sauvignon do vale dos vinhedos na safra 2003.** X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia. 03 a 05 de dezembro de 2003. Bento Gonçalves- RS. Anais. Embrapa – CNPUV. 2003. p 214.

SILVA, G.A. **Elaboração de vinho: Aspectos microbiológicos.** In: GUERRA, C. C.(Ed). Uva para processamento : os colheita. Brasília, CF: Embrapa Informação tecnológica 2003. P. 36-48. (Embrapa Uva e Vinho. Frutas do Brasil, 36)

SILVA, M.A.A.A., SILVA, G.A. **Leveduras nacionais selecionadas para elaboração de vinho.** Circular técnica: Embrapa Uva e Vinho. N ° 14, p.5-19, 1987.

SOLES, R. M.; OUGH, C. S.; KUNKEE, R. E. **Ester concentration differences in wine fermented by various species and strains of yeasts.** American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v. 33, n. 2, p. 94 –98, 1982.

SOUFLEROS, E.; BERTRAND, A. **La production artisanale du “ TSIPOURO” a noussa (Grece).** In: BERTRAND, A. LES EAUX – DE – VIE TRADITIONNELLES D'ORIGINE VITICOLE. Lavoisier – Tec & Doc, Paris, 290p., 1991.

SOUFLEROS, E.; BERTRAND, A. **Role de la ´souche de levure` dans la production des substances volatiles au cours de la fermentation du jus de raisin.** Connaissance Vigne et du Vin, Talence, v. 13, n. 3, p.181 – 198, 1979.

SOUFLEROS, E.H.; PISSA, I.; PETRIDIS, D.; LYGERAKIS, M. ; MERMELAS, K.; BOUKOUVALAS, G.; TSIMITAKIS, E. **Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimisation of its composition.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 75, 487–500. 2001.

SUÁREZ-LEPE, J. A. 1997. **Levaduras vónicas. Funcionalidad y uso en bodega.** Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

SUÁREZ-LEPE, J. A.; IÑIGO, B. 2004. **Microbiología enológica. Fundamentos de vinificación.** 2ª ed. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

TAMBORRA, P. **Problemi connessi alla produzione di vino bianco senza aggiunta di SO₂.** L'Enotecnico, Milano, n.1, anno 29, 1993.

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: UFRGS-Faculdade de Agronomia; Departamento de Solos, 1985. 190p. (UFRGS-Faculdade de Agronomia. Boletim Técnico, 5).

TIMBRELL, J. A. **Principles of Biochemical Toxicology.** 2nd ed., Ed. Copyright, 1991.

USSEGLIO-TOMASSET, L. **Chimica enologica.** Brescia: AEB, 1995. 431p.

VARGAS, E. A. & GLORIA, M. B. **Qualidade da aguardente de cana (*Saccharum officinarum*, L.) produzida, comercializada e/ou engarrafada no Estado de Minas Gerais. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 43 – 46, jan – jun, 1995.

VIDRIH, R., HRIBAR, J., **Synthesis of higher alcohols during cider processing**. Food Chemistry, 1999, 67, 287–294.

VOGT, E.; JAKOB, L.; LEMPERLE, E.; WEISS, E. **El vino - obtención, elaboración y análisis**. Tradução por Jaime Esain Escobar. Zaragoza: Acribia, 1984. 294p. Tradução de Der Wein: Bereitung, Behandlung, Untersuchung.

YOKOYA, F. **Fabricação da Aguardente de Cana**. Campinas, Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 92p. (Série Fermentações Industriais, 2), 1995.

ZAMBONELLI, C. 2003. **Microbiologia e biotecnologia dei vini. I processi biologici e le tecnologie della vinificazione**. 3a ed. Ed. Edagricole, Bologna.

ZENEON, O.; BADOLATO, E.S.G.; NAGATO, L.A.F. *et al.* _ **Metanol** _ **Avaliação da ocorrência de intoxicações causadas pela ingestão de bebidas alcoólicas no Estado de São Paulo** _ Bol SBCTA 30(1):71-74, 1996.

ZOECKLEIN, B. W., FUGELSANG, K. C., GUMP, B. H. e NURY, F. S. **Análisis y producción de vino**. Editorial Acribia. Zaragoza. 2001.