

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO TECNOLÓGICO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE**  
**ALIMENTOS**

Ana Paula André Barros

**INFLUÊNCIA DA CEPA DE LEVEDURA NA COMPOSIÇÃO**  
**FENÓLICA E AROMÁTICA DE VINHOS DA CV. SYRAH NO**  
**VALE DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow

Co-Orientador: Dr. Giuliano Elias Pereira

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Barros, Ana Paula André

Influência da cepa de levedura na composição fenólica e aromática de vinhos da cv. Syrah no Vale do Submédio São Francisco / Ana Paula André Barros ; orientador, Jorge Luiz Ninow ; co-orientador, Giuliano Elias Pereira. - Florianópolis, SC, 2013.

96 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2. Vinhos tropicais. 3. Leveduras. 4. Compostos fenólicos. 5. Compostos voláteis. I. Ninow, Jorge Luiz . II. Pereira, Giuliano Elias . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Ana Paula André Barros

**INFLUÊNCIA DA CEPA DE LEVEDURA NA COMPOSIÇÃO  
FENÓLICA E AROMÁTICA DE VINHOS DA CV. SYRAH NO  
VALE DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Alimentos e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Florianópolis, Maio de 2013

---

Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow  
**Orientador**

---

Pesq. Dr. Giuliano Elias Pereira  
**Coorientador**

---

Prof. Dr. João Borges Laurindo  
**Coordenador**

**Banca Examinadora:**

---

Pesq. Dr. Giuliano Elias Pereira

---

Dr. Vitor Manfroi

---

Prof. Dra. Marilde Terezinha  
Bordignon Luiz

---

Dr. José Carlos Cunha Petrus

**Florianópolis, 24 de maio de 2013.**

Aos meus pais, “ouro de mina”. Sem o amor e a doação deles, nada, nenhuma conquista, seria possível.

## AGRADECIMENTOS

A todos do Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido pela colaboração para realização do presente trabalho.

A todos do Laboratório de Referência Enológica – LAREN pela disponibilidade em apoiar a realização desse trabalho.

À Vinícola Ouro verde (Miolo Wine Group) pela concessão das uvas utilizadas no experimento.

Ao meu querido orientador, Dr. Jorge Ninow, pela orientação e compreensão ao longo dessa jornada.

Ao Dr. Giuliano Elias Pereira pela disponibilidade, aprendizados e orientação.

Ao colega Marcos Lima pela atenção, aprendizado e incentivo.

Aos meus colegas do IF-Sertão, minhas inspirações diárias: Line, Rafa, Pedrinho, Rodolfo, Tiãozinho, Fábio, Andrea, Erbs, Jane, Theo e tantos outros ‘pequenos grandes gênios’ dessa equipe que tenho orgulho de fazer parte.

À Luciana Cavalcanti pelo apoio, incentivo e compreensão.

Aos queridos, William, Elis, Islaine e Daynara pelo apoio na execução desse projeto.

A todos meus alunos pelo incentivo e compreensão.

À minha amiga e colega de curso, Cleciene, por tornar os momentos mais difíceis dessa caminhada virar uma bela gargalhada ao final.

Às minhas “Xuas” Flavinha e Kelly pelo “teto” e noites mais que agradáveis durante minha estadia em Bento.

A todos os amigos que sempre me incentivaram e me fizeram acreditar que seria possível.

A todos os professores que passaram pela minha vida acadêmica, meus mais sinceros agradecimentos.

À minha família pela educação, amor e cuidado a mim concedidos.

“Queria eu agora estar a degustar-te  
Sentindo em mim tal prazer adormecido  
Abusando sutilmente de toda tua arte  
E não apenas provar, ficar embebecido”  
(Raphael Rosendo de Oliveira)

## RESUMO

A cepa de levedura exerce um papel importante na qualidade final de um vinho, uma vez que é ela a responsável pela transformação do mosto em vinho. O Vale do Submédio São Francisco é uma das regiões mais promissoras na produção de vinho no Brasil, estando localizada nos estados da Bahia e Pernambuco. O uso de leveduras selecionadas é uma prática comum na região, porém, ainda é desconhecido se a região pode produzir vinhos por fermentação espontânea, através de leveduras selvagens, produzindo um produto com propriedades específicas que caracterize a região. Baseado nessas informações, este estudo teve como objetivo avaliar a influência da cepa de levedura nas características físico-química, voláteis, fenólicas e sensoriais dos vinhos da cv. Syrah cultivada nessa região. Foram elaborados 5 (cinco) vinhos tintos, 1 (um) conduzido por leveduras selvagens (LS) e os demais com cepas comerciais (A350®; A796®; MCRIO®; e MPDM®). A curva de fermentação alcoólica obtida a partir do vinho elaborado com leveduras selvagens apresentou fermentação alcoólica mais lenta quando comparada com as cepas de leveduras comerciais estudadas. A composição físico-química de todos os vinhos elaborados apresentaram valores dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Observando a composição volátil dos vinhos, constatou-se a grande influência da cepa de levedura na formação aromática dos vinhos. O vinho fermentado com leveduras selvagens se destacou entre os compostos aromáticos por apresentar a maior concentração de acetato de isoamila, acetato de feniletina, acetato de etila, ácido isobutírico e 2-metil-propanol, valores bem mais elevados do encontrado nas outras cepas. Na composição fenólica dos vinhos foi possível observar que a cepa LS se destacou apresentando, de uma maneira geral, maiores teores de fenólicos em seus vinhos com destaque para a delfinidina, a peonidina, a malvidina e a catequina. Apesar do fraco desempenho da cinética fermentativa, o uso de leveduras selvagens deve ser considerado quando se pensar em elaborar um vinho com características regionais.

**Palavras-chave:** *Vitis vinifera* L.; Uvas; Vinhos tropicais; Leveduras; Compostos voláteis. Compostos fenólicos.

## ABSTRACT

The yeast strain has an important role in the final quality of the wine, since it is responsible for transforming must into wine. The Lower-middle São Francisco Valley is one of the most promising regions in wine production in Brazil, being located in the states of Bahia and Pernambuco. The use of select yeast is a common practice in the region, however, it is still unknown if the region can produce wines by spontaneous fermentation, through wild yeast, producing a product with specific properties that characterize the region. Based on this information, this study aimed to evaluate the influence of yeast strain on the physicochemical, volatile, phenolic and sensory characteristics of the wines from cv. Syrah grown in this region. In order to conduct this study, 5 (five) red wines were elaborated, 1 (one) conducted by wild yeasts and the others with commercial strains (A350®; A796®; MCRIO®; and MPDM®). The curve obtained from the alcoholic fermentation of the wine made with the wild yeast showed a slower fermentation when compared with commercial yeast strains studied. The physicochemical composition of all wines elaborated presented values within the standards established by the Brazilian legislation. Observing the volatile composition of the wines, it was observed the great influence of yeast strain in the formation of aromatic wines. The wine fermented by wild yeast stood out among the aromatic compounds for presenting the highest concentration of isoamyl acetate, phenylethyl acetate, ethyl acetate, isobutyric acid and 2-methyl-propanol, values well above those found in other strains. In the phenolic composition of wines it was observed that the wild yeast strain stood presenting, in general, higher levels of phenolics in their wines, highlighting the delphinidin, peonidin to the catechin and malvidin. Despite the poor performance of the fermentation kinetics, the use of wild yeast should be considered when thinking about preparing a wine with regional characteristics.

**Keywords:** *Vitis vinifera* L.; Grapes; Tropical wines; Yeasts; Volatile compounds; Phenolic Compounds; Phenolic compounds

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo bioquímico da glicólise.....	27
Figura 2 – Ciclo de crescimento das leveduras.....	31
Figura 3 – Fermentação alcoólica.....	38
Figura 4 – Biossíntese de subprodutos da fermentação alcoólica.....	40
Figura 5 – Compostos voláteis secundários frequentes em vinhos e as respectivas notas aromáticas conferidas em vinhos.....	42
Figura 6 – (a) Pesagem das uvas. (b) Separação dos tratamentos.....	49
Figura 7 – (a) Garrafões com vinhos em fermentação alcoólica. (b) Detalhe para o garrafão em fermentação alcoólica.....	52
Figura 8 – Curva de fermentação dos vinhos elaborados em função das cepas de levedura utilizadas.....	59
Figura 9 – Análise de componentes principais (ACP) realizada a partir de análises clássicas dos vinhos elaborados a partir das cinco cepas de levedura.....	63
Figura 10 – Análise de componentes principais (ACP) realizada a partir dos ésteres determinados nos vinhos elaborados a partir das cinco cepas de levedura.....	67
Figura 11 – Análise de componentes principais (ACP) realizada a partir dos ácidos graxos determinados nos vinhos elaborados a partir das cinco cepas de levedura.....	71
Figura 12 – Análise de componentes principais (ACP) realizada a partir dos alcoóis superiores determinados nos vinhos elaborados a partir das cinco cepas de levedura.....	76
Figura 13 – Análise de componentes principais (ACP) realizada a partir dos compostos fenólicos determinados nos vinhos elaborados a partir das cinco cepas de levedura.....	82

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 – Área plantada de videiras no Brasil, em hectares.....17

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Médias dos dados meteorológicos diários da estação agrometeorológica durante o ciclo fenológico da cv. Syrah.....	48
Tabela 2 – Codificação e caracterização dos tratamentos.....	50
Tabela 3 – Composição físico-química de vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.....	60
Tabela 4 – Ésteres identificados e dosados em vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.....	66
Tabela 5 – Ácidos graxos identificados e dosados em vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.....	70
Tabela 6 – Álcoois superiores identificados e dosados em vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.....	75
Tabela 7 – Composição fenólica de vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABENZ - Ácido benzoico  
ACAFE - Ácido caféico  
ACINÂ - Ácido cinâmico,  
ACLOR - Ácido clorogênico  
ACP – Análise de componentes principais  
ACUM - Ácido cumárico  
ADQ – Análise descritiva quantitativa  
AGÁL - Ácido gálico  
AG1 - Ácido isobutírico  
AG2 - Ácido butírico  
AG3 - Ácido isovalérico  
AG4 - Ácido hexanóico  
AG5 - Ácido octanóico  
AG6 - Ácido decanóico  
AG7 - Ácido dodecanóico  
ALC – Teor alcoólico  
ASIRIN - Ácido siríngico  
AT – Acidez total  
ATC – Antocianinas totais  
ATP – Adenosina trifosfato  
AV – Acidez volátil  
A350 – Maurivin awri 350  
A796 – Maurivin awri 796  
CAEMP - Caempferol  
CATE - Catequina  
CIAN - Cianidina  
CG-DIC – Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama  
CP1 – Componente principal 1  
CP2 – Componente principal 2  
DEN – Densidade  
DEL - Delfinidina  
EPICAT – Epicatequina  
EPIGAGA - Epicatequina galato  
EPIGAGAL - Epigalocatequina galato  
EXT – Extrato seco  
E1 - Butirato de etila  
E2 - Acetato de isoamila  
E3 - hexanoato de etila  
E4 - Acetato de hexila

E5 - Octanoato de etila  
E6 - Decanoato de etila  
E7 - Acetato de feniletina  
E8 - Dodecanoato de etila  
E9 - Dietil succinato  
E10 - Acetato de etila  
IC – Índice de cor  
IPT – Índice de Polifenóis Totais  
LS – Leveduras selvagens  
MALV - Malvidina  
MCRIO – Mycoferm crio sp  
MPDM – Maurivin pdm  
PEL – Perlargonidina  
PEON - Peonidina  
PH – pH  
PROA2 - Procianidina A2  
PROB1 - Procianidina B1  
PROB2 - Procianidina B2  
QUERC - Quercetina  
RESV – Resveratrol  
RUTI - Rutina  
SLV - Dióxido de enxofre livre  
STT - Dióxido de enxofre total  
TT – Taninos totais  
TON – Tonalidade

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>17</b>
1.1	OBJETIVOS	20
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral</b>	<b>20</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>20</b>
2.1	HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE UVA E VINHO NO VALE DO SÃO FRANCISCO	20
2.2	LEVEDURAS ENOLÓGICAS	21
<b>2.2.1</b>	<b>Leveduras selvagens</b>	<b>23</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Leveduras selecionadas</b>	<b>24</b>
2.2.2.1	Leveduras do gênero <i>Saccharomyces</i>	25
<b>2.2.3</b>	<b>Metabolismo das leveduras</b>	<b>26</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Critérios para seleção de leveduras</b>	<b>28</b>
2.2.4.1	Poder fermentativo das leveduras	29
2.2.4.2	Baixa produção de ácidos voláteis pelas leveduras	29
2.2.4.3	Cinética da fermentação alcoólica	30
<b>2.2.5</b>	<b>Necessidades nutricionais das leveduras</b>	<b>31</b>
<b>2.2.6</b>	<b>Fatores Ambientais</b>	<b>32</b>
2.2.6.1	Temperatura	32
2.2.6.2	pH	32
2.2.6.3	Resistência ao dióxido de enxofre	33
2.2.6.4	Etanol	33
2.2.6.5	Fator <i>Killer</i>	34
2.3	ELABORAÇÃO DOS VINHOS	34
<b>2.3.1</b>	<b>Fermentação alcoólica</b>	<b>35</b>
2.3.1.1	Fermentação alcoólica espontânea	35
2.3.1.2	Fermentação alcoólica não espontânea	36
2.3.1.3	Bioquímica da fermentação alcoólica	38
2.3.1.4	Produtos finais do metabolismo das leveduras	39
2.4	FERMENTAÇÃO MALOLÁTICA	40
2.5	COMPOSTOS VOLÁTEIS E AROMÁTICOS DO VINHO	41
<b>2.5.1</b>	<b>Ésteres e seus ácidos</b>	<b>43</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Alcoóis superiores</b>	<b>44</b>
2.6	COMPOSTOS FENÓLICOS DO VINHO	44
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>47</b>
3.1	DESCRIÇÃO DO VINHEDO	47
3.2	COLHEITA E ELABORAÇÃO DOS VINHOS	48
<b>3.2.1</b>	<b>Leveduras</b>	<b>49</b>

3.2.1.1	Maurivin AWRI 350®	50
3.2.1.2	Maurivin AWRI 796®	50
3.2.1.3	Mycoferm CRIO SP®	51
3.2.1.4	Maurivin PDM®	51
<b>3.2.2</b>	<b>Microvinificações</b>	<b>51</b>
3.3	MÉTODOS	53
<b>3.3.1</b>	<b>Curva da fermentação alcoólica</b>	<b>53</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Análises clássicas</b>	<b>53</b>
3.3.2.1	Densidade	53
3.3.2.2	pH	53
3.3.2.3	Teor alcoólico	53
3.3.2.4	Acidez total	53
3.3.2.5	Dióxido de enxofre livre e total	54
3.3.2.6	Acidez volátil	54
3.3.2.7	Extrato seco	55
3.3.2.8	Antocianinas totais	55
3.3.2.9	Taninos Totais	56
3.3.2.10	Índice de Polifenóis Totais	56
3.3.2.11	Intensidade de cor	56
3.3.2.12	Tonalidade	56
<b>3.3.3</b>	<b>Análises cromatográficas</b>	<b>56</b>
3.3.3.1	Ésteres, ácidos graxos voláteis e 2-feniletanol	57
3.3.3.2	Álcoois e acetato de etila	57
3.3.3.3	Cálculo das concentrações	57
3.3.3.4	Compostos fenólicos	58
<b>3.3.4</b>	<b>Análise estatística</b>	<b>58</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>59</b>
4.1	CURVA DA FERMENTAÇÃO ÁLCOÓLICA	59
4.2	ANÁLISES CLÁSSICAS	60
4.3	COMPOSTOS VOLÁTEIS	65
<b>4.3.1</b>	<b>Ésteres</b>	<b>65</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Ácidos graxos</b>	<b>69</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Álcoois superiores</b>	<b>72</b>
4.4	COMPOSIÇÃO FENÓLICA	77
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>83</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>84</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A região do Vale do São Francisco está situada no trópico semiárido brasileiro, em latitude 9°S, longitude 40°W e altitude ao redor de 350 m. Apresenta indicadores climáticos médios de 500 mm de precipitação, concentrada entre dezembro e março, temperatura de 26°C e 50% de umidade relativa do ar. É a principal região vitivinícola tropical brasileira, com cerca de 10.500 hectares de vinhedos, distribuídos nos Estados de Pernambuco e Bahia. Atualmente estima-se a existência de uma área de 500 hectares de parreirais que dão origem a aproximadamente, 7 milhões de litros de vinho/ano, sendo 80% vinho tinto e 20% branco. Estudos avançados voltados ao zoneamento vitivinícola da região indicam o potencial de cultivares adaptadas às condições locais e aptas a contribuir para a tipicidade dos produtos vitivinícolas regional (IBRAVIN, 2013). O Quadro 1 apresenta dados da área plantada de videiras no Brasil.

Quadro 1 - Área plantada de videiras no Brasil, em hectares.

Estado/Ano	2008	2009	2010	2011
Pernambuco	7.083	7.104	8.801	6.963
Bahia	4.376	3.724	3.273	2.762
Minas Gerais	911	854	853	785
São Paulo	10.717	9.750	9.750	9.750
Paraná	5.800	5.800	5.800	6.000
Santa Catarina	4.836	4.937	5.052	5.009
Rio Grande do Sul	49.819	50.415	50.389	50.646

Fonte: IBGE, 2012.

Com uma boa adaptação das principais cultivares de uvas utilizadas na elaboração dos melhores vinhos das principais regiões viníferas do mundo, essa região vem especializando-se em vinhos finos, entre os quais se destacam: Syrah Tempranillo, Cabernet Sauvignon, Chenin Blanc, Moscato Canelli, além de uma variedade de espumantes, entre eles os moscatéis. Para a produção de vinhos de qualidade, é necessário, além da escolha de práticas enológicas adequadas, utilizar uvas maduras e sãs, como também empregar linhagens de leveduras adequadas. Com isso, os microrganismos exercem um papel importante na obtenção de um produto de qualidade, uma vez que são eles os principais agentes de transformação do mosto em vinho.

O processo de fermentação é a etapa essencial da transformação da uva e do mosto em vinho. Nesta etapa ocorrem duas transformações biológicas: as fermentações, alcoólica e malolática. Na primeira, comum a todos os vinhos, ocorre a transformação dos açúcares em álcool e produtos secundários pela levedura enquanto que a segunda se caracteriza pela degradação do ácido málico em láctico, reduzindo a acidez do vinho, aumentando a estabilidade e complexidade dos aromas.

Nos estudos sobre vinhos, Pasteur escreveu em 1876: “A qualidade do vinho depende, em grande parte, da natureza específica das leveduras que se desenvolvem durante a fermentação dos mostos. Podemos pensar que se submetemos um mesmo mosto a ação de leveduras distintas obteríamos vinhos de natureza distinta” (LEPE & LEAL, 2004).

A uva é a matéria-prima da elaboração de vinho e fonte primária de leveduras responsáveis pela fermentação alcoólica. A qualidade da uva é determinada, sobretudo pelo clima. As propriedades fisiológicas da videira, como plantas do clima temperado, e interação destas com as condições climáticas da região resultam em uma situação especial que confere qualidade às uvas de vinificação na região do Vale do São Francisco (SOARES & LEÃO, 2009).

O emprego de leveduras selecionadas, com características próprias para a produção de diferentes tipos de vinho ou espumante, oferece uma série de vantagens, tais como: fermentação completa e regular, maior produção em álcool, produção controlada de acidez volátil, possibilidade de uma clarificação mais rápida do vinho e melhoria da sua estabilidade biológica. Com leveduras selecionadas torna-se possível a obtenção, de ano para ano, de produtos mais uniformes, sendo as pequenas variações devidas à oscilação qualitativa do mosto conforme as condições climáticas que caracterizam os diversos anos (SILVA & SILVA, 1987).

Adicionalmente, ao aroma proveniente das uvas, a fração volátil dos vinhos é bastante complexa, devido principalmente à fermentação, que envolve uma série de reações bioquímicas que originam diversos compostos com potencial odorífero, e também ao envelhecimento. Já foram identificados mais de 800 voláteis em vinhos, cujas concentrações vão desde nanogramas a miligramas por litro. Ainda assim, a concentração destes compostos deve estar acima do limite de detecção para que eles sejam capazes de promover impacto sobre o aroma do vinho. Podem também ocorrer efeitos sinérgicos e

antagônicos entre as estruturas dos voláteis aumentando seu potencial odorífero na bebida (BAYONOVE, 2000).

Segundo Girard (2004), a maior parte dos compostos aromáticos provém da película da uva e é através da maceração que é difundida no vinho onde são protegidos pela presença do álcool. A maceração é a etapa fundamental para a qualidade aromática dos vinhos elaborados. Da mesma forma, a levedura e bactérias lácticas também são responsáveis pela formação de múltiplos compostos aromáticos procedentes de seu metabolismo ou da degradação de suas células.

As diferenças entre os tipos e estilos de vinhos se devem, em grande parte, a concentração e composição dos polifenóis. Desde os vinhedos até sua elaboração e envelhecimento é necessário o controle da composição fenólica para garantir a qualidade do produto final. Os fenóis são responsáveis pela cor dos vinhos tintos, por sua estrutura, adstringência e amargor, e contribuem para o perfil aromático. O conteúdo relativo de compostos fenólicos varia de acordo com a cultivar podendo ocorrer diferenças devido a diversos fatores edafoclimáticos, como as diferenças de temperatura, de irrigação, de intensidade de luz, composição do solo, entre outros (AMERINE, et al., 1987; CANTOS, et al., 2002). Assim como os compostos aromáticos, Kovac et. al. (1992) afirmam que o longo contato com a casca durante a vinificação, a temperatura, a presença das sementes e, às vezes, do engaço e de enzimas, são fatores que tem grande influência na extração dos fenólicos durante a fermentação do mosto.

A fermentação espontânea do vinho é um processo complexo que dá origem a diferentes compostos que definem a qualidade do produto. O processo de fermentação pode ser conduzido por leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces*, sendo que o papel de diferentes linhagens de não-*Saccharomyces* na fermentação tem sido estudado (FLEET, 2003).

A uma busca constante por produtos de qualidade, tipicidade, e uma identidade regional é um desafio tecnológico para o setor vitivinícola mundial, em um mercado globalizado, com alta exigência dos consumidores e a preocupação com a sustentabilidade ambiental (FLEET, 2008).

Sabendo-se que os compostos aromáticos e polifenólicos de um vinho podem ter sua origem ligada à uva e aos processos tecnológicos utilizados em sua elaboração e, considerando os poucos estudos e a grande representatividade da região do Vale do São Francisco na produção de vinhos no Brasil, este estudo propõe uma avaliação da atividade das leveduras na formação dos aromas e polifenóis dos vinhos,

contribuindo para o conhecimento e caracterização da produção vitivinícola da região.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da cepa de levedura na composição fenólica e aromática de vinhos da cv. Syrah no Vale do Submédio São Francisco.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Determinar a composição aromática do vinho a partir da cepa de levedura utilizada;

Determinar a composição fenólica do vinho a partir da cepa de levedura utilizada;

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE UVA E VINHO NO VALE DO SÃO FRANCISCO

A vitivinicultura é uma atividade econômica difundida por vários países, sendo que os mais importantes estão localizados em regiões de clima temperado. A videira adaptou-se pouco a pouco a diversas regiões do globo terrestre e sua difusão ocorreu em duas principais direções: uma américo-asiática e outra euro-asiática, originando, respectivamente, as cultivares de uvas chamadas americanas e as cultivares chamadas de européias ou *Vitis vinifera* SOUZA (1996).

Em 1535, a videira foi introduzida nos estados de Pernambuco e Bahia por meio de uma expedição de Duarte Coelho, sendo inicialmente cultivada na ilha de Itamaracá. A interiorização da cultura ocorreu apenas no final do século XIX, quando se estabeleceram as primeiras unidades de produção, ainda voltada para o consumo doméstico. Em 1950 surgiram os primeiros empreendimentos, mas somente na década de 1980, a viticultura comercial foi consolidada no Vale do Submédio do São Francisco, estimulada pelos projetos de irrigação e necessidades de diversificação da agricultura (ALBUQUERQUE, 1987).

O Brasil vem aumentando consideravelmente a produção de vinhos finos, destacando-se duas regiões vitivinícolas bastante distintas, uma localizada na região Sul denominada Vale dos Vinhedos e a outra

no Nordeste, situando-se no Submédio do Vale do São Francisco, que abrange os estados de Pernambuco e Bahia. A região do Submédio do Vale do São Francisco já detém mais de 15% da produção nacional de vinhos, ainda que seja uma região de clima tropical semiárido, com características edafoclimáticas distintas a de todas as demais tradicionais regiões vitivinícolas, mas que possibilitam o escalonamento da produção de uvas para vinhos em qualquer momento do ano, devido a ausência do inverno e a constante disponibilidade de radiação solar. Essas características agrônômicas peculiares também influenciam de forma significativa na composição das uvas, principalmente na formação dos precursores de aromas, favorecendo a obtenção de vinhos tropicais com tipicidade distinta à dos vinhos das tradicionais regiões produtoras (TONIETTO & PEREIRA, 2012).

O Submédio do Vale do São Francisco está localizado entre os paralelos 8 e 9°S, cujo clima, segundo classificação Köppen, é caracterizado como tropical semiárido, com temperatura média anual em torno dos 26°C, pluviosidade de aproximadamente 500 mm e altitude de 330 m em relação ao nível do mar (TEIXEIRA & AZEVEDO, 2006).

O período chuvoso concentra-se entre os meses de novembro e abril, com 90% do total anual. A quadra chuvosa, de janeiro a abril, contribui com 70% do total anual. Os meses mais quentes são outubro e novembro e os mais frios junho e julho. As características edafoclimáticas da região e as técnicas de irrigação permitem o escalonamento da produção e a possibilidade de escolha da época de colheita, podendo se obter de 2 a 3 safras anuais (TEIXEIRA, 2010; PEREIRA *et. al.*, 2009).

## 2.2 LEVEDURAS ENOLÓGICAS

A levedura é um fungo unicelular que contém um núcleo (organismo eucariota) e que pode pertencer a duas classes: os ascomicetos e os deuteromicetos. Têm-se identificado dezenas de gêneros de leveduras e centenas de espécies, de formas e dimensões muito variadas (1 a 50µm) (GIRARD, 2004).

Quanto à composição química, as leveduras são constituídas aproximadamente de 68 a 83% de água, substâncias nitrogenadas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais. A parede celular das leveduras é geralmente composta por 80 a 90% de polissacarídeos com proteínas, lipídios, polifosfatos e íons inorgânicos (MADIGAN, *et al.*, 2004).

As leveduras são os agentes da fermentação alcoólica. Existe um grande número de espécies de leveduras que se diferenciam por seu aspecto, suas propriedades, sua forma de reprodução e também pela maneira de transformar o açúcar (HASHIZUME, 2001).

É importante identificar os gêneros e espécies de leveduras relacionadas com o vinho para compará-los entre si, ver sua contribuição a um vinho ou a uma vinícola e avaliar as diferentes leveduras para inoculação (BOULTON, *et. al.*, 2002).

Leveduras enológicas são aquelas que se encontram nas uvas ou nos vinhedos ou ainda na vinícola e seus equipamentos. As leveduras responsáveis pela fermentação alcoólica originam-se de três fontes: da superfície da uva; da superfície dos equipamentos vinários; e da inoculação de leveduras selecionadas (BOULTON, *et. al.*, 2002; FLEET & HEARD, 1994).

Ao longo dos anos, as leveduras têm sido objeto de pesquisa e seleção, em função de critérios que melhorem a qualidade do vinho ou, em alguns casos, que controlem as tecnologias para conseguir produtos com tipicidade regional, com pouca variabilidade entre safras. Neste sentido, a pesquisa e posterior seleção das leveduras procuram identificar cepas de alto rendimento em etanol, com boa cinética fermentativa, resistentes ao dióxido de enxofre, não produtoras de acidez volátil, entre outras características de interesse tecnológico (LEPE & LEAL, 2004).

Nos últimos anos, o uso de leveduras selecionadas tem sido contínuo e com uma tendência otimista, possivelmente devido à facilidade de conservação e emprego das leveduras secas ativas. No entanto, especialmente, as adegas tradicionais continuam a usar fermentação alcoólica espontânea porque acreditam que proporciona maior complexidade aos seus vinhos (ZAMORA, 2009).

Em mostos e vinhos encontram-se uma grande quantidade de leveduras: *Candida*, *Kluveromyces*, *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Torulaspora*, etc. No entanto, o gênero mais aproveitado na enologia é o *Saccharomyces*. No mosto e no vinho, esta levedura se multiplica por germinação (multiplicação assexuada) e também se reproduzem de forma sexuada, são as condições do meio que determinam a forma de reprodução (GIRARD, 2004).

Uma boa cepa de levedura vínica para a elaboração de vinho de mesa deve: conduzir uma fermentação vigorosa e completá-la até conseguir um vinho seco, que consigam características reprodutíveis na fermentação, que tenham boa tolerância ao etanol, boa tolerância à variação de temperatura, que não produzam aromas e sabores estranhos,

seja tolerante ao dióxido de enxofre, e que flocule de maneira que seja fácil trasfegar (BOULTON, et. al., 2002).

Apesar de muitos microrganismos (leveduras, bactérias e fungos filamentosos) contribuírem para a produção e composição do vinho, as leveduras têm a principal influência por serem elas as condutoras da fermentação alcoólica (FLEET, 1993). Os microrganismos afetam a qualidade da uva antes da safra e durante a fermentação, eles metabolizam os açúcares e os outros componentes em etanol, dióxido de carbono e centenas de produtos secundários que coletivamente contribuem para a sutileza e individualidade das características do vinho (FLEET, 2003).

### **2.2.1 Leveduras Selvagens**

Considera-se leveduras selvagens ou espontâneas, as leveduras fermentativas que estão presentes nas uvas e participam, caso não sejam impedidas, da fermentação alcoólica pelo menos no início. Entre elas, *Kloeckera*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, *Hansenula* e *Metschnikowia* (BOULTON, et. al., 2002).

A microbiota da uva depende de muitos fatores, tais como a pluviosidade, a umidade relativa, regime de irrigação adotado no vinhedo, a altitude, as pragas, a fertilização nitrogenada e de como tratam os resíduos da vinícola (BOULTON, et. al., 2002).

A seleção de leveduras autóctones é uma prática que está em crescimento, o que pode promover as características regionais de vinhos, a fim de superar a aparente problema de vinhos homogêneos ou industriais. O enfoque dessa seleção é a escolha de leveduras que apresentem, em seus vinhos, compostos aromáticos que tenham caráter varietal e caracterizem determinada região. Essas cepas, portanto, expressam os compostos precursores aromáticos, proporcionando ao consumidor uma escolha mais ampla de vinho sabores e estilos (UGLIANO et al., 2009).

Por outro lado, para Lopes et. al. (2002), a prática de fermentações espontâneas mostra diferenças tanto qualitativas quanto quantitativas em diferentes vindimas. As causas desta variabilidade podem estar associadas às diferenças do ecossistema como composição do solo, condições climáticas e variedade das uvas, entre outros. Isso pode ocorrer entre diferentes regiões, mas também dentro da mesma região em diferentes vindimas, prejudicando a qualidade e reprodutibilidade na obtenção do vinho.

## 2.2.2 Leveduras Seleccionadas

Pode-se definir como selecionada a levedura que sofreu um processo de seleção de características, que irão promover um produto final desejável. Mediante o emprego de leveduras selecionadas, é possível evitar certos inconvenientes como fermentação lenta, devido à presença de resíduos de agrotóxicos e sulfitação, escassa presença de leveduras na fermentação, formação excessiva de ácidos voláteis, e formação de espuma alta e persistente, desenvolvimento de microrganismos não desejáveis, que influenciam diretamente na qualidade do vinho (ZAMBONELLI, 1998).

No caso de fermentações de vinho conduzidas por leveduras secas ativas, a principal responsável pela fermentação é a inoculada no processo, mas isto não diminui significativamente o desenvolvimento de leveduras selvagens durante os primeiros estágios da fermentação, as quais têm um importante efeito no sabor do vinho (GONZÁLEZ-PÉREZ, et. al., 1993).

As leveduras selecionadas são utilizadas com excelentes resultados em muitos países, onde os produtos finais obtidos são de qualidade mais uniforme que os produzidos por fermentações espontâneas. Portanto, a seleção da levedura adequada para cada tipo de fermentação é uma estratégia importante para garantir uma fermentação completa, assim como para melhorar as características finais do vinho. Ainda que seja evidente que a qualidade do vinho esteja associada à variedade e qualidade da uva, as leveduras podem produzir compostos que proporcionem um toque de distinção ao produto final obtido (DEQUIN, 2001).

As leveduras secas ativas representam o modo mais fácil e operacional de utilização de leveduras vínicas selecionadas, especialmente para grandes indústrias. Permitem dispor de grande quantidade de inóculo sem preparação prévia à vindima, como no caso do pé-de-cuba tradicional. As leveduras secas ativas podem ser inoculadas em qualquer quantidade de mosto, através de um processo de reidratação que dura cerca de 30 a 40 minutos (LEPE, 1997).

A adição de leveduras selecionadas secas ativas assegura um início rápido da fermentação, uniformidade nas características aromáticas, completa utilização dos açúcares fermentáveis e menor formação de ácido acético e acetaldeído, além de reduzir o tempo de fermentação (DORNELES, 2003).

### 2.2.2.1 Leveduras do gênero *Saccharomyces*

As leveduras se distinguem em duas grandes famílias, aquelas que respiram exclusivamente e exigem oxigênio para sobreviver (aeróbias restritas) e aquelas que respiram ou fermentam e toleram a ausência de oxigênio (aeróbias facultativas). As *Saccharomyces* são aeróbias facultativas e tem a fermentação como seu metabolismo. Em função das condições do meio, as *Saccharomyces* mudam de metabolismo (GIRARD, 2004).

Existem muitos fatores fisiológicos que permitem o predomínio de *Saccharomyces* na fermentação do mosto de uva. A aparição de um produto tóxico é uma estratégia para assegurar o predomínio de um meio fermentativo. A tolerância a altas concentrações de etanol é uma característica da *Saccharomyces* que permite seu domínio na fermentação do mosto (BOULTON et. al., 2002).

A fermentação do mosto da uva é tipicamente anaeróbica. O oxigênio molecular disponível no mosto processado é rapidamente consumido pelos microrganismos presentes. A inoculação da levedurado gênero *Saccharomyces*, permite que a mesma tenha domínio, com maior rapidez, da fermentação alcoólica em relação aos outros microrganismos presentes (HENSCHKE & JIRANEK, 1994).

Muitos estudos foram realizados sobre as leveduras vínicas desde que Pasteur, em 1866, demonstrou que elas eram responsáveis pela transformação dos açúcares do mosto em etanol. A partir de então, ficou claro que as fermentações alcoólicas realizadas espontaneamente não são devidas à ação de uma única levedura e sim que se trata do resultado da ação combinada de diferentes espécies de leveduras que crescem em diversas proporções ao longo de uma fermentação. De toda forma, dentro das espécies de leveduras que podem ser encontradas em uma fermentação alcoólica, percebeu-se que a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é a mais apta a consumir todos os açúcares fermentescíveis e, portanto, assegurar o processo (CATALUÑA, 1984; JOSHI & PANDEY, 1999).

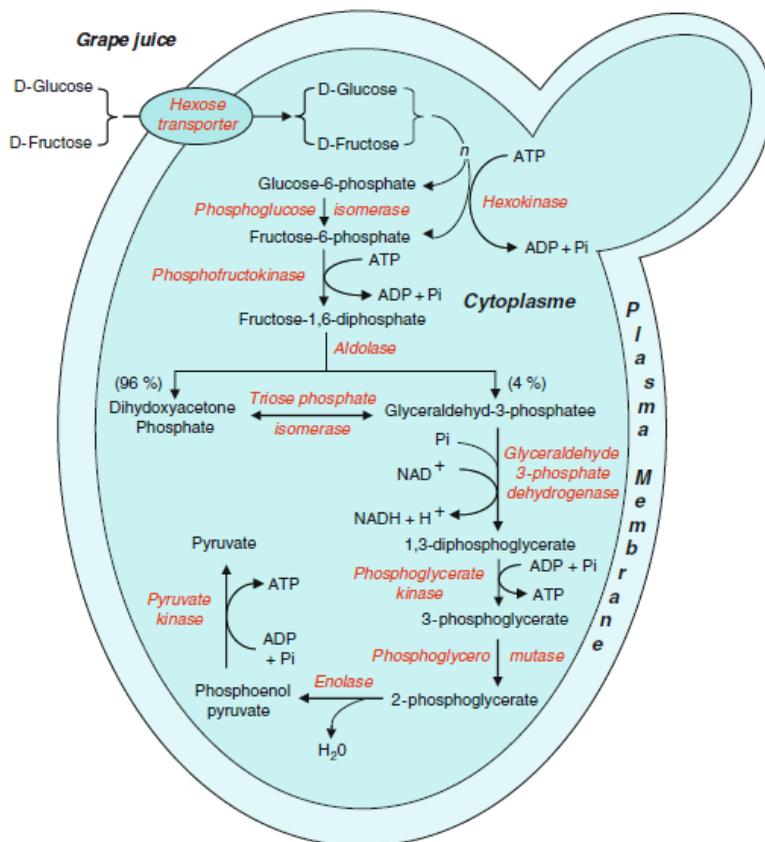
A levedura do gênero *Saccharomyces*, é de grande interesse para a indústria de fermentação devido a uma combinação de várias propriedades como o crescimento rápido, eficiente utilização da glucose, capacidade de produzir e consumir etanol e por apresentar tolerância a estresses ambientais como elevadas concentrações de etanol e baixos níveis de oxigênio (PISKUR et. al., 2006).

### 2.2.3 Metabolismo das leveduras

A composição química da levedura é muito variável, dependendo da espécie e do meio em que se encontra. Em geral é composta de 75% de água e 25% de matéria seca. Dentro disso tem-se aproximadamente 25 a 40% de glucídios, 2 a 5% de protídeos, 2 a 5% de lipídios e 3 a 10% de substâncias minerais. As substâncias minerais compreendem, sobretudo, o ácido fosfórico (de 50 a 60%) e o potássio (de 30 a 40%). Devido a sua composição, a levedura necessita de água, glucídios, protídeos, e substâncias minerais, que normalmente são encontrados no mosto da uva (NAVARRE, 1991).

A glicólise é a via central do catabolismo da glicose de forma quase universal, não apenas em animais e vegetais, mas também na maioria dos microrganismos. A sequência de reações da glicólise difere de uma espécie para outra apenas na forma em que sua velocidade é regulada e no destino metabólico do piruvato formado (LEHNINGER, 1995). A Figura 1 ilustra essas reações.

Figura 1 - Mecanismo bioquímico da glicólise.



Fonte: ZAMORA (2009).

Existem três vias importantes que podem ser empreendidas pelo piruvato formado na glicólise. Nos organismos aeróbios a glicólise é apenas o primeiro estágio da degradação aeróbia completa da glicose a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. A segunda via possível ao piruvato é a sua redução a lactato e a terceira via é a formação de etanol. Em alguns microrganismos, como a levedura, o piruvato formado da glicose pela via glicolítica é convertido anaerobicamente em etanol e CO<sub>2</sub>, um processo chamado fermentação alcoólica. Fermentação é um termo geral que significa degradação anaeróbia da glicose ou de outros substratos orgânicos em produtos variados, com o propósito de obtenção de energia na forma de ATP (LEHNINGER, 1995).

## 2.2.4 Critérios para seleção de leveduras

Sabe-se que na película das uvas vivem várias espécies de leveduras naturalmente, da mesma forma que uma infinidade de microrganismos vive em outras plantas, animais, no ar e no solo. As leveduras não têm a finalidade expressa de produzir um tipo particular de vinho, apenas uma minoria trabalha conforme seu metabolismo. Numerosos estudos avaliam a existência de uma flora especificamente associada ao “terroir”. As cepas de leveduras que mais proliferam durante a fermentação podem proceder da videira ou ser resultado de uma contaminação pelo equipamento de vinificação. Em todos os casos, estas terão que competir com outros microrganismos cuja presença também é aleatória e os melhores adaptados ao meio permanecerão. No entanto, as cepas de leveduras que se multiplicam com maior facilidade não são necessariamente as que produzem o melhor vinho. Por isso, convém eleger tanto as cepas idôneas para o mosto que se quer fermentar como dotadas de propriedades enológicas que sejam de interesse. Esse é o principal objetivo dos trabalhos de seleção de cepas de leveduras (VALADE, 2005).

Para a seleção de leveduras é essencial estabelecer suas propriedades enológicas. Existem diferentes critérios de seleção que podem ser divididos em favoráveis, como tolerância ao etanol, bom rendimento na transformação dos açúcares em etanol, capacidade de crescer em altas concentrações de açúcares, e desfavoráveis, como a produção de sulfeto de hidrogênio, produção de espuma e acidez volátil (ESTEVE-ZARZOZO, *et al.*, 2000).

Tradicionalmente, têm-se selecionado preferencialmente as leveduras vínicas entre as leveduras naturais da microbiota da uva, devido à relação existente entre o vinhedo e a levedura, nas regiões regiões vitícolas, que, definitivamente, são as razões de base ecológica proposta por Íñigo (1964), ao sanar a necessidade de selecionar cepas autóctonas das próprias regiões aonde vão se empregar na vinificação, e indicando o conceito de “levedura local selecionada” (LEPE & LEAL, 2004).

A necessidade de determinação do desempenho industrial de uma levedura se justifica pela ocorrência de cepas que apresentam diferenças significativas de desempenho fermentativo, mesmo apresentando padrões cromossômicos iguais. A determinação do desempenho fermentativo, além de avaliar a performance industrial de uma cepa de levedura, pode proporcionar a diferenciação final entre cepas *S. cerevisiae* de mesmo cariótipo (ANDRIETTA *et al.*, 2008)

Os principais aspectos observados para essa seleção são expostos a seguir:

#### 2.2.4.1 Poder fermentativo das leveduras

As leveduras possuem maquinário genético para metabolizar açúcares por dois processos diferentes de obtenção de energia, aerobicamente (respiração) ou anaerobicamente (fermentação) (BOULTON *et al.*, 1996) sendo que a principal via de metabolização do açúcar em condições de anaerobiose é a via glicolítica (HORECKER, 2002).

Um poder fermentativo elevado tende a deixar os vinhos com teores mínimos de açúcares residuais, ou seja, totalmente secos, com baixa acidez volátil, e uma correta cinética fermentativa, marcam inicialmente os três primeiros critérios para seleção de leveduras para a elaboração de qualquer vinho (LEPE & LEAL, 2004).

A quantidade de etanol produzido por unidade de açúcar durante a fermentação do mosto em vinho tem uma grande importância industrial. A conversão teórica de 180 gramas de açúcar em 88 gramas de CO<sub>2</sub> e 92 gramas de etanol (ou 51% em peso), poderia se conseguir na ausência de todo crescimento da levedura e de nenhuma perda de etanol por evaporação (Boulton *et al.*, 2002). Porém, sabe-se que, na prática, o rendimento em álcool não acontece dessa forma. Ainda, segundo Boulton *et al.* (2002), os experimentos originais de Pasteur indicaram que havia um rendimento de etanol em 48,5%, 46,7% de dióxido de carbono e 4,8% de glicerina, succinato e outros produtos, incluindo a biomassa da levedura.

O poder alcoolgênico representa uma ampla variabilidade, entre as diferentes espécies de leveduras vínicas, e, em alguns casos, entre as diferentes cepas de uma mesma espécie. Por seu poder fermentativo, os gêneros em destaque são: *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces* e *Schizosaccharomyces*, sendo que as espécies do primeiro, *S. cerevisiae* e *S. cerevisiae bayanus*, as que têm destaque especial na seleção clonal. Normalmente, as cepas mais alcoolgênicas procedem de uvas de zonas mais quentes, onde se alcança uma perfeita maturação dos frutos (LEPE, 1997).

#### 2.2.4.2 Baixa produção de ácidos voláteis

A maior parte dos ácidos voláteis se forma nos primeiros estágios da fermentação, por descarboxilação oxidativa do ácido pirúvico, ou de

forma simultânea a biossíntese do ácido fórmico, variando a sua concentração conforme o pH do mosto, potencial de oxirredução e genótipo celular (LEPE & LEAL, 2004).

Os ácidos voláteis de cadeia curta de carbono representam a acidez volátil do vinho. O ácido acético normalmente constitui 90% destes ácidos e os demais são representados pelo propiônico e hexanóico, resultantes do metabolismo dos ácidos graxos presentes no mosto pela ação de bactérias e leveduras (RADLER, 1993).

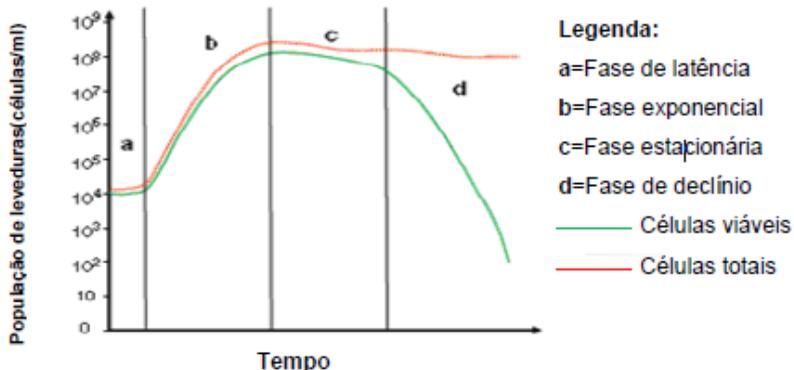
É normal que todo vinho apresente acidez volátil porque o ácido acético é um produto secundário normal da fermentação alcoólica. A quantidade produzida numa fermentação de mosto saudável é sempre pequena, de  $0,18 \text{ g.L}^{-1}$  a  $0,36 \text{ g.L}^{-1}$  expresso em ácido acético. Seu teor depende muito de espécie de levedura, de sua associação, mas também da composição do mosto (acidez, teor em açúcares e substâncias nitrogenadas) e das condições de fermentação (temperatura, aeração). Além disso, quando ocorre também a fermentação malolática, esta também sempre forma um pouco de acidez volátil, variando de  $0,12$  a  $0,24 \text{ g.L}^{-1}$  (HASHIZUME, 2001).

#### 2.2.4.3 Cinética da fermentação alcoólica

A composição do mosto de uva, a exemplo do teor de dióxido de enxofre, nitrogênio e teor de sólidos totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ), assim como a acidez, temperatura, tipos de leveduras e pH durante o processo fermentativo afetam a cinética da fermentação alcoólica (JACKSON, 2008).

No que diz respeito a uma correta cinética fermentativa, seu estudo estabelece basicamente a determinação da fase de latência a uma dada temperatura, regularidade fermentativa, duração total do processo, curva termodinâmica de cada cepa e resposta ao estresse fermentativo. O crescimento da população de leveduras em mosto de uva fermentado segue padrão típico de cultivo em laboratório, sendo caracterizado pelas fases de adaptação (latência ou *lag*), exponencial (*log*), estacionária e de declínio celular. A Figura 2 representa o ciclo de crescimento das leveduras em condições padrão, durante a fermentação do mosto de uva. A fase inicial do ciclo de crescimento, fase de adaptação (letra a), representa o período em que as células de leveduras inoculadas no mosto se ajustam a um novo ambiente, em particular essas células estão respondendo às mudanças da pressão osmótica, apresentadas pelos altos níveis de açúcares do mosto, não ocorrendo aumento populacional. Discreto aumento da população pode ser observado no final da fase de latência (DEL NOBILE *et al.*, 2003).

Figura 2 - Ciclo de crescimentos das leveduras.



Fonte: DEL NOBILE et al.(2003).

### 2.2.5 Necessidades nutricionais da levedura

Segundo Amorim e Leão (2005), as células de leveduras, durante o processo de fermentação alcoólica, apresentam necessidades nutricionais e os nutrientes influenciam diretamente a multiplicação, o crescimento celular e também, a eficiência da transformação do açúcar em álcool.

As leveduras utilizam fonte de carbono reduzido (mono e dissacarídeos), nitrogênio, mineral e vitaminas (biotina, ácido pantotênico e tiamina) para o seu desenvolvimento. Os sais de amônio são prontamente utilizados assim como os compostos de nitrogênio orgânicos (aminoácidos e úreia) (BAMFORTH, 2005).

O mosto da uva é essencialmente rico em constituintes nitrogenados (0,1 a 1,0 g.L<sup>-1</sup> de nitrogênio solúvel). O teor de nitrogênio da uva depende da variedade e do porta-enxerto, do meio e das condições de cultivo, e em particular da fertilização nitrogenada que diminui em caso de sobrematuração (RIBEREAU GAYON et al., 2003).

As leveduras do mosto utilizam o nitrogênio, unicamente na forma de cátion amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), úreia, aminoácidos e peptídeos. A úreia não existe no mosto e sua adição não é permitida. Já os compostos nitrogenados podem ser adicionados. A riqueza inicial do mosto em cátion amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) é um dos elementos mais importantes para o bom andamento da fermentação. Em quantidades abaixo de 25 mg.L<sup>-1</sup>, o arranque da fermentação é pouco provável. Uma adição de nitrogênio é necessária quando o teor de nitrogênio prontamente assimilável pelas

leveduras é inferior a  $130 \text{ mg.L}^{-1}$ , e não é necessária a partir de  $300 \text{ mg.L}^{-1}$  (DELFINI, 1995).

## **2.2.6 Fatores ambientais**

### 2.2.6.1 Temperatura

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes que influenciam no crescimento e sobrevivência dos organismos. Temperaturas muito baixas dificultam o crescimento, pois desaceleram os processos vitais da célula, porém temperaturas elevadas também são um problema, pois provocam a desnaturação térmica das proteínas, em especial das enzimas (PATO, 1998).

Além disso, pode afetar tanto a cinética do processo quanto a qualidade final do vinho. Na vinificação a temperatura da fermentação varia de  $12^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . Essa faixa de temperatura é altamente dependente do tipo de vinho que é produzido como também das preferências culturais e regionais. Para o vinho tinto a temperatura de fermentação varia de  $20$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , para vinhos brancos a temperatura normalmente é mais baixa, variando de  $15$  a  $20^{\circ}\text{C}$  (JACKSON, 2008; HARSCH, 2009).

Para a maioria das leveduras a temperatura ótima para a fermentação de vinho é de  $25^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , embora existam leveduras que atuam a baixas temperaturas, ao redor de  $10^{\circ}\text{C}$ . Quando não se dispõe de sistema de refrigeração, o uso da remontagem com arejamento do mosto é uma excelente forma de diminuir as elevadas temperaturas ocasionadas pelo processo de fermentação (RIZZON et al., 1996).

### 2.2.6.2 pH

Segundo Lima et al. (2010), o pH do meio onde crescem os microrganismos é um importante fator que influi tanto no crescimento quanto nos processos enzimáticos, dada a dependência existente entre a atividade enzimática e o pH.

O conhecimento do pH é de suma importância, visto que através de seus valores pode-se avaliar a resistência do vinho às enfermidades. Vinhos com pH superior a 3,5 não apresentam-se em condições de conservação por permitirem a evolução de uma microbiota prejudicial (DORNELES, 2003). Cada microrganismo possui um pH mínimo e máximo de crescimento. Em geral, as leveduras toleram valores de pH

mais baixos do que as bactérias.

O pH influencia diretamente no processo de fermentação do mosto de uva, este deve permanecer abaixo de 3,8 para manter a uniformidade do processo e reduzir a probabilidade de iniciar a fermentação malolática, favorecendo as propriedades sensoriais do vinho. O pH elevado durante o processo fermentativo torna a capacidade do dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) menos inibitória para as leveduras selvagens. O pH pode ser reduzido a 3,25–3,35 pela adição de ácido tartárico (BAMFORTH, 2005).

O pH pode alterar as cargas dos grupos químicos localizados ao lado das cadeias de proteínas provocando uma modificação da rede de cargas de toda a estrutura da macromolécula, de forma que a enzima tenha sua capacidade catalítica reduzida ou mesmo perdida. Desta forma, alterando-se o pH, a ação de algumas enzimas é favorecida, enquanto que a ação de outras é reprimida (SOUZA et al., 2000; LIMA et al. 2001).

#### 2.2.6.3 Resistência ao Dióxido de Enxofre

O anidrido sulfuroso é um composto tradicionalmente e largamente utilizado em enologia, pelas suas ações antioxidante e estabilizante e também por sua atividade antisséptica, que inibe o desenvolvimento de bactérias lácticas e acéticas que são muito sensíveis ao efeito do SO<sub>2</sub>. Porém, as leveduras são mais resistentes e algumas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* podem desenvolver-se no mosto da uva com concentrações de 150 a 200 ppm de SO<sub>2</sub>. No entanto, a maioria das cepas, em quantidades de 100 ppm de SO<sub>2</sub>, têm certa dificuldade no metabolismo da fermentação (ZAMBONELLI, 1998). A faixa de SO<sub>2</sub> recomendada é de 50-100mg.L<sup>-1</sup>, dependendo da sanidade da fruta e da temperatura de maceração (JACKSON, 2008).

A ação dessa substância seleciona as leveduras que produzem melhores aromas e que apresentam maior capacidade de produção de álcool, ao mesmo tempo em que impede o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis durante a fermentação (RIZZON et al., 1996).

#### 2.2.6.4 Etanol

O etanol tem sido empregado desde a antiguidade como antisséptico. Essa ação deve ao fato do etanol desnaturar proteínas e dissolver lipídios. Assim, no decorrer da fermentação, a eficiência do

etanol como antisséptico aumenta gradativamente, fazendo com que a fermentação ocorra com extrema dificuldade quando a sua graduação ultrapassa 14% (PATO, 1998)

O etanol é o principal produto oriundo da conversão dos açúcares das uvas pelas leveduras. A presença do etanol é essencial para aumentar os atributos sensoriais dos componentes do vinho. Entretanto o excesso pode mascarar o aroma total do vinho e o sabor (GUTH; SIES, 2002). Além disso, esse composto exercita uma ação inibitória para todos os microrganismos. Portanto, utilizar variedades de leveduras que tenham certa resistência ao etanol é de fundamental importância. (ZAMBONELLI, 1998).

#### 2.2.6.5 Fator *Killer*

As leveduras *killer* foram descobertas em 1965 e hoje se dispõem de amplas informações a respeito deste assunto. Um grupo de leveduras do mesmo gênero produz o que se denomina toxina *killer*, que são proteínas ou glicoproteínas, que matam outras leveduras. A presença de toxina *killer* aparece da mesma maneira que a presença de compostos antibióticos liberados por certos mofos, mediante observação da inibição do crescimento de uma cepa em presença de outra (RANKINE, 2000).

As características *killer* não são efetivas em cultivos puros, porque uma levedura *killer* somente produzirá a morte de outras quando estiver em contato com cepas de leveduras que se mostrem sensíveis a ela. As leveduras *killer* não têm efeito esterilizante sobre o mosto (RANKINE, 2000).

### 2.3 ELABORAÇÃO DOS VINHOS

A qualidade de um vinho começa a ser definido no vinhedo, sendo importante o adequado manejo agrônomico e o acompanhamento da maturação das uvas, bem como os cuidados durante a colheita (AMORIM et al., 2006).

O início do processo de vinificação ocorre com o desengace e leve esmagamento da uva para liberar o mosto e iniciar o processo de fermentação alcoólica, que pode ser ou não acompanhado pela maceração. Durante a maceração, o mosto é fermentado com o bagaço, constituído pelas partes sólidas. Nesta etapa são extraídos os compostos fenólicos presentes das sementes e cascas. Inicialmente, a maceração é induzida pela ação de enzimas hidrolíticas liberadas a partir da ruptura das células durante o esmagamento. Para vinhos tintos, a maceração é

prolongada e ocorre simultaneamente com a fermentação alcoólica. O álcool gerado no processo de fermentação favorece a extração e liberação dos compostos fenólicos presentes na uva (JACKSON, 2000).

Após a fermentação parcial ou completa, é feita a separação do líquido permitindo que este escoe livremente sob a ação da gravidade. Esta operação é denominada descuba. Posteriormente à descuba, realiza-se a prensagem do bagaço que permite a extração de 10 a 15% de vinho retido nos interstícios das partes sólidas. O produto obtido pela prensagem é denominado vinho prensa e pode ser incorporado ao vinho obtido livremente em proporções determinadas pelo tipo e estilo de vinho desejado (JACKSON, 2000). Dependendo do produto desejado, a etapa seguinte, comumente empregada na elaboração de vinhos tintos, é a fermentação malolática.

### **2.3.1 Fermentação alcoólica**

De uma maneira geral, pode-se estabelecer que a fermentação alcoólica é um conjunto de reações em cadeia catalisadas por uma série de enzimas de origem microbiana. Os agentes físico-químicos influem notavelmente na produção e funcionalidade das enzimas microbianas. Portanto, o curso e o resultado final de cada fermentação podem ser diferentes segundo as características fisiológicas peculiares da levedura e das condições ambientais em que acontece (LEPE & LEAL, 2004).

A fermentação do mosto da uva pode ser espontânea, conduzida pela microbiota presente nas uvas e, ou, nas instalações da vinícola, ou inoculada mediante adição de uma cepa conhecida de *Saccharomyces*. Este último procedimento minimiza a influência de leveduras selvagens sobre a qualidade do vinho. O inoculo é uma preparação industrial reidratada, de uma cepa de levedura adequada, ou uma quantidade de vinho que já esteja em plena fermentação (BOULTON et al., 2002).

#### **2.3.1.1 Fermentação Alcoólica Espontânea**

As fermentações espontâneas são aquelas produzidas de maneira natural, ou seja, realizadas pelas leveduras provenientes das cascas das uvas, sem nenhum tipo de inoculação externa. Isto faz com que as fermentações espontâneas não sejam produto da ação de uma única espécie de levedura, e sim uma sucessão de espécies de leveduras diferentes ao longo da fermentação (TORIJA, 2002). Em ausência de dióxido de enxofre, permitem o desenvolvimento da microbiota espontânea e contribuem para as características sensoriais globais do

vinho. Esta prática pode ser uma boa ideia, acrescentando complexidade ao vinho, ou um grave erro que diminua a qualidade, dependendo, sobretudo da variedade da uva, tipo de vinho e da microbiota presente durante a fermentação (BOULTON et al., 2002).

A fermentação espontânea do vinho é um processo complexo que dá origem a diferentes compostos que definem a qualidade do produto. O processo de fermentação pode ser conduzido por leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces*, sendo que o papel de diferentes linhagens de não-*Saccharomyces* na fermentação tem sido muito estudado (FLEET, 2003).

Assim, embora muitos gêneros e espécies de leveduras sejam encontrados no mosto de fermentação, o gênero *Saccharomyces*, e principalmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, é a principal responsável pela fermentação alcoólica (QUEROL et. al., 2003).

As diferentes e dinâmicas atividades destas leveduras apresentam grande impacto sobre muitos aspectos no processo fermentativo vínico. Algumas espécies são benéficas para a produção do vinho e outras atuam prejudicialmente como microrganismos deteriorantes. A contribuição individual e coletiva destas leveduras selvagens varia de acordo com o número e diversidade de espécies presentes no mosto (PRETORIUS, 2000).

Segundo Dorneles (2003) a fermentação espontânea normalmente é conduzida por uma sucessão de populações de leveduras que iniciam com espécies relativamente fracas e seus metabolismos são mais difíceis de serem previstos em comparação aos da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Boulton et al. (2002) ainda acrescentam que outra desvantagem das fermentações espontâneas é que não é perceptível quando começa a fermentação e quanto tempo dura.

### 2.3.1.2 Fermentação Alcoólica Não espontânea

Na situação atual das indústrias vinícolas, são utilizadas leveduras selecionadas as quais são inoculadas no mosto de fermentação como leveduras secas ativas, simplificando microbiologicamente o processo de fermentação alcoólica. Esta prática de inoculação de leveduras tem algumas vantagens como a diminuição da fase *lag*, redução significativa da influência de leveduras que naturalmente ocorrem, rápida e completa fermentação do mosto e ainda permite um alto grau de reprodutibilidade de produção do vinho (ZUZUARREGUI & OLMO, 2004). Além disso, o uso de um cultivo iniciador assegura o domínio da *Saccharomyces*

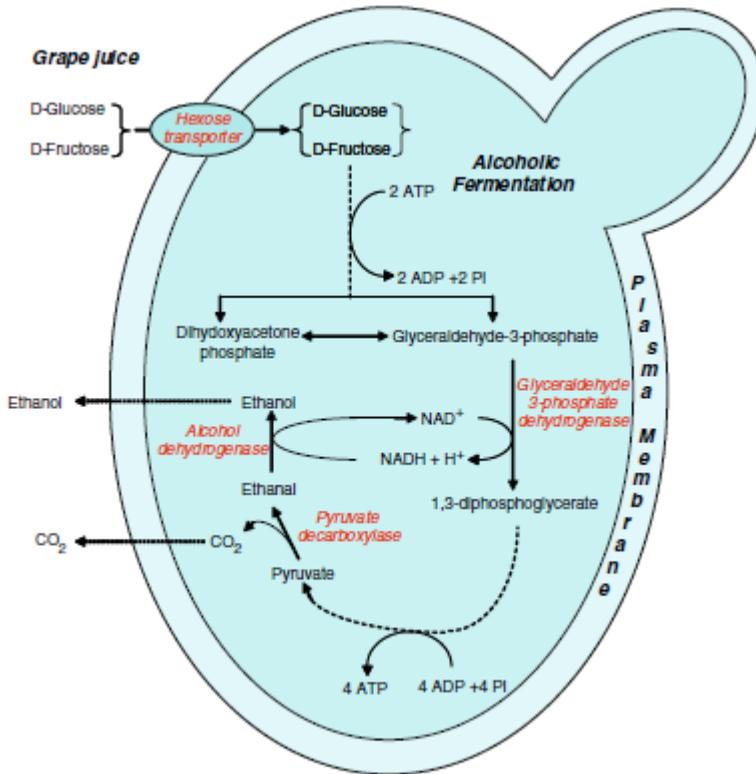
ainda que tenha um período de adaptação necessário para que as células comecem a crescer e a fermentar (Boulton, et al., 2002).

O uso de leveduras selecionadas no processo de produção do vinho requer o desenvolvimento de técnicas que possam claramente diferenciar as leveduras inoculadas do restante das leveduras selvagens presentes no mosto. Isto irá proporcionar um conveniente teste para assegurar que a fermentação está sendo conduzida pelas leveduras inoculadas. Como a maioria das leveduras pertence à mesma espécie, *Saccharomyces cerevisiae*, elas não podem ser diferenciadas pelos métodos clássicos microbiológicos. Para resolver este problema, muitas técnicas baseadas em polimorfismos moleculares têm sido utilizadas recentemente para caracterização de leveduras de vinhos (TORRIANI et.al., 2004).

### 2.3.1.3 Bioquímica da fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica (Figura 3) é a ação de leveduras sobre açúcares fermentescíveis contidos em uma solução. É um processo biológico no qual a energia fornecida por reações de oxidação parcial pode ser utilizada para o crescimento de leveduras e a oxidação parcial anaeróbia da hexose na produção de álcool e dióxido de carbono (LIMA & MARCONDES, 2002).

Figura 3 - Fermentação alcoólica.



Fonte: ZAMORA (2009).

Os carboidratos considerados substratos para a fermentação tanto podem ser endógenos (constituintes da levedura, como glicogênio e trealose) como exógenos (sacarose, glicose, frutose e outros), estes últimos fornecidos às leveduras (LIMA, et al. 2001).

As leveduras, durante a fermentação do mosto, produzem, como resultado do seu metabolismo, uma grande variedade de compostos ao lado do etanol, o principal produto. Os principais fatores que afetam estes produtos são a espécie da levedura, o tipo de mosto e as condições de fermentação. Estes produtos são liberados durante a fermentação e contribuem para o sabor do vinho, de maneira que a qualidade final depende do tipo destes compostos e suas concentrações. Estes compostos compreendem álcoois superiores, cetonas, aldeídos, ácidos graxos, acetatos e ésteres (MAURICIO et al., 1997).

A principal rota metabólica envolvida na fermentação etanoica é a glicólise, na qual uma molécula de glicose é metabolizada e duas moléculas de piruvato são produzidas. Sob condições anaeróbicas, o piruvato é convertido a etanol com desprendimento de dióxido de carbono. Dois ATPs produzidos na glicólise são usados na condução da biossíntese das leveduras, que envolvem diversas biorreações que requerem energia. Portanto, a produção de etanol está fortemente relacionada com o crescimento das leveduras, o que significa que leveduras devem ser produzidas como subproduto. Sem o consumo contínuo de ATP pelo crescimento celular, o metabolismo glicolítico seria interrompido imediatamente, em razão do acúmulo intracelular de ATP, que inibe a fosfofrutoquinase, uma das mais importantes enzimas reguladoras da glicólise (BAI, et al.2008).

#### 2.3.1.4 Produtos finais do metabolismo das leveduras

A levedura tem um papel essencial de produzir álcool a partir de açúcar e os produtos da fermentação gliceropirúvica. Os constituintes fermentativos do aroma são produtos do metabolismo secundário da levedura, sendo estes compostos os mais abundantes no produto acabado. Como exemplo têm-se alcoóis, ácidos e seus ésteres (etanol, acetato de etila, 3-metil-1-butanol, 2-feniletanol, ácido acético, ácido láctico, lactato de etila, ácido succínico, etc.); compostos de carbono (acetaldeído, diacetil, fenilacetaldeído, acetoína); compostos de enxofre (metil mercaptano, 3-metiltiopropanol, etc.); compostos nitrogenados (2-feniletilamina, N-(2-feniletil)-acetamina); lactonas ( $\gamma$ -nonalactona,  $\sigma$ -decalactona, etc.); fenóis voláteis (4-vinilfenol, 4-vinilguayacol, 4-etilfenol, etc.) (BAUMES, 2000). A Figura 4 apresenta a formação dos subprodutos da fermentação alcoólica.



uma importante diminuição da acidez fixa e uma suavidade acentuada no vinho ao degustá-lo (LEPE & LEAL, 2004).

Ainda, segundo Lepe & Leal (2004), ocorre um incremento aromático, graças à elevação de ésteres (lactato de etila, dietil succinato, etc.) e metabólitos do ciclo diacetil-cetônico. Pode-se conseguir como efeito igualmente favorável a redução de aromas herbáceos, os fenômenos de amargor e adstringência que podem também ser diminuído por outros metabólitos bacterianos.

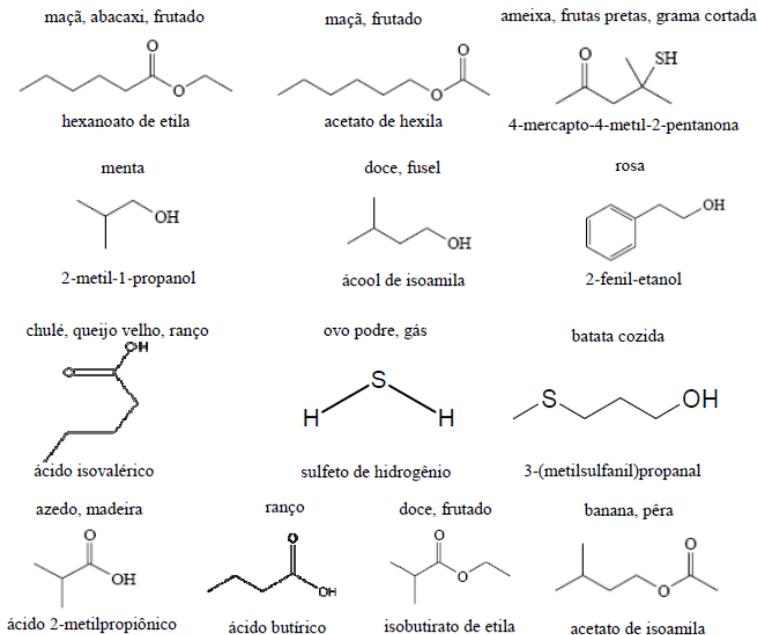
## 2.5 COMPOSTOS VOLÁTEIS E AROMÁTICOS DO VINHO

Os compostos aromáticos do vinho podem ter origem ligada à uva, aos processos enológicos adotados ou ao ambiente de vinificação. A maior parte dos compostos aromáticos de qualidade provém da película da uva e, graças à maceração, se difundem no vinho, onde aparecem e são protegidos pelo álcool. A maceração é a etapa fundamental para as qualidades aromáticas do vinho. As leveduras e as bactérias lácticas também são produtoras de múltiplos compostos aromáticos procedentes de seu metabolismo e da degradação de suas células (GIRARD, 2004).

O vinho está constituído por cerca de 800 substâncias voláteis onde o grau de percepção olfativa desses compostos cobre uma grande gama de valores. O grau de percepção olfativa dos constituintes voláteis do vinho está ligado por sua vez a sua concentração e natureza (RIBEREAU-GAYON et al., 2003).

Nos vinhos novos, o aroma é essencialmente determinado pelos constituintes voláteis provenientes das uvas e da vinificação. Os aromas das uvas, característicos da variedade, e os resultantes da fase pré-fermentativa, são os que importam efetivamente fazer sobressair, constituindo uma das bases em que deverá ajustar a tecnologia de vinificação mais correta (GARCIA, 1988). Pode-se observar na Figura 5 algumas estruturas químicas de compostos voláteis secundários de ocorrência frequente em vinhos e suas respectivas notas aromáticas.

Figura 5 - Compostos voláteis secundários frequentes em vinhos e as respectivas notas aromáticas conferidas em vinhos.



Fonte: FALCÃO (2007).

Os compostos aromáticos sintetizados pelas leveduras e bactérias presentes no mosto de uva durante o processo fermentativo contribuem para formação do aroma do vinho. Enzimas como as glicosidases e as liases estão envolvidas no processo de transformação bioquímica e são sintetizadas pelas leveduras. Vários fatores podem influenciar na composição do aroma, a exemplo da temperatura, teor de sólidos solúveis existentes no mosto de uva, microbiota que conduzem o processo fermentativo, dentre outros fatores (SWIEGERS et al., 2005).

As substâncias voláteis formadas durante a fermentação alcoólica apresentam um importante papel da definição do aroma dos vinhos resultantes. O aroma é essencialmente determinado pelos constituintes voláteis provenientes das uvas e da vinificação, essencialmente trata-se de álcoois superiores, ácidos e ésteres (FLANZY, 2000). Estes compostos voláteis, que constituem atributos qualitativos e mesmo defeitos no perfil aromático dos vinhos, podem ser identificados e

quantificados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (RIZZON & MIELE, 2001).

### 2.5.1 Ésteres e seus ácidos

Os ésteres constituem a maior fração do aroma dos vinhos. Eles podem ser originários de diferentes processos de formação, sendo que na maioria dos casos a maior fração de ésteres é formada no transcurso da fermentação alcoólica, onde a elevada quantidade de ácidos graxos reage com alguns álcoois, dando origem a maioria dos ésteres. Aos ésteres formados durante a fermentação alcoólica, atribuem-se os aromas fermentativos ou os chamados aromas secundários dos vinhos (BOULTON et al., 1996). Os ésteres podem, entretanto, também ser derivados da uva e da esterificação química de álcoois e ácidos durante o envelhecimento do vinho (ETIÉVANT, 1991).

Muitos dos ésteres detectados nos vinhos são formados enzimaticamente, através da proteólise da acil coenzima-A correspondente, pela ativação dos cetoácidos. O primeiro processo requer o consumo de adenosina trifosfato (ATP), enquanto o último não. Em meio alcoólico são formados os ésteres, ao passo que em meio aquoso se formam os ácidos graxos livres (NYKÄNEN, 1986).

Os ésteres, acetatos e os ésteres etílicos de ácidos graxos, contribuem para os aromas frutados, característicos dos vinhos. Estes ésteres são formados por leveduras a partir da acil-SCoA-SCoA, durante a fermentação (BOULTON et al., 1996).

Segundo Flanzky (2003), os ésteres se formam a partir dos esqueletos carbonados dos aminoácidos. O acetato de isoamila e o etil-3-metilbutirato podem se formar a partir da leucina. A leucina primeiro se desamina e se descarboxila originando um aldeído, este aldeído se reduz a álcool e reaciona com acetil-CoA, originando acetato de isoamila, ou se oxida a ácido monocarboxílico.

Os ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis e o 2-fenil etanol constituem uma importante fração dos aromas dos vinhos, estes compostos podem ser formados no transcurso da fermentação alcoólica ou alguns deles podem ser originários da uva. No entanto, observa-se que a maior parte deles é formada durante a fermentação alcoólica (FLANZY, 2003; TOGORES, 2003).

## 2.5.2 Alcoóis Superiores

Muitos fatores podem alterar a composição aromática de um vinho, é o tipo de levedura tem uma grande influência sobre a produção de álcoois superiores durante a fermentação, mas são mais importantes, sempre, as condições da fermentação e a composição do mosto (RAPP & VERSINI, 1991).

Os álcoois que possuem mais de dois átomos de carbono são chamados álcoois superiores. Vários são de origem fermentativa e geralmente constituem 50% dos componentes aromáticos do vinho, excluindo-se o etanol (JACKSON, 1994; RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Estão presentes nos vinhos na ordem de 150 a 550 mg.L<sup>-1</sup> (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Os álcoois superiores são compostos secundários da fermentação alcoólica, resultantes do metabolismo de aminoácidos ou açúcares (BOULTON et al., 1996).

O perfil de utilização de aminoácidos e a demanda de nitrogênio pelas leveduras interferem diretamente na produção de alcoóis superiores. Assim como outros fatores que intervêm sobre a fermentação alcoólica, que influenciam a produção de álcoois superiores, são a aeração, turbidez elevada, temperatura de fermentação elevada, pH elevado, pressão do gás carbônico (FLANZY, 2000).

Entre os alcoóis superiores formados durante a fermentação, incluem os compostos: metanol, acetaldeído, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1butanol, 3-metil-1-butanol e o 2-fenil-etanol. (Boulton et al., 1996). Com exceção do 2-metil-1butanol e do 2-fenil-etanol, estes compostos ocorrem tipicamente em vinhos em concentrações abaixo dos seus limiares de detecção olfativa. Quando os níveis de alcoóis superiores são encontrados em vinhos em concentrações acima de 300 mg.L<sup>-1</sup>, geralmente apresentam impacto negativo no aroma (ÉTIEVANT, 1991).

## 2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS DO VINHO

Os compostos fenólicos fazem parte do metabolismo secundário das plantas, ocorrendo em maiores concentrações, principalmente, nos tecidos de sementes e cascas das frutas e dos caules e ramos. Geralmente, estes metabólitos possuem funções de defesa da planta ao ataque de fungos, bactérias, herbívoros e contra danos mecânicos (CARVALHO et al., 1999).

Esses compostos são responsáveis pelo crescimento e germinação das plantas, apresentam também a função de protegê-las de infecções e

agressões de microrganismos e servem como filtros de radiação UV. Além disso, contribuem com o aroma, adstringência, cor e estabilidade oxidativa das mesmas (NACZK & SHAHIDI, 2004).

Quimicamente, os fenólicos são definidos como substâncias que possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Além da função hidroxila podem estar presentes outros grupos funcionais, como ésteres e glicosídeos (Escarpa & Gonzales, 2001). Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI et al., 1995).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis.

Nos vinhos tintos, os compostos fenólicos ou polifenóis provém, principalmente, das cascas e sementes da uva, por isso são compostos majoritários, aos quais aportam propriedades específicas tais como cor, adstringência e estrutura ou corpo. São considerados também antioxidantes potentes, responsáveis diretamente pela longevidade dos vinhos, com a participação dos ácidos orgânicos (GASTONI e FILHO, 2010).

Os constituintes fenólicos possuem uma grande importância em enologia, pois atuam direta ou indiretamente na qualidade dos vinhos. A uva contém, essencialmente, compostos não flavonóides, na polpa da baga, e flavonóides nas camadas que compõem a casca, nas sementes e na ráquis. Desta maneira, o processamento adotado condiciona o grau de extração dos polifenóis a partir das diferentes partes do cacho e das reações destas moléculas, contribuindo assim de maneira essencial à composição polifenólica dos vinhos (CHEYNIER et al., 2000). A variação do tempo de exposição das cascas e da semente durante a fermentação e a temperatura usada nesse processo são fatores marcantes na extração de compostos fenólicos (KOVAC et al., 1992).

O longo contato com a casca durante a vinificação, a temperatura, a presença das sementes e, às vezes, do engaço e de enzimas, são fatores que tem grande influência na extração dos fenólicos durante a fermentação do suco da uva (KOVAC et al., 1992).

Os principais compostos fenólicos são os ácidos cinâmicos, como o ácido caféico e cumárico, os ácidos benzóicos, como o ácido vanílico e gálico, os taninos condensáveis ou proantocianidinas, os flavonóides e os estilbenos, como o resveratrol. Entre os flavonóides presentes

encontram-se os flavanóis, como a catequina e epicatequina, flavonas, como a rutina, flavonóis, como a quercetina, flavononas e antocianinas (SHIRAHIGUE, 2008).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para os vegetais (SOARES, 2002). São os compostos derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico, geralmente encontrados na forma de ésteres do ácido caftárico, localizados, principalmente, na casca da uva (JACKSON, 1994; GIRARD, 2004).

Os ácidos cinâmicos, principalmente, o ácido *p*-coumárico, o ácido caféico, o ácido ferrúlico e o ácido sinápico são mais comumente encontrados que os ácidos hidroxibenzóicos. Esses ácidos são, raramente, encontrados na forma livre, exceto em alimentos que passam por processos de congelamento, esterilização e fermentação. (MANACH et al., 2003).

Os flavonóis se acumulam nas cascas e folhas das plantas porque a sua síntese é estimulada pela luz. Isso pode explicar a possível diferença de composição entre frutos de uma mesma planta, ou seja, os frutos que recebem uma maior quantidade de luz tendem a ter uma síntese pronunciada desses compostos (PRICE et al., 1995).

Os flavonóis são os pigmentos amarelos da uva e são encontrados principalmente na película, e geralmente, ligados a açúcares como a glicose, rafinose e o ácido glucorônico. O flavonol predominante nas cultivares de *Vitis vinifera* é o kaempferol, enquanto que nas cultivares de *Vitis labrusca* é a quercetina (JACKSON, 1994).

As antocianinas são pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas e brilhantes de frutas, flores e folhas que variam do vermelho-vivo ao violeta e azul (BOBBIO & BOBBIO, 1992). Nas videiras, elas acumulam-se nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também na polpa de algumas variedades de uvas (RENAUD & LORGEHIL, 1992).

A composição antociânica de diferentes cepas de *Vitis vinifera* varia em função do clima, local, solo, manejo da videira e da tecnologia de elaboração empregada. No vinho, essa concentração varia de 20 a 500mg L<sup>-1</sup> (CHEYNIER & TEISSEDE, 2000).

Os taninos possuem o peso molecular relativamente alto, constituem uma classe de polifenóis e, segundo a estrutura química, são classificados em taninos hidrolisáveis e taninos condensáveis (OSZMIANSKI et al., 2007).

Os taninos (3-flavanóis) são caracterizados pela sua capacidade em combinar-se com as proteínas e outros polímeros como os polissacarídeos. Estes compostos, associados com as proteínas, funcionam como clarificantes, formando associações insolúveis que provocam a precipitação das partículas suspensas deixando o líquido límpido (USSEGLIO- TOMASSET, 1998).

Os principais taninos monômeros da uva são a catequina e seu isômero, a epicatequina e a galocatequina. Verificam-se grandes diferenças de concentração entre variedades tintas e brancas, podendo variar de 10 a 100 mg.Kg<sup>-1</sup> de bagas (CHEYNIER et al., 2000) e, no vinho, pode variar de 64 a 1300 mg.L<sup>-1</sup> (CHEYNIER & TEISSEDE, 2000).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 DESCRIÇÃO DO VINHEDO**

O vinhedo do qual as uvas utilizadas foram colhidas está localizado na Vinícola Ouro Verde, no município de Casa Nova-BA a 397 metros de altitude e a 9° na latitude sul e 40° na longitude oeste.

Trata-se de um vinhedo de aproximadamente 7 (sete) anos, conduzido pelo sistema de espaldeira simples, sob o porta-enxerto IAC 766. Sob um argissolo com profundidade entre 50 e 60 cm que apresenta boa drenagem. O sistema de irrigação adotado foi o do tipo gotejamento com fertirrigação. Nele fora realizada poda tipo cordão esporonado, o espaçamento é de 2,2m entre filas e, 1,0m entre plantas, com uma área de 6,4 hectares onde se obteve uma produtividade de 4.400 Kg por hectare.

Foram coletados dados climáticos provenientes da estação agrometeorológica da Embrapa Semiárido localizada na Fazenda Santa Felicidade no município de Casa Nova, Bahia. Os dados consistiram das observações diárias da temperatura média, temperatura máxima e mínima, umidade relativa, radiação solar e precipitação pluviométrica, durante todo o ciclo fenológico da videira. Os dados médios podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Médias dos dados meteorológicos diários da estação agrometeorológica durante o ciclo fenológico da cv. Syrah.

<b>Dados meteorológicos</b>	<b>Média</b>
Temperatura Média (°C)	27,43
Temperatura Máxima (°C)	33,19
Temperatura Mínima (°C)	22,26
Umidade Relativa Média (%)	51,55
Radiação Solar Glogal (MJ)	22,39
Precipitação Pluviométrica (mm)	0,90

Fonte: Embrapa Semiárido (2013)

### 3.2 COLHEITA E ELABORAÇÃO DOS VINHOS

A colheita da uva da variedade Syrah foi realizada na segunda semana do mês de janeiro do ano de 2012, na Vinícola Ouro Verde, totalizando um ciclo fisiológico de 132 dias. Para o experimento, foram disponibilizados 280 Kg de uva Syrah. Procurou-se obter uvas com as mesmas características físico-químicas, encontrando uma média de 23,6°Brix e pH de 3,48.

A uva foi conduzida até a Escola do Vinho, localizada no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, BR 235 – Km 22, Zona Rural – Petrolina-PE. As uvas ficaram armazenadas por cinco dias em câmara-fria a uma temperatura de 6°C. As mesmas foram divididas em cinco partes (Figura 1 (b)) com 56 Kg cada e, posteriormente às práticas enológicas adotadas, foram subdivididas em três repetições (garrafões) para cada tratamento empregado.

Figura 6 – (a) Pesagem das uvas; (b) Separação dos tratamentos.



(a)

(b)

As uvas foram submetidas ao processo de desengace e esmagamento de forma manual. As uvas foram desengaçados separadamente em tinas de aço inox e, durante esta etapa, foram adicionados  $60 \text{ mg L}^{-1}$  de dióxido de enxofre através de solução de 5% deste conservante e, após 15 minutos,  $0,8 \text{ mL } 100\text{Kg}^{-1}$  de enzima pectolítica Endozym ICS 10 Rouge®. Concluído o desengace e esmagamento, foi adicionado a cada tratamento  $20 \text{ g.hL}^{-1}$  de levedura seca ativa correspondente ao tratamento (Tabela 3) e  $20 \text{ g hL}^{-1}$  de nutrientes a base de aminoácidos. As leveduras passaram pelo processo de hidratação e ativação indicado pelo fabricante. No caso do tratamento conduzido por leveduras selvagens, não foi adicionadas leveduras.

### 3.2.1 Leveduras

Para a realização do experimento, foram escolhidas 4 (quatro) marcas comerciais de levedura seca ativa disponíveis no mercado, sendo elas Maurivin AWRI 350®, Maurivin AWRI 796®, Mycoferm CRIO SP® e Maurivin PDM®. Além disso, um tratamento foi utilizado como testemunha onde não houve adição de leveduras ao meio, tendo sua fermentação conduzida por leveduras selvagens (LS).

No total, foram cinco tratamentos com três repetições cada, identificados como segue na Tabela 2.

Tabela 2 – Codificação e caracterização dos tratamentos

<b>Tratamentos</b>	<b>Caracterização</b>
LS	Fermentação alcoólica conduzida pelas Leveduras Selvagens
A350	Fermentação alcoólica conduzida pela levedura Maurivin AWRI 350® - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>bayanus</i>
A796	Fermentação alcoólica conduzida pela levedura Maurivin AWRI 796® – <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
MCRIO	Fermentação alcoólica conduzida pela levedura Mycoferm Crio SP® - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>bayanus</i>
MPDM	Fermentação alcoólica conduzida pela levedura Maurivin PDM® - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>bayanus</i>

### 3.2.1.1 Maurivin AWRI 350® (A350)

AWRI 350 é uma levedura pura, seca ativa, selecionada por suas características aromáticas. Trata-se de uma cepa *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* originada da Austrália. A taxa de fermentação é moderada em temperaturas mais elevadas (20-30°C), com uma fase de latência curta. Apresenta média tolerância ao álcool no intervalo de 12 a 13% (v/v). O uso dessa levedura é recomendado para a elaboração de vinhos jovens aromáticos tintos (Syrah, Grenache, Merlot, Cabernet Sauvignon), rosados e brancos (Moscatel, Gewürztraminer). A Maurivin Awri 350 produz grandes quantidades de ésteres (compostos aromáticos de fermentação). A dosagem de emprego recomendada é de 15 a 25 gramas por hectolitro (MAURIVIN, 2012).

### 3.2.1.2 Maurivin AWRI 796® (A796)

Maurivin Awri 796 foi isolada pela primeira vez na África do Sul. Trata-se de uma levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A taxa de fermentação é considerada de moderada a rápida em temperaturas mais elevadas (20-30°C), com uma fase de latência relativamente curta. Apresenta boa tolerância ao álcool no intervalo de 14,5 a 15,5% (v/v). Tecnicamente é considerada uma levedura que consome pouco

nitrogênio e normalmente completa a fermentação de mostos com quantidades relativamente baixas deste nutriente. AWRI 796 é geralmente recomendado para produção de vinhos tintos, particularmente varietais, tais como Syrah, Cabernet, Merlot e Pinot Noir. A dosagem de emprego recomendada é de 15 a 25 gramas por hectolitro (MAURIVIN, 2012).

### 3.2.1.3 Mycoferm CRIO SP® (MCRIO)

Mycoferm Crio-SP é uma levedura seca ativa *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* selecionada na França, na região de Champagne. Trata-se de uma levedura criófila, muito resistente ao álcool e é, particularmente, indicada para a produção de vinhos frisantes e espumantes. Entre as principais características enológicas está a presença de atividade killer, resistência ao dióxido de enxofre livre (50mg/L), alta tolerância ao álcool (até 16%) e relação açúcar/álcool de 15g/1%. A dosagem de emprego recomendada é de 20 a 30 gramas por hectolitro (EVERINTEC, 2012)

### 3.2.1.4 Maurivin PDM® (MPDM)

Maurivin Pdm é uma levedura seca ativa *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus*, isolada nos vinhedos de Champagne-França. É adequada para fermentação a baixas temperaturas devido ao seu vigor inerente. Porém, também é um fermentador rápido a temperaturas mais elevadas (20-30°C), com curta fase lenta. Industrialmente, suas aplicações são bastante extensas, recomendada para a produção de vinhos brancos e tintos. Brancos varietais como Chardonnay, Chenin Blanc, Sauvignon Blanc, Semillon e Riesling. Tintos como Cabernet, Merlot e Syrah. Sendo também adequada para produção de espumantes pelo Método Champenoise (MAURIVIN, 2012).

## 3.2.2 Microvinificações

Feita a adição e homogeneização dos insumos (leveduras e nutrientes), cada tratamento foi dividido igualmente em três garrações de vidro, com 20 litros de capacidade, que caracterizaram as repetições dos tratamentos empregados. Ao final, totalizou 15 (quinze) garrações de vidro que foram armazenados em sala com controle de temperatura conforme Figura 7. Para a fermentação alcoólica adotou-se a temperatura de 25°C para a sala de fermentação. Durante essa etapa

foram controladas temperatura e densidade de cada garrafão. Foram realizadas 2 (duas) aerações (remontagens) por dia durante os dois primeiros dias de fermentação alcoólica e, nos dias seguintes, fez-se 1 (uma) aeração diária até o final desta fermentação. No 5º (quinto) dia de fermentação alcoólica foi realizada a descuba encerrando o período de maceração.

Figura 7 – (a) Garrafões com vinhos em fermentação alcoólica; (b) Detalhe para o garrafão em fermentação alcoólica.



(a)



(b)

Com a finalização da fermentação alcoólica, atestada através de análise de densidade ( $<1,000$ ), a temperatura da sala foi reduzida para  $22^{\circ}\text{C}$  para dar início à fermentação malolática de forma espontânea.

Concluída esta fermentação, os garrafões foram levados para câmara fria à temperatura média de  $-3^{\circ}\text{C}$ . Nestas condições, os vinhos foram submetidos à estabilização tartárica por 15 dias. Ao final, cada tratamento, e suas repetições, passaram por uma trasfega, e tiveram o dióxido de enxofre corrigido em  $40 \text{ mg.L}^{-1}$ . Foram utilizadas garrafas de 750 mL e rolhas sintéticas para o envasamento dos vinhos. Em seguida, estes foram devidamente identificados.

### 3.3 MÉTODOS

#### 3.3.1 Curva de fermentação alcoólica

Foi verificada e registrada duas vezes ao dia a densidade (ítem 3.3.2.1) de cada garraão que estava em fermentação alcoólica para a construção da curva de fermentação de cada tratamento.

#### 3.3.2 Análises clássicas

Para determinação das características físico-químicas dos vinhos foram realizadas análises em triplicata sendo avaliado as variáveis densidade, pH, teor alcoólico, acidez total titulável, teor de dióxido de enxofre livre e total, acidez volátil, extrato seco, antocianinas totais, taninos totais, índice de polifenóis totais, intensidade de cor e tonalidade utilizando método da Organização Internacional da Uva e do Vinho – OIV (PEYNAUD, 1997; OIV, 1990). As análises foram realizadas doze meses após o engarrafamento dos vinhos.

##### 3.3.2.1 Densidade

A densidade das amostras de vinho foi determinada através da leitura com decímetro. Aproximadamente 80 mL da amostra são colocados na balança hidrostática (Gibertini ®), com temperatura entre 19° a 22°C que automaticamente realiza a leitura.

##### 3.3.2.2 pH

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado utilizando pHmetro marca TECNAL.

##### 3.3.2.3 Teor alcoólico

Determinado com auxílio do destilador Super DEE (marca Gibertini), sendo quantificado em balança hidrostática (marca Gibertini®) e o resultado expresso em °GL.

##### 3.3.2.4 Acidez total

A acidez total nos vinhos foi determinada por titulométrica com NaOH 0,1N. Para isso, uma alíquota de 5 ml de vinho foi colocada em erlenmeyer completando-se o volume para 50 ml com água isenta de

CO<sub>2</sub>. Para determinação do ponto de viragem foi utilizado pHmetro sendo a titulação finalizada em pH igual a 8,2. O valor obtido é expresso em gramas de ácido tartárico/100 mL, a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Acidez total (meq L}^{-1}\text{)} = n \times f \times M \times 1000/V$$

Onde: n = volume em mL de solução de NaOH gasto na titulação; f = fator de correção da solução de NaOH; M = molaridade da solução de NaOH; V = volume da amostra em mL.

### 3.3.2.5 Dióxido de enxofre total e livre

Através do Método de Ripper, que se baseia na titulação da amostra com iodo 0,02N, determinou-se o dióxido de enxofre total. Em erlenmeyer de 250 mL, pipeta-se 25mL de amostra; adiciona-se 12,5 mL de hidróxido de sódio 1N e mantém-se a amostra em repouso por 15 minutos. Após adiciona-se 5 mL de ácido sulfúrico 1:3 e 2 mL de solução de amido 1%. Então se titula a amostra até o aparecimento da cor azul persistente por alguns segundos.

Utilizando o mesmo método foi determinado também o dióxido de enxofre livre. Em erlenmeyer de 250 mL adiciona-se 25 mL de amostra; 2,5 mL de ácido sulfúrico 1:3, 2 mL de solução de amido 1%. Titula-se com solução de 0,02 N até o aparecimento da cor azul. A fórmula utilizada para o cálculo da concentração de dióxido de enxofre (mg/L) presente nas amostras foi:

$$\text{SO}_2 \text{ livre ou total (mg.L}^{-1}\text{)} = V \times N \times f_c \times 32 \times 1000/v$$

onde: V = volume em mL de solução de iodo gasto na titulação; N = normalidade da solução de iodo (0,02N); Fc = fator de correção da solução de iodo; v = volume de amostra utilizado (1mL).

### 3.3.2.6 Acidez volátil

Para esta determinação foi utilizado o Destilador Eletrônico Enoquímico marca Gibertini®, no qual foi adicionado no balão de destilação do aparelho 20 mL de amostra de vinho. O destilado recolhido, aproximadamente 180 mL, foi titulado com hidróxido de sódio 0,1 N utilizando como indicador fenolftaleína, onde o ponto de viragem foi determinado pelo aparecimento da cor rósea clara na amostra, anotando-se o volume gasto. Adicionou-se uma gota de HCl

1:4 para neutralizar a amostra e 2ml de amido 1%. Titulou-se, novamente com iodo 0,02 N até a cor azul, anotando também o volume gasto. Adicionou-se então 10 ml de bórax (Tetraborato de sódio). Titulou-se com iodo 0,02 N até a cor azul, anotando também o volume gasto. A equação utilizada para se determinar acidez volátil em meq/L foi:

$$\text{Acidez volátil (meqL}^{-1}\text{)} = 10 \times \{n_1 - (n_2 \times 0,1) - (n_3 \times 0,05)\}$$

Onde:  $n_1$  = volume em mL de solução de NaOH gasto na titulação;  $n_2$  = volume em mL de solução de iodo gasto na primeira titulação;  $n_3$  = volume em mL de solução de iodo gasto na segunda titulação.

### 3.3.2.7 Extrato seco

A análise foi realizada com a utilização do Modulo de Leitura AlcoMat-2 da Balança Hidrostática Densi-Mat, que determina o valor do extrato seco total de vinhos ou mostos com a densidade entre 0,990 e 1,160, a uma temperatura entre 15 e 25°C. Primeiro se faz a leitura da amostra pura e, depois, a da amostra desalcooolizada por meio de arraste a vapor e pela diferença é determinado o extrato seco (OIV, 1990).

### 3.3.2.8 Antocianinas totais

Foi colocado em um tubo de ensaio 1 mL de cada amostra de vinho tinto, 1 mL de etanol com 0,1% de ácido clorídrico e 10 mL de solução de ácido clorídrico a 2%. Em um segundo tubo de ensaio foi adicionar também 1 mL de vinho a analisar; 1 mL de etanol com 1% de ácido clorídrico e 10 mL de solução tampão de pH 3,5. Efetuou-se então a leitura da absorção das amostras dos dois tubos no comprimento de onde de 520 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1 cm de percurso ótico, sendo o espectrofotômetro previamente calibrado com água destilada. A concentração de antocianinas livre, expressa em  $\text{mg.L}^{-1}$  foi obtida relacionando as diferenças de densidade ótica a uma curva padrão estabelecida com valores abaixo:

$$\text{Antocianinas (mg/L)} = 388 \times \Delta d$$

Onde:  $\Delta d$  = diferença de leitura entre os dois tubos.

### 3.3.2.9 Taninos totais

A concentração de taninos totais foi determinada pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Denis, segundo a AOAC (1998). As amostras foram diluídas em água a 0,1% e a reação com reagente fenólico Folin-Denis foi estabilizada com solução saturada de carbonato de sódio. A leitura espectrofotométrica foi realizada a 760 nm e o resultado expresso em equivalente de ácido tânico pela curva de calibração 0,4 e 10,0 g.mL<sup>-1</sup> em água, considerando um fator de diluição.

### 3.3.2.10 Índice de polifenóis totais

O método é baseado na capacidade de absorção de radiação ultravioleta (UV) a 280 nm pelos anéis aromáticos, cuja concentração obedece à lei de Lambert-Beer (HARBERTSON e SPAYD, 2006). As amostras foram diluídas em água a 1%, lidas em espectrofotômetro a 280 nm, com cubetas de quartzo e os resultados expressos pela absorbância, considerando o fator de diluição.

### 3.3.2.11 Índice de cor

Foram realizadas leituras espectrofotométricas das absorbâncias de 420, 520 e 620 nm. A intensidade da cor (IC), para os vinhos tintos, foi obtida pela somatória das absorbâncias (420, 520 e 620 nm).

### 3.3.2.12 Tonalidade

A tonalidade (T) foi expressa pela razão entre as absorbâncias a 420 e 520 nm.

## 3.3.3 Análises Cromatográficas

As determinações dos alcoóis superiores, ésteres e ácidos carboxílicos foram realizadas segundo BERTRAND (1981), em duplicata, por meio de cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), no Laboratório de Referência Enológica-LAREN, na cidade de Caxias do Sul-RS, Brasil. O cromatógrafo utilizado foi da marca Hewlett Packard 6890 (Palo Alto, EUA).

### 3.3.3.1 Ésteres, ácidos graxos voláteis e 2-feniletanol

A extração desses compostos foi do tipo líquido-líquido utilizando como solvente uma mistura de éter/hexano (1:1) (v/v). Foram utilizados como padrão interno o 3-octanol a 40mg/L em solução hidroalcoólica (40% vol.) e o ácido heptanóico a 70mg/L em solução hidroalcoólica (40% vol.). Para o preparo adicionou-se a 50mL de vinho 2mL de cada padrão interno, o meio foi acidificado por 0,3mL de ácido fosfórico 1/3, sendo então efetuadas 3 extrações utilizando sucessivamente 4mL, 2 mL e 2 mL de uma solução de éter/hexano (1:1) (v/v). Após decantação em funil de separação, as fases orgânicas foram reunidas constituindo o extrato.

A coluna cromatográfica empregada foi uma HP-FFAP (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). A programação de temperatura para o forno foi a seguinte: temperatura inicial de 40 °C e elevada a 3°C.min<sup>-1</sup> até 200 °C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C. Os extratos foram injetados no modo *splitless*, injetando-se 2  $\mu$ l de amostra em fluxo de 2 mL. min<sup>-1</sup> de hidrogênio. A identificação dos compostos foi feita a partir da injeção de padrões nas mesmas condições cromatográficas.

### 3.3.3.2 Alcoóis e acetato de etila

Para esta análise, o método baseia-se no princípio da injeção direta do vinho, onde foi utilizado como padrão interno, 4-metil-2-pentanol a 5 g.L<sup>-1</sup> em solução hidroalcoólica (40% vol.), para o preparo adicionou-se a 5mL do destilado 70  $\mu$ L do padrão interno.

A coluna cromatográfica empregada foi uma HP-INNOWax (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). A programação de temperatura para o forno foi a seguinte: temperatura inicial de 40 °C e elevada a 3°C.min<sup>-1</sup> até 200°C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 200°C. A injeção direta das amostras foi realizada no modo split com razão 1:50, injetando-se 1  $\mu$ l de amostra em fluxo de 2 mL. min<sup>-1</sup> de hidrogênio (gás de arraste). A identificação dos compostos foi feita a partir da injeção de padrões nas mesmas condições cromatográficas.

### 3.3.3.3 Cálculo das concentrações

As concentrações dos voláteis avaliados foram calculadas utilizando-se um padrão interno, que consiste em adicionar uma concentração conhecida de uma substância que não está presente na

amostra a ser analisada. As concentrações dos compostos foram então determinadas pelas Equações 1 e 2.

Eq. 1

$$C = K \times (A / PI)$$

Onde: C = concentração da substância a determinar na amostra; K = coeficiente de resposta; A = área do pico da substância a determinar na amostra; PI = área do pico do padrão interno.

O coeficiente de resposta (K), específico para cada substância é calculado de acordo com a seguinte fórmula:

Eq. 2

$$K = CR \times (AR / PI)$$

Onde: K = coeficiente de resposta; CR = concentração da substância na solução de referência; PI = área do pico do padrão interno na solução de referência; A = área do pico da substância na solução de referência

#### 3.3.3.4 Compostos fenólicos

Utilizou-se cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Waters, modelo Alliance e2695, acoplado a Detector de Arranjos de Diodos (DAD) e Detector de Fluorescência. Para o DAD, foram utilizados os comprimentos de onda de 220, 320, 360 e 520 nm. Para a detecção em fluorescência, a excitação se deu a 280 nm e a emissão a 360 nm.

A coluna utilizada foi a Gemini-NX C18, 150 x 4,60 mm, com partículas internas de  $\mu\text{L}$ , com fluxo de  $0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . O gradiente utilizado na separação se deu a: 0 min: 100% A; 18 min: 87,5% A, 2,5% B e 10% C; 30 min: 83,5% A, 3,2 % B e 13,3 % C; 36 min: 75% A, 5% B e 20% C; 48,5 min: 65% A, 8,3% B e 26,7% C; 50 min: 65% A, 8,3% B e 26,7% C; 65 min: 100% A; 70 min: 100% A. Sendo, a fase A: água ultrapura acidificada a pH= 2,05 com ácido fosfórico; fase B: Metanol; fase C: acetonitrila. PEREIRA, 2005; PEREIRA et al. 2006

#### 3.3.4 Análise Estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo composto por cinco tratamentos e três repetições onde cada tratamento foi uma fermentação conduzida por diferentes leveduras conforme (Tabela 2). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e comparados pelo teste de *Tukey* ao

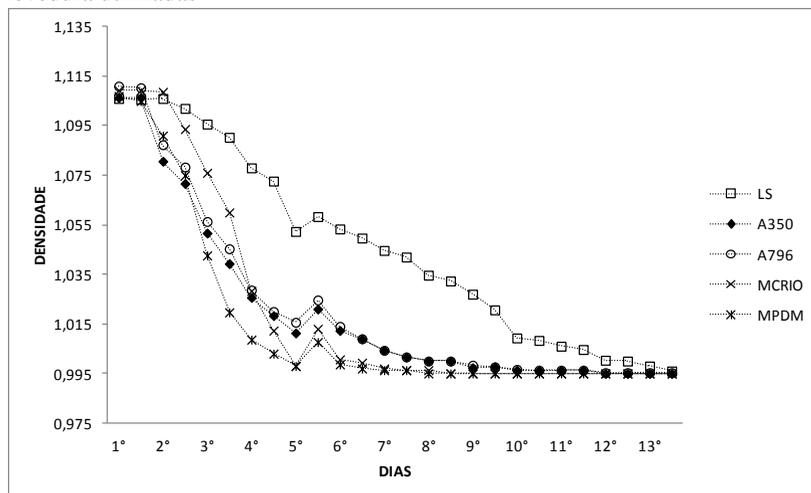
nível de 5% de significância. Os resultados também foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP), com o auxílio do programa SPSS for Windows versão 17.0 (USA)®.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 CURVA DE FERMENTAÇÃO**

O tempo de fermentação alcoólica dos vinhos variou de 9 a 13 dias em função das cepas de levedura utilizadas. Todas as leveduras apresentaram uma curva de fermentação normal representada pela redução dos açúcares e transformação em álcool (Figura 8). Sendo constatada pela redução da densidade ao longo dos dias de fermentação, variando para cada tratamento de 1,109, no início da fermentação alcoólica, a 0,995 no final da fermentação. As fermentações conduzidas pelas cepas de levedura A350, A796 e MPDM iniciaram a fermentação já no segundo dia de inoculação. As cepas LS e MCRIO só apresentaram atividade no terceiro dia. De uma maneira geral, a cepa LS, que conduziu a fermentação espontânea, apresentou uma fermentação mais lenta como observado por Cortés & Blanco (2011) quando estudaram o efeito da cepa de levedura na composição volátil e sensorial de vinhos da cv. Treixadura, as demais cepas de leveduras comerciais mostraram uma cinética similar.

Figura 8 – Curva de fermentação dos vinhos elaborados em função das cepas de levedura utilizadas



\*Leveduras selvagens (LS), Maurivin AWRI 350® (A350), Maurivin AWRI 796® (A796), Mycoferm CRIO SP® (MCRIO), Maurivin PDM® (MPDM).

## 4.2 ANÁLISES CLÁSSICAS

Os resultados obtidos apresentados na Tabela 5 indicam que os vinhos Syrah elaborados se enquadraram nos padrões de identidade e qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para vinhos tintos finos secos (BRASIL, 1998) e pelas normas do MERCOSUL (2002). Os resultados das análises clássicas estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição físico-química dos vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras.

Variáveis	Tratamentos				
	LS	A350	A796	MCRIO	MPDM
Densidade	0,9918 b	0,9924 ab	0,9927 a	0,9922 ab	0,9921 b
pH	3,39 a	3,41 a	3,47 a	3,41 a	3,41 a
Álcool (°GL)	13,26 ab	13,51 a	13,37 a	13,01 b	12,39 c
Acidez Total (g L <sup>-1</sup> )	6,15 e	7,45 b	8,20a	6,70 d	7,05 c
SO <sub>2</sub> total (mg L <sup>-1</sup> )	32,77 a	31,57 ab	20,48 d	24,75 cd	27,31 bc
SO <sub>2</sub> livre (mg L <sup>-1</sup> )	27,05 a	20,82 b	12,97 c	12,29 c	10,75 d

Acidez volátil (g L <sup>-1</sup> )	0,49 a	0,46 a	0,49 a	0,33 b	0,35 b
Extrato seco (g L <sup>-1</sup> )	24,93 b	25,80 ab	26,27 a	23,70 c	22,37 d
Antocianinas (g L <sup>-1</sup> )	0,16 a	0,14 ab	0,16 a	0,11 c	0,14 ab
Taninos (g L <sup>-1</sup> )	0,48 b	0,28 c	0,30 c	0,51 b	0,62 a
IPT	46,3 c	53,5 a	54,0 ab	52,5 b	54,5 a
Intensidade de Cor	8,29 c	11,43 a	11,42 a	9,62 b	9,75 b
Tonalidade	0,74 a	0,76 a	0,73 a	0,73 a	0,70 a

\* Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. \*\*Vinhos elaborados utilizando: Leveduras selvagens (LS), Maurivin awri 350® (A350), Maurivin awri 796® (A796), Mycoferm crio sp® (MCRIO), Maurivin pdm® (MPDM).

Os valores detectados para densidade dos vinhos elaborados variaram de 0,9918 (LS) a 0,9927 (A796), não apresentando diferença estatística significativa. Estes valores correspondem àqueles normalmente encontrados em vinhos secos da região, como encontrados por Araújo (2010) e Oliveira (2012) quando estudaram vinhos da cv, Syrah no Vale do Submédio São Francisco.

Em geral, para vinhos tintos é desejável o pH entre 3,3 e 3,6, uma vez que a fermentação malolática, necessária em vinhos tintos, provoca um aumento no pH (JACKSON, 2000; RIZZON, *et al.*1997). Os vinhos apresentaram valores médios de pH entre 3,47 para os vinhos elaborados com a cepa A796 e 3,39 para a cepa LS. Os valores encontrados estão dentro da normalidade e são coerentes com os encontrados por Cortés & Blanco (2011) e Rizzon & Miele (2009).

Para os valores do teor alcoólico foram encontrados valores dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 1988) estando entre 12,59°GL, para a cepa MPDM e, 13,51°GL para a A350. As leveduras selvagens se mostraram equivalentes às leveduras comerciais estudadas, quando avaliado o teor alcoólico no final da fermentação alcoólica. Isso mostra que possíveis espécies selvagens da região do Vale do Submédio São Francisco podem apresentar boa resistência ao teor de álcool no meio fermentativo, além do bom rendimento em álcool.

Para o parâmetro acidez total, todos os tratamentos se encontraram dentro dos padrões da Legislação Brasileira, entre 4,125 e 9,75 g.L<sup>-1</sup> (BRASIL, 1988) mas a maioria deles, fora dos limites recomendados, entre 4,5 e 6,75 g L<sup>-1</sup> (RIZZON, *et al.* 2003). Porém, mostraram diferença significativa. Estas diferenças podem estar ligadas à atividade de cada levedura utilizada já que, sabe-se, que algumas

espécies desse microrganismo são capazes de produzir ácidos orgânicos e influenciam na liberação destes ácidos a partir da película da casca durante o processo de maceração (RIZZON, et al.1997)

Quanto à acidez volátil, os vinhos analisados enquadraram-se nos valores estipulados pela Legislação Brasileira, a boa sanidade do vinho é indicada por baixos valores de acidez volátil, onde o vinho jovem não deve apresentar mais que  $1,0 \text{ g L}^{-1}$  (RIZZON, et al. 2003). Segundo a Legislação Brasileira, é permitido no máximo  $1,5 \text{ g L}^{-1}$  de acidez volátil (BRASIL, 2004).

O extrato seco representa a soma das substâncias que, em determinadas condições físicas, não se volatilizam (NAVARRE, 1991). Os valores deste parâmetro, encontrados nesse estudo, mostraram que as leveduras tiveram pouca influência na sua concentração. O vinho elaborado com a cepa MPDM apresentou a menor concentração com  $22,37 \text{ g L}^{-1}$  e, o da cepa A796 alcançou a maior concentração com  $26,37 \text{ g L}^{-1}$ .

As avaliações de antocianinas totais demonstraram que as maiores concentrações observadas foram para os vinhos das cepas A796 e LS, com  $0,16 \text{ g L}^{-1}$ . As diferentes técnicas de vinificação permitem a extração destas moléculas nos primeiros quatro a seis dias de maceração. A sua concentração nos vinhos tintos obtidos de uvas de castas de *Vitis vinifera* varia entre  $0,35 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,10 \text{ g L}^{-1}$  (LEONE, et al.1984). As concentrações encontradas nesse estudo apresentam valores compreendidos entre  $0,16$  (A796) e  $0,11$  (MCRIO)  $\text{g L}^{-1}$ , inferiores aos encontrados por Araújo (2010),  $0,42 \text{ g L}^{-1}$  quando analisou vinhos Syrah no Submédio do Vale do São Francisco, e Oliveira (2012) que encontrou em seu estudo, com vinhos da variedade Syrah em diferentes porta-enxertos e épocas de colheita, concentrações de até  $0,57 \text{ g L}^{-1}$ .

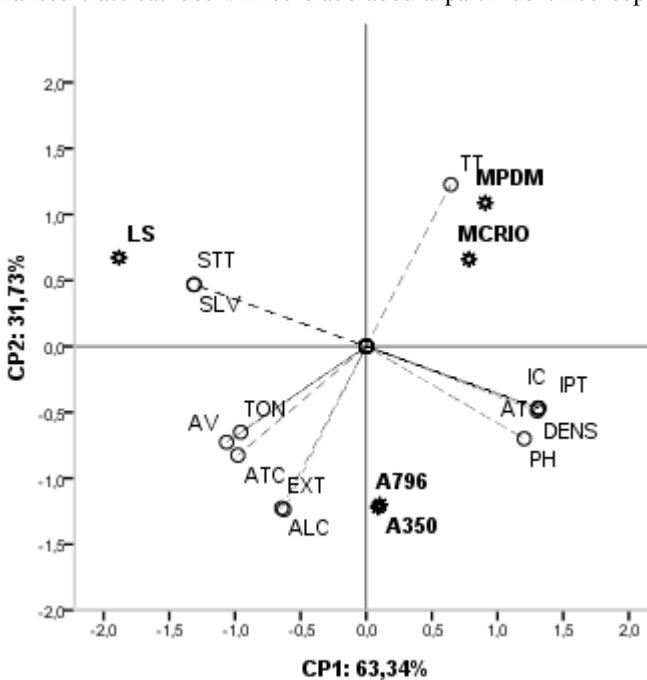
As concentrações encontradas para taninos variaram nos vinhos de acordo com a levedura utilizada apresentando o maior valor para o vinho da cepa MPDM,  $0,62 \text{ g L}^{-1}$ . As leveduras A350 e A796 se destacaram por apresentar em seus vinhos os menores teores de taninos,  $0,28$  e  $0,30 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. Oliveira (2012) quando analisou vinhos elaborados com Syrah provenientes de diferentes porta-enxertos e épocas de colheita, encontrou concentrações de até  $0,43 \text{ g L}^{-1}$ .

Os valores para o índice de polifenóis totais encontrados nos vinhos mostraram diferença significativa entre todos os tratamentos com exceção dos que utilizaram as cepas A350 (53,5) e MPDM (54,5) que formaram um grupo estatístico diferenciado. Os resultados obtidos foram equivalentes aos encontrados nos vinhos analisados por Oliveira (2012).

As características cromáticas de intensidade de cor e tonalidade obtidas pela leitura da absorbância a 420, 520 e 620 nm são válidas para vinhos jovens, pois apresentam absorção máxima a 520 nm (cor vermelha) e mínima a 420 nm (cor amarela) (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Cabrita et al. (2003) afirmaram que a intensidade e a tonalidade da cor levam em conta as contribuições das cores vermelha (520 nm) e amarela (420 nm) para a cor global, mas a cor azul (620 nm) deve ser considerada em vinhos com pH próximo a 4,0. Para esse parâmetro foram encontrados valores compreendidos entre 8,29 (LS) e 11,43 (A350). Os maiores valores foram encontrados nos vinhos elaborados com a cepa A350 e A796, 11,43 e 11,42, respectivamente. Este comportamento também é verificado com os valores encontrados para o IPT. Os valores encontrados para tonalidade não diferenciaram entre os tratamentos, apresentando valor médio de 0,7.

Na ACP obtida com os resultados das análises clássicas dos vinhos tintos elaborados com diferentes cepas de levedura (Figura 9), pode-se observar que houve discriminação entre os tipos de leveduras. Os dois primeiros componentes principais explicaram 95,07% da variabilidade total. A componente principal-CP1 separou os vinhos elaborados com as leveduras MPDM, MCRI0, A350 e A 796, localizados na parte positiva do eixo x, dos vinhos originados da levedura LS, do lado negativo do eixo x. Os parâmetros analíticos que explicam esta variabilidade foram identificados como taninos totais (TT), IPT, densidade (DENS), índice de cor (IC), acidez total (AT) e pH, na parte positiva da CP1, e dióxido de enxofre livre (SLV) e total (STT), acidez volátil (AV) e antocianinas totais (ATC), na parte negativa da CP1. Esta separação também pode ser visualizada na Tabela 5 onde as concentrações encontradas para o dióxido de enxofre livre e total foi maior nos vinhos elaborados pela cepa LS. As concentrações de acidez volátil e antocianinas totais também foram maiores para os vinhos elaborados com esta levedura, juntamente com a cepa A796.

Figura 9: Análise de Componentes Principais (ACP) realizada a partir das análises clássicas dos vinhos elaborados a partir de cinco cepas de levedura.



\*Vinhos com fermentação alcoólica conduzida por: LS = leveduras selvagens; A350 = maurivin awri 350; A796 = maurivin awri 796; MCRIO = mycoferm crio sp; MPDM = maurivin pdm; antocianinas totais (ATC); índice de polifenóis totais (IPT); taninos totais (TT); índice de cor (IC); tonalidade (TON); teor alcoólico (ALC); dióxido de enxofre livre (SLV); dióxido de enxofre total (STT); acidez volátil (AV); pH (PH); acidez total (AT); densidade (DEN); extrato seco (EXT).

A CP2 separou os vinhos elaborados pelas cepas de leveduras MPDM, MCRIO e LS, localizados na parte positiva do eixo y, dos vinhos elaborados pelas cepas de leveduras A796 e A350, localizados na parte negativa do eixo y. Os parâmetros analíticos que explicaram esta variabilidade foram identificados como taninos totais (TT), dióxido de enxofre livre (SLV) e total (STT), na parte positiva da CP2, e extrato seco (EXT), álcool (ALC), IPT, densidade (DENS), índice de cor (IC), acidez total (AT) e pH, na parte negativa da CP2.

### 4.3 COMPOSTOS VOLÁTEIS

O perfil aromático dos vinhos Syrah elaborados estão apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6. Dos 27 compostos aromáticos analisados, 24 apresentaram diferenças significativas entre os vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras.

#### 4.3.1 Ésteres

Os resultados encontrados para a concentração de ésteres nos vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras podem ser observados na Tabela 4. O estudo estatístico dos compostos analisados apresentou diferença significativa entre os vinhos elaborados com as cepas estudadas.

Os teores de butirato de etila não apresentaram diferenciação estatística entre os diferentes tratamentos. O valor médio mais elevado ( $0,19 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi encontrado nos vinhos fermentados com a cepa A350. O menor valor foi detectado nos vinhos fermentados com a cepa MCRI0 ( $0,13 \text{ mg L}^{-1}$ ). Conforme Cabanis et al. (2003) os teores de butirato de etila em vinhos tintos variam de  $0,02$  a  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

O acetato de isoamila é um dos mais importantes ésteres encontrados nos vinhos, sua característica olfativa lembra aroma de banana e sua origem é a esterificação dos álcoois isoamílicos (Torres-Alegre, 1985). Os vinhos que apresentaram as maiores concentrações desse composto foi o elaborado com a cepa LS, com teor médio de  $2,73 \text{ mg L}^{-1}$ , seguida dos da cepa A350, com  $1,78 \text{ mg L}^{-1}$ . Os vinhos das cepas A796, MCRI0 e MPDM não apresentaram diferença significativa entre suas concentrações médias variando de  $0,7$  a  $0,98 \text{ mg L}^{-1}$ . Segundo Cabanis et al. (2003) os teores mínimo e máximo em vinhos tintos são de  $0,2$  a  $1 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os teores de hexanoato de etila apresentaram diferença significativa nos vinhos analisados. De acordo com a tabela 3, o vinho elaborado com a cepa LS apresentou o menor valor médio com  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$  e o vinho da cepa MPDM apresentou a maior concentração com valor médio de  $0,34 \text{ mg L}^{-1}$ . Estes teores encontram-se dentro dos limites citados na literatura. Segundo Cabanis et al. (2003) os teores mínimo e máximo encontrados nos vinhos tintos são de  $0,07$  a  $1,1 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os valores encontrados para acetato de hexila mostraram que os vinhos das cepas MCRI0 e MPDM apresentaram as maiores concentrações desses compostos,  $0,165$  e  $0,166 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

O octanoato de etila não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O maior valor médio encontrado foi o apresentado pelo vinho da cepa MPDM com  $0,59 \text{ mg L}^{-1}$ . Os valores encontrados são considerados muito baixos em relação a outros tipos de vinho, portanto constatou-se que este composto possui influência reduzida no perfil aromático deste tipo de vinho. Conforme Cabanis et al. (2003), em vinhos tintos, os teores podem variar de  $0,5$  a  $3,4 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os teores de decanoato de etila variaram significativamente entre os tratamentos empregados. Como pode-se observar na tabela 4, os vinhos que apresentaram os teores mais elevados foram os fermentados com as cepas MCRIO e MPDM, com  $0,22$  e  $0,23 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. O menor valor encontrado foi para o vinho da cepa A350 com  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ . Os valores encontrados nesse trabalho foram bem abaixo dos encontrados na literatura consultada. Segundo Cabanis et al., (2003) os teores mínimo e máximo em vinhos tintos são de  $0,3$  e  $1,8 \text{ mg L}^{-1}$ .

Para os resultados de acetato de feniletila, que confere notas aromáticas de mel, os vinhos elaborados com a cepa LS apresentou a maior concentração deste éster com  $1,201 \text{ mg L}^{-1}$ . Das demais cepas de levedura empregadas, a maior concentração nos vinhos não ultrapassou  $0,304 \text{ mg L}^{-1}$  (A350).

O dodecanoato de etila apresentou pouca diferenciação entre os diversos tratamentos. Os vinhos que apresentaram os teores mais elevados foram os fermentados com as cepas MCRIO e MPDM (teor médio de  $0,22 \text{ mg L}^{-1}$ ). Conforme Cabanis et al. (2003) os teores em vinhos tintos podem variar de  $0,1$  a  $5 \text{ mg L}^{-1}$ .

Quanto ao dietil succinato, os teores apresentaram diferenciações significativas. De acordo com a tabela 3, os vinhos fermentados com as cepas A350 e A796 apresentaram as maiores médias com  $2,88$  e  $2,81 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. Os vinhos elaborados com as cepas LS e MPDM apresentaram os menores valores médios de  $1,68 \text{ mg L}^{-1}$ . Segundo Cabanis et al. (2003) os teores de dietil succinato em vinhos tintos variam de  $0,5$  a  $8,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

O acetato de etila é o éster encontrado em maior quantidade no vinho, seu teor depende das condições de fermentação e conservação dos vinhos, (Rizzon, 1985). Os teores de acetato de etila encontrados nos vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras variaram significativamente. O menor teor médio foi encontrado no vinho da cepa MCRIO ( $33,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), seguida pelos das cepas A796 e MPDM ( $34,0$  e  $34,3 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente). O tratamento que apresentou a maior concentração de acetato de etila foi o vinho elaborado com a cepa LS

com 71,9 mg L<sup>-1</sup>. Segundo Cabanis et al., (2003) os níveis de acetato de etila em vinhos tintos variam de 41 a 180 mg L<sup>-1</sup>. Os teores de acetato de etila encontrados mostram que a cepa de levedura interfere significativamente na quantidade deste composto. Plata et al., (2005) estudaram a influência da glicose e do oxigênio na formação de acetato de etila durante a fermentação alcoólica concluindo que as condições fermentativas influenciam diretamente os teores de desse composto.

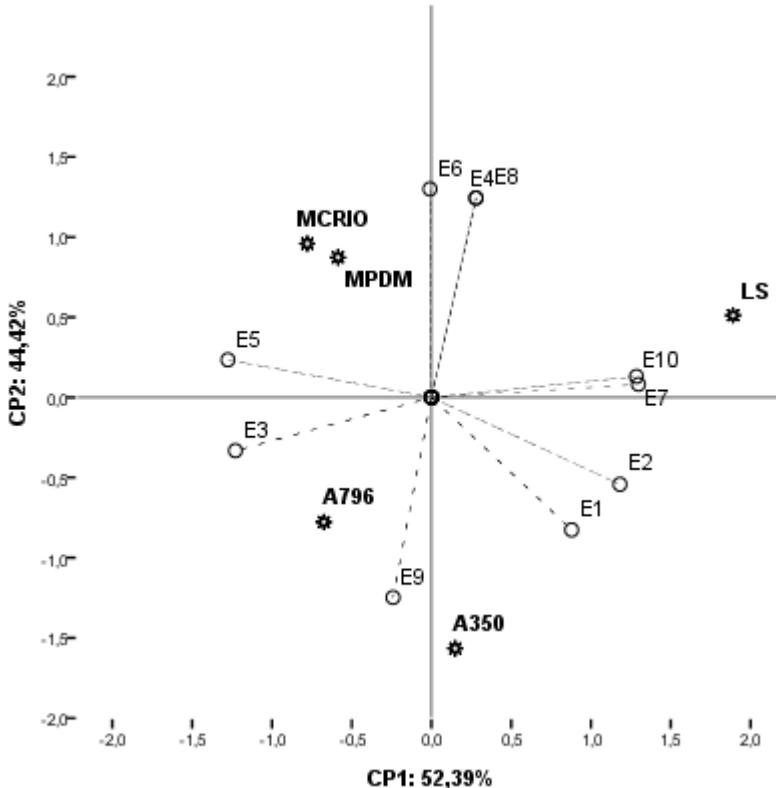
Tabela 6 – Ésteres identificados e dosados em vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.

Variáveis (mg L <sup>-1</sup> )	Tratamentos				
	LS	A350	A796	MCRIO	MPDM
Butirato de etila	0,162 a	0,197 a	0,148 a	0,130 a	0,149 a
Acetato de isoamila	2,732 a	1,779 ab	0,985 b	0,702 b	0,753 b
Hexanoato de etila	0,200 c	0,302 ab	0,228 bc	0,270 abc	0,339 a
Acetato de hexila	0,008 b	0,001 b	0,000 b	0,165 a	0,166 a
Octanoato de etila	0,145 a	0,160 a	0,214 a	0,314 a	0,595 a
Decanoato de etila	0,076 b	0,027 c	0,075 b	0,226 a	0,238 a
Acetato de feniletila	1,201 a	0,304 b	0,263 b	0,281 b	0,113 c
Dodecanoato de etila	0,008 b	0,000 b	0,005 b	0,224 a	0,223 a
Dietil succinato	1,685 c	2,883 a	2,816 ab	2,201 bc	1,685 c
Acetato de etila	71,88 a	47,57 b	34,02 c	33,07 c	34,35 c

\* Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. \*\*Leveduras selvagens (LS), Maurivin awri 350 (A350), Maurivin awri 796 (A796), Mycoferm crio sp (MCRIO), Maurivin pdm (MPDM).

Na Análise de Componentes Principais (ACP) obtida com os resultados das análises dos compostos aromáticos ésteres dos vinhos tintos elaborados com diferentes cepas de levedura (Figura 10), pode-se observar que houve também uma boa discriminação entre os tipos de leveduras. Os dois primeiros componentes principais explicaram 96,81% da variabilidade total. A componente principal-CP1 separou os vinhos elaborados com a levedura LS localizados na parte positiva do eixo x, dos vinhos originados das leveduras MPDM, MCRIO e A 796, localizados do lado negativo do eixo x.

Figura 10: Análise de Componentes Principais (ACP) realizada a partir dos ésteres determinados nos vinhos elaborados a partir de cinco cepas de levedura.



\* Vinhos com fermentação alcoólica conduzida por: LS = leveduras selvagens; A350 = maurivin awri 350; A796 = maurivin awri 796; MCRIO = mycoferm crio sp; MPDM = maurivin pdm; E1=butirato de etila; E2=acetato de isoamila; E3=hexanoato de etila; E4=acetato de hexila; E5=octanoato de etila; E6=decanoato de etila; E7=acetato de feniletina; E8=dodecanoato de etila; E9=dietil succinato; E10=acetato de etila.

Os ésteres que explicam a variabilidade da CP1 foram identificados como acetato de etila (E10), acetato de feniletina (E7), e acetato de isoamila (E2), na parte positiva da CP1, e hexanoato de etila (E3) e octanoato de etila (E5), na parte negativa da CP1.

A CP2 separou os vinhos das leveduras MCRIO, MPDM e LS, localizados na parte positiva do eixo y, dos vinhos das leveduras A796 e A350, localizados na parte negativa do eixo y. Os parâmetros analíticos que explicam esta variabilidade foram identificados como decanoato de

etila (E6) e acetato de hexila (E4), na parte positiva da CP2, e dietil succinato (E9), butirato de etila (E1) e hexanoato de etila (E3), na parte negativa da CP2.

Correlacionando esses resultados da ACP com o encontrado na Tabela 4 verificamos que a CP1 explica bem a separação do vinho elaborado com cepa LS que apresentou as maiores concentrações encontradas para o acetato de isoamila ( $2,73 \text{ mg.L}^{-1}$ ), acetato de feniletina ( $1,20 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e o acetato de etila ( $71,88 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

### 4.3.2 Ácidos graxos

Foram identificados e dosados 7 (sete) ácidos graxos nos vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras. A Tabela 5 mostra as concentrações encontradas e o estudo estatístico realizado.

Os valores encontrados para ácido isobutírico mostraram diferença significativa entre os tratamentos empregados. Com destaque para o vinho elaborado pela cepa LS com valor médio de  $4,08 \text{ mg L}^{-1}$  equivalente a pouco menos do dobro do teor encontrado para os vinhos da cepa MCRIO ( $2,06 \text{ mg L}^{-1}$ ) que apresentou menor concentração desse ácido. Cortés & Blanco (2011) encontraram concentração de  $1,18 \text{ mg L}^{-1}$  para vinhos com fermentação alcoólica conduzida por leveduras selvagens e  $1,69 \text{ mg L}^{-1}$  para os vinhos elaborados com leveduras comerciais.

Os valores encontrados para o ácido butírico apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. Variando as concentrações de  $0,91 \text{ mg L}^{-1}$  para os vinhos da cepa LS e,  $1,54 \text{ mg L}^{-1}$  para os da cepa A796. Cortés & Blanco (2011) também encontraram menores concentrações desse ácido nos vinhos com fermentação alcoólica conduzida por leveduras selvagens.

O ácido isovalérico apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Os valores médios mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentados com as cepas A796 e MCRIO com teor médio de  $1,85 \text{ mg L}^{-1}$  e com a cepa A350 ( $1,73 \text{ mg L}^{-1}$ ) diferindo estatisticamente dos vinhos fermentados com as cepas LS e MPDM que apresentaram um valor médio de  $1,00 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,41 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

O ácido hexanóico é um importante metabólito da fermentação em *Saccharomyces*. Seus teores estão diretamente relacionados com a atividade fermentativa e apresentaram diferenciação estatística significativa entre os tratamentos. O vinho que obteve o teor mais elevado foi o fermentado com a cepa MPDM com valor médio de  $2,71 \text{ mg L}^{-1}$ , seguida das cepas A796 e A350 com  $2,33$  e  $2,17 \text{ mg L}^{-1}$

respectivamente. Cortés & Blanco (2011) encontrou teor médio de 3,10 mg L<sup>-1</sup> em vinhos elaborados por fermentação espontânea e 2,43 mg L<sup>-1</sup> para o vinho elaborado por levedura comercial.

O ácido octanóico é um constituinte importante no perfil fermentativo, também é muito relacionado às paradas de fermentação nos vinhos. Os teores de ácido octanóico variaram significativamente em relação à cepa de levedura. Os vinhos que apresentaram os teores mais elevados foram os fermentados com as cepas MPDM e A796 com 2,03 e 1,88 mg L<sup>-1</sup> respectivamente. O vinho elaborado com cepa LS apresentou a menor concentração entre os tratamentos com teor médio de 1,09 mg L<sup>-1</sup>. Um comportamento diferenciado foi encontrado por Cortés & Blanco (2011) encontrando o maior teor médio (5,07 mg L<sup>-1</sup>), desse ácido, no vinho elaborado por leveduras selvagens.

Quanto ao ácido decanóico o teor mais elevado foi o constatado no vinho fermentado com a cepa LS com 1,15 mg L<sup>-1</sup>. Os menores teores foram identificados para os vinhos elaborados com as cepas MCRIO (0,38 mg L<sup>-1</sup>) e MPDM (0,47 mg L<sup>-1</sup>).

Para o ácido dodecanóico o vinho elaborado com a cepa de levedura A350 não apresentou formação desse ácido. Os demais vinhos formaram 2 (dois) grupos distintos estatisticamente. Os vinhos das cepas LS e A793 apresentaram teor médio de 0,30 mg L<sup>-1</sup>, enquanto os das cepas MCRIO e MPDM mostraram teor médio de 0,20 mg L<sup>-1</sup>.

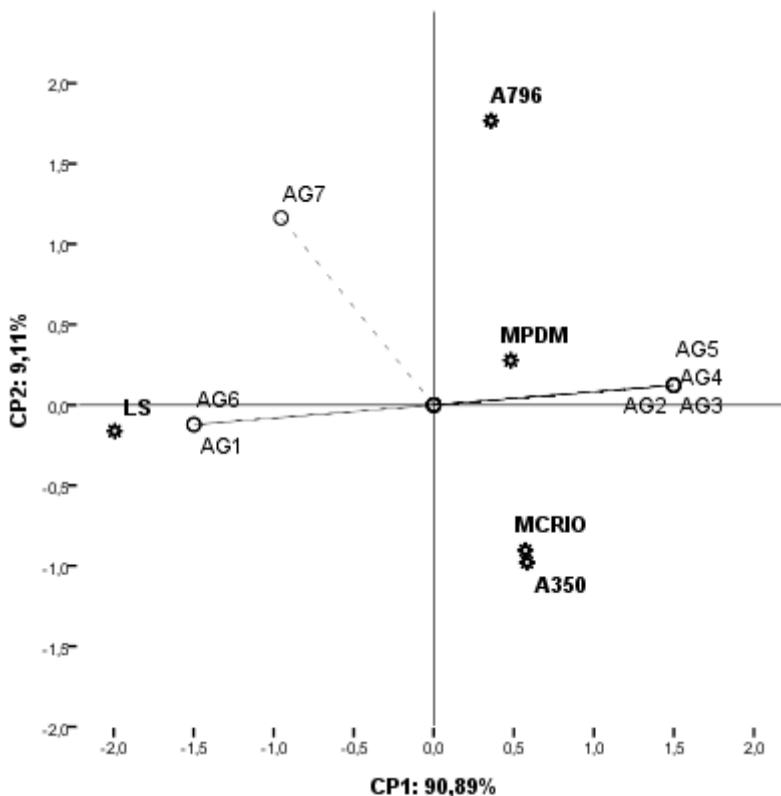
Tabela 5 - Ácidos graxos identificados e dosados em vinhos tintos da variedade Syrah elaborado com diferentes cepas de levedura.

Variáveis (mg L <sup>-1</sup> )	Tratamentos				
	LS	A350	A796	MCRIO	MPDM
Ácido isobutírico	4,089 a	1,292 c	1,618 bc	2,061 b	1,137 c
Ácido butírico	0,917 b	1,426 a	1,545 a	1,424 a	1,269 ab
Ácido isovalérico	1,002 b	1,740 a	1,854 a	1,857 a	1,419 ab
Ácido hexanóico	1,193 c	2,170 ab	2,331 ab	1,994 b	2,713 a
Ácido octanóico	1,091 c	1,548 b	1,883 a	1,197 c	2,030 a
Ácido decanóico	1,154 a	0,937 ab	0,778 abc	0,382 c	0,476 bc
Ácido dodecanóico	0,301 a	nd	0,300 a	0,252 b	0,258 b

\* Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. \*\*Leveduras selvagens (LS), Maurivin awri 350 (A350), Maurivin awri 796 (A796), Mycoferm crio sp (MCRIO), Maurivin pdm (MPDM).

Na Análise de Componentes Principais (ACP) obtida com os resultados das análises dos compostos aromáticos ácidos graxos dos vinhos tintos elaborados com diferentes cepas de levedura (Figura 11), pode-se observar que houve também uma boa discriminação entre os tipos de leveduras. Os dois primeiros componentes principais explicaram 100% da variabilidade total.

Figura 11: Análise de Componentes Principais (ACP) realizada a partir dos ácidos graxos determinados nos vinhos elaborados a partir de cinco cepas de levedura.



\* Vinhos com fermentação alcoólica conduzida por: LS = leveduras selvagens; A350 = maurivin awri 350; A796 = maurivin awri 796; MCRIO = mycoferm crio sp; MPDM = maurivin pdm; AG1=ácido isobutírico; AG2=ácido butírico; AG3=ácido isovalérico; AG4=ácido hexanóico; AG5=ácido octanóico; AG6=ácido decanóico; AG7=ácido dodecanóico.

A componente principal-CP1 separou os vinhos elaborados com as leveduras MPDM, MCRIO, A350 e A 796, localizados na parte positiva do eixo x, dos vinhos originados da levedura LS, do lado negativo do eixo x. Os parâmetros analíticos que explicam a variabilidade da CP1 foram identificados como o ácido isoalérico (AG3), ácido hexanóico (AG4), ácido octanóico (AG5) e ácido butírico (AG2), na parte positiva da CP1, e ácido isobutírico (AG1), ácido decanóico (AG6) e ácido dodecanóico (AG7), na parte negativa da CP1.

A CP2 separou os vinhos das leveduras A796 e MPDM, localizados na parte positiva do eixo y, dos vinhos elaborados a partir de leveduras MCRIO e A350, localizados na parte negativa do eixo y. Os parâmetros analíticos que explicam esta variabilidade foram identificados como ácido dodecanóico (AG7), na parte positiva da CP2, enquanto que nenhum composto foi fortemente representado na parte negativa de CP2.

Correlacionando o resultado apresentado na ACP com os valores da Tabela 5, é possível observar que a parte negativa da CP1 explica bem a separação da cepa LS das demais e mostra que isso ocorre, principalmente, pelas maiores concentrações do ácido isobutírico ( $4,09 \text{ mg L}^{-1}$ ) e do ácido decanóico ( $1,15 \text{ mg L}^{-1}$ ) apresentadas por essa cepa.

Prosseguindo a correlação, as cepas A350 e MCRIO foram separadas pela CP2 e podemos observar junto a Tabela 5 que isso ocorre pela menor produção de ácido dodecanóico apresentado por estas cepas.

### 4.3.3 Álcoois superiores

A Tabela 6 apresenta os valores de álcoois superiores obtidos dos vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras.

Considerando o acetaldeído, valores em torno de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  foram encontrados nos vinhos e mostraram diferença significativa entre as cepas de leveduras utilizadas para a fermentação. Para Cabanis et al. (2003), os teores médios de acetaldeído em vinhos tintos encontram-se no intervalo de 23 e  $66 \text{ mg L}^{-1}$ . Moreira et. al. (2005) realizaram um estudo testando diferentes espécies de leveduras em relação aos compostos voláteis, onde os teores de acetaldeído encontrados oscilaram entre 93 e  $68 \text{ mg L}^{-1}$  em fermentações puras e de 81 a  $39 \text{ mg L}^{-1}$  em fermentações de culturas mistas.

Os teores de acetaldeído encontrados nos vinhos elaborados com diferentes cepas de levedura foram condizentes com os estudos disponíveis em literatura. Porém, de uma maneira geral, apresentaram valores muito próximos das menores concentrações citadas. Falcão

(2007) encontrou valores de até 126,6 mg L<sup>-1</sup> quando analisou vinhos da cv. Cabernet Sauvignon do estado de Santa Catarina. O vinho elaborado com a cepa de levedura LS se destacou entre os vinhos analisados por apresentar a menor concentração desse composto com 14,15 mg L<sup>-1</sup>.

O hexanol não apresentou diferença estatística significativa entre os vinhos fermentados com diferentes cepas, variando as concentrações encontradas entre 1,29 mg L<sup>-1</sup>, para os vinhos das cepas A796 e MPDM, e 1,71 mg L<sup>-1</sup> para os da cepa LS (tabela 3). Valores próximos foram encontrados por Falcão (2007). Segundo Ribéreau-Gayon et al.(2003) este álcool seria responsável por notas herbáceas de uvas não maduras, no entanto, os teores são muito baixos. Conforme Cabanis et al. (2003), em vinhos tintos os valores variam de 0,3 a 10 mg L<sup>-1</sup>.

O 2-fenil etanol é formado pela levedura durante o processo fermentativo, originário do metabolismo dos açúcares. Seus teores dependem da cepa de levedura, das condições fermentativas e da composição química dos mostos. Possui, como principal descritor aromático odor de rosas e seu teor médio, segundo Ribéreau-Gayon et al, (2003), é de 50 mg L<sup>-1</sup>. Neste trabalho, os níveis mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentado com as cepas LS, A350, A796 e MCRIO (60,7; 58,5; 59,8 e 67,7 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente) diferindo estatisticamente do vinho da cepa MPDM que apresentou a menor concentração com 39,0 mg L<sup>-1</sup>. Segundo Cabanis et al. (2003) os teores em vinhos tintos variam de 10 a 183 mg L<sup>-1</sup>.

O metanol encontrado nos vinhos é resultante da ação enzimática na hidrólise das pectinas através das enzimas pectolíticas. Seus teores em vinhos *Vitis vinifera* variam de 60 a 150 mg L<sup>-1</sup> (Ribéreau-Gayon et al., 2003). O teor máximo de metanol segundo a legislação brasileira vigente é de 350 mg L<sup>-1</sup> (Brasil, 1998). Conforme a tabela 3, o vinho que obteve a menor média foi o fermentado pela cepa LS, apresentando 116,03 mg L<sup>-1</sup>, seguidos pelas cepas A350 (122,6 mg L<sup>-1</sup>) e A796 (128,8 mg L<sup>-1</sup>), e as cepas MCRIO e MPDM apresentaram as maiores concentrações com 178,3 e 170,4 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Segundo Cabanis et al. (2003) os teores mínimo e máximo de metanol nos vinhos tintos são de 43 e 320 mg L<sup>-1</sup>. O teor de metanol sofre um incremento importante quando são extrapolados o tempo de maceração e a dose de enzima pectolítica (Pedruzzi, 2004). As concentrações encontradas nesse trabalho estão bem abaixo do limite máximo estabelecido por legislação.

Os teores de 1-propanol variaram significativamente em relação aos tratamentos. O vinho elaborado com a cepa MCRIO apresentou a menor concentração com 17,7 mg L<sup>-1</sup>. Os vinhos das cepas A796 e

MPDM tiveram comportamento similar e apresentaram valores médios de 42,7 e 45,4 mg L<sup>-1</sup>. A maior concentração foi apresentado pelo vinho da cepa A350 com 51,6 mg L<sup>-1</sup>. Segundo Cabanis et al. (2003) nos vinhos tintos os valores oscilaram entre 11 e 68 mg L<sup>-1</sup>.

Os teores de 2-metil-1-propanol variaram significativamente entre os tratamentos com destaque para o vinho elaborado pela cepa LS que apresentou a maior concentração com 88,0 mg L<sup>-1</sup>. As demais cepas de levedura apresentaram em seus vinhos valores entre 21,3 a 30,2 mg L<sup>-1</sup>, MPDM e A350, respectivamente. De acordo com Cabanis et al. (2003) os teores mínimo e máximo de 2-metil-propanol em vinhos tintos são de 9 a 148 mg L<sup>-1</sup>.

O 2-metil-1-butanol também conhecido como álcool amílico ativo apresentou variação significativa entre as diferentes cepas de leveduras utilizadas na fermentação. As cepas que apresentaram os maiores valores em seus vinhos foram a LS, A350 e A796, com 56,3; 52,9 e 44,6 mg L<sup>-1</sup> respectivamente. Concentrações inferiores foram apresentadas pelos vinhos das cepas MCRIO e MPDM, com 22,1 e 18,3 mg L<sup>-1</sup>. Segundo Cabanis et al. (2003) os teores mínimo e máximo nos vinhos tintos são de 18 e 150 mg L<sup>-1</sup> respectivamente.

Observando o 3-metil-1-butanol, também conhecido como álcool isoamílico inativo, as diferentes cepas de leveduras mostraram comportamentos distintos em relação a sua formação. O vinho que apresentou o maior concentração foi o elaborado com a cepa MPDM, com valor médio de 274,5 mg L<sup>-1</sup>, seguido pelo vinho da cepa A350 com 263,5 mg L<sup>-1</sup>. A menor concentração foi apresentada pelo vinho da cepa LS com 217,8 mg L<sup>-1</sup>. Os teores de 3-metil-1-butanol em vinhos tintos franceses variam de 49 a 490 mg L<sup>-1</sup> (Cabanis et al. 2003).

Tabela 6 - Álcoois superiores identificados e dosados em vinhos tintos da variedade Syrah elaborado com diferentes cepas de levedura.

Variáveis (mg L <sup>-1</sup> )	Tratamentos				
	LS	A350	A796	MCRIO	MPDM
Acetaldeído	14,15 c	16,26 bc	22,04 ab	24,67 a	19,87 abc
Hexanol	1,711 a	1,474 a	1,298 a	1,606 a	1,296 a
Cis-3-hexanol	0,132 a	0,120 a	0,112 a	0,010 b	0,003 b
Trans-3-hexanol	0,284 a	0,205 b	0,189 b	0,087 c	0,072 c
2-fenil-etanol	60,75 a	58,50 a	59,85 a	67,72 a	39,06 b
Metanol	116,03 b	122,61 b	128,76 b	178,35 a	170,42 a
1-propanol	27,86 c	51,59 a	42,67 b	17,75 d	45,37 ab
2-metil-1- propanol	88,04 a	30,20 b	25,88 bc	24,49 bc	21,27 c
2-metil-1-butanol	56,29 a	52,92 a	44,56 b	22,10 c	18,33 c
3-metil-1-butanol	217,84 c	263,48 ab	236,05 bc	237,26 bc	274,51 a

\* Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. \*\*Leveduras selvagens (LS), Maurivin awri 350 (A350), Maurivin awri 796 (A796), Mycoferm crio sp (MCRIO), Maurivin pdm (MPDM).

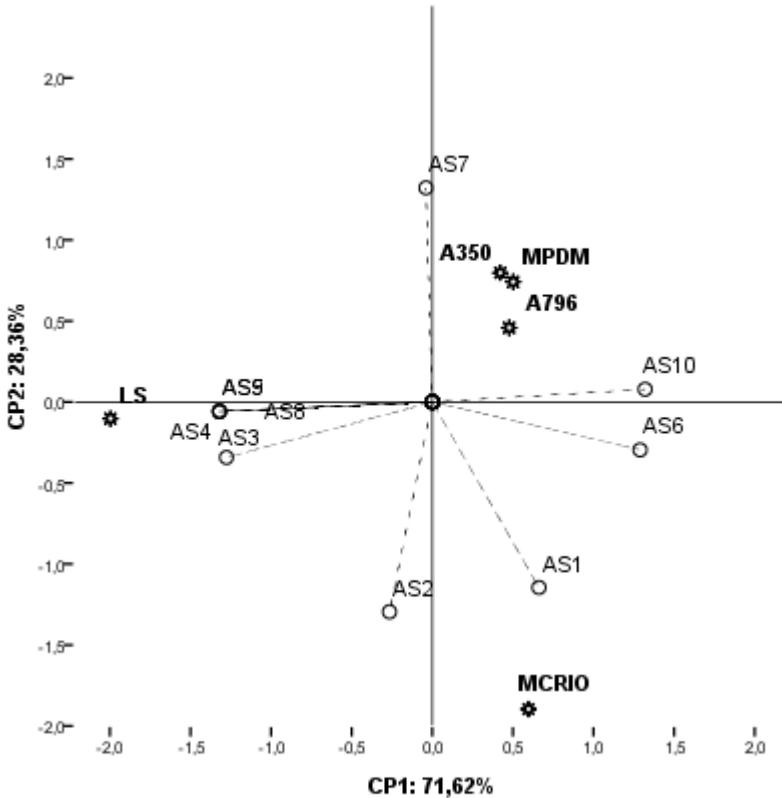
Na Análise de Componentes Principais (ACP) obtida com os resultados das análises dos compostos aromáticos ácidos graxos dos vinhos tintos elaborados com diferentes cepas de levedura (Figura 11), pode-se observar que houve também uma boa discriminação entre os tipos de leveduras. Os dois primeiros componentes principais explicaram 99,98% da variabilidade total. A componente principal-CP1 separou os vinhos elaborados com as leveduras MPDM, A796, A350 e MCRIO, localizados na parte positiva do eixo x, dos vinhos originados da levedura LS, do lado negativo do eixo x. Os parâmetros analíticos que explicam a variabilidade da CP1 foram identificados como 3-metil-1-butanol (AS10), metanol (AS6) e acetaldeído (AS1), na parte positiva da CP1, e cis-3-hexanol (AS4), hexanol (AS3), 2-metil-1-butanol (AS9) e 2-metil-1-propanol (AS8), na parte negativa da CP1.

A CP2 separou os vinhos das leveduras A350, MPDM e A796, localizados na parte positiva do eixo y, dos vinhos elaborados a partir de leveduras MCRIO, localizados na parte negativa do eixo y. Os

parâmetros analíticos que explicam esta variabilidade foram identificados como o 1-propanol (AS7), na parte positiva da CP2, enquanto que o acetaldeído (AS1) e o 2-fenil-etanol (AS2), representaram os vinhos da levedura MCRIO, na parte negativa da CP2.

Assim como na análise de componentes principais, a análise estatística da Tabela 6 também deixa clara a influência das cepas LS e A796 na concentração do ácido dodecanóico (AS7) no seus respectivos vinhos.

Figura 12: Análise de Componentes Principais (ACP) realizada a partir dos álcoois superiores determinados nos vinhos elaborados a partir de cinco cepas de levedura.



\* Vinhos com fermentação alcoólica conduzida por: LS = leveduras selvagens; A350 = maurivin awri 350; A796 = maurivin awri 796; MCRIO = mycoferm crio sp; MPDM = maurivin pdm; AS1=acetaldeído; AS2=2-fenil-etanol; AS3=hexanol; AS4=cis-3-hexanol; AS5=trans-3-hexanol; AS6=metanol;

AS7=1-propanol; AS8=2-metil-1-propanol; AS9=2-metil-1-butanol; AS10=3-metil-1-butanol.

Realizando uma correlação entre o estudo estatístico apresentado na ACP (Figura 12) e a Tabela 6 verificamos a parte negativa da CPI separa a cepa LS das demais devido à esta levedura apresentar as maiores concentrações de cis-3-hexanol ( $0,132 \text{ mg L}^{-1}$ ), hexanol ( $1,71 \text{ mg L}^{-1}$ ), 2-metil-1-propanol ( $88,04 \text{ mg L}^{-1}$ ) e 2-metil-1-butanol ( $56,29 \text{ mg L}^{-1}$ ). Inversamente, a cepa MCRIO é separada pela parte negativa da CP2 por apresentar as maiores concentrações de acetadeído ( $24,67 \text{ mg L}^{-1}$ ) e 2-fenil-etanol ( $67,72 \text{ mg L}^{-1}$ ).

#### 4.4 COMPOSIÇÃO FENÓLICA

Os compostos fenólicos analisados nos vinhos elaborados diferiram significativamente, conforme apresentados na Tabela 7.

Para os valores encontrados de delphinidina o estudo estatístico mostrou diferença significativa entre as cepas de leveduras, pode-se observar que o teor médio desse composto foi de  $1,20 \text{ mg L}^{-1}$  para os vinhos elaborados com a cepa LS, apresentando a maior concentração, enquanto as demais cepas não ultrapassaram a concentração média de  $0,40 \text{ mg L}^{-1}$  em seus vinhos. Valores encontrados por Nikfardjam, et al. (2005), quando avaliaram vinhos húngaros da variedade Syrah, foram bem mais expressivos com concentrações de até  $152 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os valores encontrados de cianidina não apresentaram diferença estatística significativa entre os vinhos das cepas de leveduras estudadas. Os maiores teores foram encontrados para os vinhos das cepas LS ( $0,33 \text{ mg L}^{-1}$ ) e A350 ( $0,37 \text{ mg L}^{-1}$ ). A menor concentração foi apresentada no vinho da cepa cepa MCRIO com  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ . Nikfardjam, et al. (2005), quando avaliaram vinhos húngaros da variedade Syrah, encontrou concentração de  $8,3 \text{ mg L}^{-1}$ , valor bem maior dos encontrados nos vinhos desse estudo.

As concentrações de pelargonidina encontradas nos vinhos estudados mostraram diferença significativa entre as cepas de leveduras utilizadas na fermentação alcoólica. Pode-se observar, na tabela 4, que o maior teor médio foi encontrado para o vinho da cepa de levedura LS com  $1,62 \text{ mg L}^{-1}$  seguida do vinho da cepa A350 com  $0,62 \text{ mg L}^{-1}$ . A cepa MPDM apresentou em seu vinho o menor teor médio com  $0,40 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os vinhos elaborados com as cepas LS e A350 tiveram o mesmo comportamento quando observado os valores para a peonidina, onde as

cepas apresentaram os maiores teores médios com 1,62 e 0,83 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A menor concentração média foi observada no vinho da cepa MPDM (0,37 mg L<sup>-1</sup>). As concentrações encontradas por Nikfardjam, et al. (2005) chegaram a 128,0 mg L<sup>-1</sup>.

A malvidina, antocianina mais presente nos vinhos, apresentou diferença significativa entre os vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras. O vinho da cepa LS teve seu teor médio superior ao encontrado pelos vinhos fermentados pelas demais cepas, apresentando concentração de 6,67 mg L<sup>-1</sup> seguida da cepa A350 com 5,17 mg L<sup>-1</sup>. Formando um grupo diferenciado, o vinho da cepa MPDM apresentou a menor concentração com teor médio de 2,00 mg L<sup>-1</sup>. Nikfardjam, et al. (2005) encontraram concentrações de até 1810,0 mg L<sup>-1</sup> nos vinhos da cv. Syrah que estudaram.

As concentrações encontradas para a catequina mostraram diferença entre os vinhos elaborados com diferentes cepas de levedura. O vinho da cepa LS apresentou o maior teor médio com 23,43 mg L<sup>-1</sup>, enquanto o vinho da cepa MCRIO apresentou a menor concentração com 12,68 mg L<sup>-1</sup>. Os vinhos das cepas A796 e MPDM tiveram comportamento próximo com teor médio de 16,17 e 15,53 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Nikfardjam, et al. (2005) encontraram concentração superior no vinho da cv. Syrah estudado, com teor médio de 68,2 mg L<sup>-1</sup>.

Os valores médios da epicatequina não se diferenciaram estatisticamente, porém, observa-se na Tabela 7 que o vinho elaborado com a cepa de levedura LS apresentou um teor médio de 2,91 mg L<sup>-1</sup> enquanto as demais cepas tiveram a concentração desse composto variando de 4,68 mg L<sup>-1</sup>, para o vinho da A796, e 4,20 mg L<sup>-1</sup> para o da cepa A350.

Para os teores médios de procianidina A2 o vinho da cepa de levedura LS apresentou a menor concentração com 0,85 mg L<sup>-1</sup>, formando um grupo estatístico distinto dos vinhos das demais cepas. Os vinhos das cepas A350 e A796 apresentaram 2,97 e 1,83 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. As maiores concentrações foram observadas na MCRIO (3,42 mg L<sup>-1</sup>) e MPDM (3,62 mg L<sup>-1</sup>).

Os teores de procianidina B2 apresentaram diferença significativa entre os vinhos das cepas de levedura estudadas. Os valores variaram de 13,75 mg L<sup>-1</sup> e 12,23 mg L<sup>-1</sup> para o vinho da cepa A350 e LS, respectivamente, e 3,93 mg L<sup>-1</sup> para o vinho da cepa MCRIO. Nikfardjam, et al. (2005) encontraram para esse composto concentração de 65,6 mg L<sup>-1</sup>.

As concentrações de epicatequina galato mostraram diferença significativa entre os vinhos elaborados com diferentes cepas de leveduras. O maior teor médio foi encontrado para o vinho elaborado com a cepa MCRI0 com  $2,33 \text{ mg L}^{-1}$  e o menor para o da cepa LS com  $1,40 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os teores médios de caempferol mostraram diferença significativa entre os tratamentos empregados. A maior concentração foi identificada nos vinhos elaborados pela cepa A350 com  $11,17 \text{ mg L}^{-1}$ . As menores concentração foram encontradas nos vinhos das cepas MPDM ( $6,95 \text{ mg L}^{-1}$ ) e LS ( $7,23 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Os valores encontrados para a quercetina, mostraram diferença significativa entre os vinhos, apresentando o vinho da cepa LS com o maior teor médio,  $7,75 \text{ mg L}^{-1}$ . A cepa MCRI0 foi responsável pelo menor valor médio encontrado no seu vinho com  $2,18 \text{ mg L}^{-1}$ .

Considerando a rutina, as concentrações encontradas mostraram diferença significativa entre os vinhos elaborados. A cepa A350 apresentou em seu vinho a maior concentração com  $12,08 \text{ mg L}^{-1}$ , seguida dos vinhos das cepas A796 ( $10,03 \text{ mg L}^{-1}$ ), LS ( $9,47 \text{ mg L}^{-1}$ ), MPDM ( $8,95 \text{ mg L}^{-1}$ ) e MCRI0 ( $8,68 \text{ mg L}^{-1}$ ). Nikfardjam, et al. (2005) encontraram concentração de  $15,5 \text{ mg L}^{-1}$  no vinho da cv. Syrah que estudaram.

Os resultados encontrados de ácido benzóico apontaram que o vinho elaborado com a cepa LS apresentou a menor concentração desse composto, apresentando teor médio  $5,43 \text{ mg L}^{-1}$ . As demais cepas apresentaram em seus vinhos  $10,95$ ;  $9,87$ ;  $9,02$  e  $8,78 \text{ mg L}^{-1}$  para a A350, A796, MCRI0 e MPDM, respectivamente.

O ácido siríngico apresentou (tabela 7) teores médios com diferença significativa em seus resultados. O vinho elaborado com a cepa A350 se destacou por apresentar a maior concentração desse composto com  $24,50 \text{ mg L}^{-1}$ . O menor teor médio foi encontrado para a cepa MPDM com  $10,90 \text{ mg L}^{-1}$ .

O vinho da cepa LS apresentou a menor concentração de ácido gálico com  $13,73 \text{ mg L}^{-1}$ . Os demais tratamentos empregados variaram suas concentrações de  $18,72 \text{ mg L}^{-1}$ , para o vinho da cepa A350, a  $20,83 \text{ mg L}^{-1}$  para o da cepa A796.

O ácido caféico apresentou diferença estatística entre os vinhos elaborados as cepas de levedura estudadas. A maior concentração foi observada para o vinho da cepa A350 com  $15,20 \text{ mg L}^{-1}$ . Os demais vinhos variaram as concentrações de  $12,67 \text{ mg L}^{-1}$ , para o da cepa MCRI0, a  $14,20 \text{ mg L}^{-1}$  para o da A796. Nikfardjam, et al. (2005) encontraram concentração de  $24,4 \text{ mg L}^{-1}$ .

Os resultados observados na tabela 7 mostram que a cepa de levedura não influenciou na concentração de resveratrol dos vinhos obtidos. Variando sua concentração de 1,52 mg L<sup>-1</sup>, para o vinho da cepa LS, a 1,95 mg L<sup>-1</sup> para o vinho da cepa A350. Estudo realizado por Souto et al. (2001) com vinhos finos brasileiros mostrou uma variação de 0,82 a 5,75 mg L<sup>-1</sup> para vinhos da variedade Cabernet Sauvignon e Sangiovese, respectivamente.

Tabela 7 - Composição fenólica de vinhos tintos da variedade Syrah elaborados com diferentes cepas de levedura.

Variáveis (mg L <sup>-1</sup> )	Tratamentos				
	LS	A350	A796	MCRIO	MPDM
<b>Flavonóides</b>					
<i>Antocianinas</i>					
Delfinidina	1,20 a	0,40 b	0,40 b	0,30 b	0,40 b
Cianidina	0,33 a	0,37 a	0,17 a	0,10 a	0,17 a
Pelargonidina	1,62 a	0,62 b	0,55 b	0,48 b	0,40 b
Peonidina	1,62 a	0,83 ab	0,50 b	0,47 b	0,37 b
Malvidina	6,67 a	5,17 ab	3,28 bc	4,20 abc	2,00 c
<i>Flavanóis</i>					
Catequina	23,43 a	19,50 ab	16,17 bc	12,68 c	15,53 bc
Epicatequina	2,91 a	4,20 a	4,68 a	4,22 a	4,23 a
Procianidina A2	0,85 c	2,97 a	1,83 b	3,42 a	3,62 a
Procianidina B1	14,38 a	11,50 a	8,80 a	7,88 a	9,35 a
Procianidina B2	12,23 a	13,75 a	10,90 ab	3,93 c	6,83 bc
Epigalocatequina galato	3,27 a	3,28 a	2,32 a	2,98 a	3,87 a
Epicatequina galato	1,40 c	2,17 ab	1,97 ab	2,33 a	1,80 b
<i>Flavonóis</i>					
Caempferol	7,23 c	11,17 a	9,23 b	8,03 bc	6,95 c
Quercetina	7,75 a	4,83 ab	4,48 b	2,18 b	3,15 b
Rutina	9,47 b	12,08 a	10,03 b	8,68 b	8,95 b
<b>Não-flavonóides</b>					
Ác. Benzóico	5,43 b	10,95 a	9,87 a	9,02 a	8,78 a
Ác. Siríntrico	19,03 a	24,50 a	17,87 ab	11,40 bc	10,90 c

Ác. Gálico	13,73 c	18,72 b	20,83 a	18,73 b	19,42 ab
Ác. Clorogênico	3,52 a	3,57 a	3,32 a	2,82 a	3,57 a
Ác. Caféico	13,60 bc	15,20 a	14,20 ab	12,67 c	13,35 bc
Ác. Cumárico	2,68 b	2,95 ab	2,53 b	2,68 b	3,60 a
Ác. Cinâmico	0,13 b	0,20 a	0,18 ab	0,15 ab	0,17 ab
Resveratrol	1,52 a	1,95 a	1,83 a	1,85 a	1,63 a

\* Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. \*\*Leveduras selvagens (LS), Maurivin awri 350 (A350), Maurivin awri 796 (A796), Mycoferm crio sp (MCRIO), Maurivin pdm (MPDM).

Na Análise de Componentes Principais (ACP) obtida com os resultados das análises dos compostos fenólicos dos vinhos tintos elaborados com diferentes cepas de levedura (Figura 13), pode-se observar que houve também uma boa discriminação entre os tipos de leveduras. Os dois primeiros componentes principais explicaram 90,45% da variabilidade total. A componente principal-CP1 separou os vinhos elaborados com a cepa LS, localizada na parte positiva do eixo x, das cepas de leveduras MPDM, A796 e MCRIO, localizados na parte negativa do eixo x. Os parâmetros analíticos que explicam a variabilidade da CP1 foram identificados como cianidina (CIAN), procianidina B2 (PROB2), ácido siríngico (ASIRIN), ácido clorogênico (ACLOR), pelargonidina (PEL), peonidina (PEON), quercetina (QUERC), catequina (CATE), delfinidina (DEL), procianidina (PROB1), malvidina (MALV), na parte positiva da CP1, e o ácido benzoico (ABENZ), epicatequina (EPICAT), epicatequina galato (EPIGAGA), ácido gálico (AGÁL), resveratrol (RESV), ácido cumárico (ACUM), epigallocatequina galato (EPIGAGAL), na parte negativa da CP1.

A CP2 separou o vinho da levedura A350 localizado na parte positiva do eixo y, dos vinhos elaborados a partir das leveduras LS, MCRIO e MPDM, localizados na parte negativa do eixo y. Os parâmetros analíticos que explicam esta variabilidade foram identificados como o ácido benzoico (ABENZ), a rutina (RUTI), o ácido caféico (ACAFE), o caempferol (CAEMP), a cianidina (CIAN), a procianidina B2 (PROB2), o ácido siríngico (ASIRIN), o ácido clorogênico (ACLOR), a pelargonidina (PEL) e a peonidina (PEON), na parte positiva da CP2, enquanto que a epigallocatequina galato (EPIGAGAL), o ácido cumárico (ACUM), a malvidina (MALV), a procianidina B1 (PROB1) e a delfinidina (DEL), na parte negativa do



Realizando a correlação entre a ACP realizada e a Tabela 7 a separação da cepa LS das demais leveduras pela parte positiva da CP1é explicada também nos resultados das concentrações dos compostos que explicam essa variabilidade para esta cepa, principalmente, para os compostos pelargonidina (1,62 mg.L<sup>-1</sup>), peonidina (1,62 mg.L<sup>-1</sup>), quercetina (7,75 mg.L<sup>-1</sup>), catequina (23,43 mg.L<sup>-1</sup>), delphinidina (1,20 mg.L<sup>-1</sup>), procianidina B1 (14,38 mg.L<sup>-1</sup>) e malvidina (6,67 mg.L<sup>-1</sup>).

## 5 CONCLUSÕES

Os vinhos elaborados a partir de leveduras selvagens apresentaram uma cinética fermentativa mais lenta entre as cepas de leveduras estudadas.

A composição físico-química de todos os vinhos elaborados com diferentes cepas de levedura apresentaram valores dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. O estudo confirma a influência da cepa de levedura nos parâmetros analíticos determinados.

Observando a composição volátil, contou-se a grande influência da cepa de levedura na formação aromática dos vinhos. A cepa de levedura LS se destacou entre os compostos aromáticos por apresentar a maior concentração de acetato de isoamila, acetato de feniletina, acetato de etila, ácido isobutírico e 2-metil-propanol, valores bem a cima do encontrado nas outras cepas.

As cepas de levedura aplicadas influenciaram diretamente na composição fenólica dos vinhos. Foi possível observar que a cepa LS se destacou apresentando maiores concentrações de delphinidina, peonidina, malvidina e catequina.

Apesar de ter conduzido uma fermentação mais lenta, o uso de leveduras selvagens deve ser considerado por empresas comerciais, no intuito de buscar valorizar a tipicidade de vinhos tropicais do Vale do Submédio São Francisco, expressando características próprias e uma identidade regional.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de diferentes cepas de leveduras, entre comerciais e selvagens, pode permitir o aumento da complexidade de vinhos, podendo ser utilizados como vinhos varietais ou cortes, o que poderá colaborar com uma melhoria da qualidade e tipicidade dos vinhos tropicais do nordeste do Brasil.

Torna-se necessário ainda a realização de trabalhos complementares, que estudem outras safras e variedades, bem como diferentes épocas do ano e também em vinhos brancos, de maneira a buscar melhor compreender a influência da cepa de levedura utilizada sobre as características analíticas e sensoriais de vinhos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J.A.S., VIEIRA, S.M. Efeitos da cianamida hidrogenada na brotação de videira cv. Itália na região semi-árida do Vale do São Francisco. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9, 739-744. Sociedade Brasileira de Fruticultura, Campinas-SP. 1987.

AMERINE, A.; JOSLYN, M. A. Composition of grapes and distribution of phenolics from table wines, the technology of their production. Berkeley: University of California Press, 1987. p 234-238.

AMORIM, H. V. LEÃO, R. M. **Fermentação alcoólica: ciência e tecnologia**. Piracicaba: Fermentec, 2005.

AMORIM, D. A.; REGINA, M. A.; FAVERO, A. C.; MOTA, R. V.; PEREIRA, G. E. Elaboração de vinho tinto fino. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 27, n. 234, p. 65-76, 2006.

ANDRIETTA, S. R.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, M. G. S. Study of flocculent yeast performance in tower reactors for bioethanol production in a continuous fermentation process with no cell recycling. **Bioresource Technology**, v 99, p. 3002-3008, 2008.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, p.232-240, 2007.

AOAC – **Official methods of analysis of AOAC International**. 16º ed., São Paulo, v.2, p.16. 1998.

ARAÚJO, A. J. B. **Avaliação da influência da época do ano e da variedade sobre as características analíticas de vinhos tropicais elaborados no vale do submédio São Francisco**. 2010. 117f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) – Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, 2010.

BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation Technologies from sugar and starch feed stocks. **Biotechnology Advances**. p.89-105, 2008.

BAMFORTH, C.W. The Science Underpinning Food Fermentations. In: **Food, Fermentation and Micro-organisms**. Blackwell Science Ltd, 2005. Chapter 3.p.89-105.

BAUMES, R. Aromas: Los constituintes volátiles de la etapa fermentativa. Cap.5. In: FLANZY, C. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Madrid: Ediciones A. Madrid Vicente, Ediciones Mundi-Prensa. 1ª edición, 2000. 783p.

BAYONOVE, C. Aromas. In: FLANZY, C (Ed.). Enología, Fundamentos Científicos y Tecnológicos. Madrid: Mundi-Prensa: AMV Ediciones, 2000. p. 245-300.

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

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução a química de alimentos**. São Paulo: Varela, 2ª ed., 1992. 223p.

BOULTON, R.B.; SINGLETON, V.L.; BISSON, L.F. KUNKEE, R.E. Yeast and biochemistry of ethanol fermentation. In: BOULTON, R.B. **Principles and Practices of Winemaking**, p.139–172, 1996.

BOULTON, R. B.; SINGLETON, V. L.; BISSON, L. F.; KUNKEE, R. E. **Teoría y Práctica de La Elaboración Del Vino**. Editorial Acribia, S.A., Zagarosa, Espanha, 2002. 636p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria nº 229 de 25 de outubro de 1988. Aprova norma referente à “complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho”. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>> Acesso em: 15 fev. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria no. 283, de 18 de junho de 1998. Aprova normas e procedimentos para o

registro de estabelecimento, bebidas e vinagres, inclusive vinhos e derivados da uva e do vinho e expedição dos respectivos certificados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 22 jun. 1998. Seção 1, n.106.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Lei nº 10970, de 12 de novembro de 2004. Normas referentes à complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e dos derivados da uva e do vinho. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br> > Acesso em: 20/10/2012.

CABANIS, J.C.; CABANIS, M.T.; CHEYNIER, V.; TEISSEDE P.L.(2003). **Tablas de composición**. In: Flanzy, C. (2 ed.) **Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos**. Madrid. Mundi-prensa.pp. 218-231.

CABRITA, M. J., SILVA, J. R., LAUREANO, O. **Os Compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos**. In: I SEMINARIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. Instituto Superior de Agronomia, Universidad Técnica De Lisboa. 2003.

CAILLÉ, S.; SAMSON, A.; WIRTH, J.; DIÉVAL, J.-B. ; VIDAL, S.; CHEYNIER, V. **Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling**. *Analytica Chimica Acta*, doc.: 10.1016/j.aca.2009.11.049. 2009.

CANDOT, Y.; CAILLÉ, S.; SAMSONC, A.; BARBEAUA, G.; CHEYNIERB, V. Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by Quantitative Descriptive Analysis, Just About Right analysis and typicality assessment. **Analytica Chimica Acta** (2009), doi: 10.1016/j.aca.2009.10.006.

CANTOS, E.; ESPIN, J. C.; TOMÁS-BARBERAN, F. A. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivares studies by LC-DAD-MS-MS. *J. Agr. Food Chem.*, v.50, p.5691-5696, 2002.

CATALUÑA, E. **Uvas e vinhos**. Rio de Janeiro: Ed. Globo, 1984.

CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M.; SARNI-MANCHADO, P. Los compuestos fenólicos. **In:** FLANZY, C. *Enología: Fundamentos*

científicos y tecnológicos. Madrid: Ediciones A. Madrid Vicente, Ediciones Mundi-Prensa. 1ª edición, 2000. 783p.

CHEYNIER, V.; TEISSEDE, P.L. Tablas de composición. **In:** FLANZY, C. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid: Ediciones A. Madrid Vicente, Ediciones Mundi-Prensa. 1ª edición, 2000. 783p.

CORTÉS, S.; BLANCO, P. Yeast strain effect on the concentration of major volatile compounds and sensory profile of wines from *Vitis vinifera* var. Treixadura. **World J Microbiol Biotechnol** (2011) 27, p. 925-932.

DELFINI, C. **Scienza e Técnica di Microbiologia Enologica**. Asti, Itália: Il Livieto, 1995. 631p.

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

DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 5-6, p. 577-588, 2001.

DORNELES, D. **Influência do emprego de variedades de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de vinho tinto de uva Terci oriunda do município de Colombo-PR**. 2003. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Semiárido. Acesso dia 20/03/2013: [www.cpatsa.embrapa.br:8080/bhsf/labagrometeorologia/index.php?opcao=dados](http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/bhsf/labagrometeorologia/index.php?opcao=dados).

EPAGRI. Normas técnicas para o cultivo da videira em Santa Catarina. Florianópolis: Epagri, 2004 (Normas técnicas).

ESTEVE-ZARZOZO, B.; GOSTINCAR, A.; BOBET, R.; URUBURU, F.; QUEROL, A. Selection and molecular characterization of wine

yeasts isolated from the “El Penedez” area (Spain). **Food Microbiology**, v. 17, p. 553-562, 2000.

ETIÉVANT, P. X. Wine. In: **Volatile Compounds of Food and Beverages**. H. Maarse (Ed.), Marcel Dekker Inc: New York, p. 483-546, 1991.

EVERINTEC. **Lieviti selezionati**. Disponível em: <<http://www.everintec.it/it/lieviti-selezionati.html#mycoferm>> Acesso em 7 de janeiro de 2012.

FALCÃO, L. D. **Caracterização analítica e sensorial de vinhos Cabernet Sauvignon de diferentes altitudes de Santa Catarina**. 2007. 175p. Tese (Doutorado em Ciência dos alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

FLANZY, C. **Enologia: Fundamentos Científicos y tecnológicos**. Madrid: Mundi Prensa, 2000. 783 pág.

FLEET, G. H. The microorganisms of winemaking: isolation enumeration and identification. In: FLEET, G. H. **Wine microbiology and biotechnology**. Chur: Harwood Academic Publishers, p. 1-27, 1993.

FLEET, G.H.; HEARD, G.M. Yeasts: Growth during fermentation. Chapter 2. In: FLEET, G.H. **Wine: Microbiology and Biotechnology**. Switzerland: Harwood Academic Publishers. 1ª ed, 1994. 510p.

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, n. 86, p. 11-22, 2003.

FLEET, G.H. Wine yeasts for the future. **FEMS Yeast**, v.8, n.7, p.979–995, 2008.

GARCIA, A.S.C. **Controlo de Qualidade de los Vinos – Química Enológica y métodos analíticos**. Instituto de la Viña e del Vino, 1988.

GASTORNI, W. FILHO, V. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo – SP. Editora Blucher, volume1. 215 p. 2010.

GIRARD, G. **Bases científicas y tecnológicas de La enología**. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, Espanha, p.31, 2004.

GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A.; GONZÁLEZ, R.; QUEROL, A.; SENDRA, J.; RAMÓN, D. Construction of a recombinant wine yeast strain expressing b-(1,4)-endoglucanase and its use in microvinification processes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 2801-2806, 1993.

GUTH, H.; SIES, A. Flavour of wines: towards an understanding by reconstitution experiments and an analysis of ethanol's effect on odors activity of key compounds. **Australian Wine**, p.128-139, 2002.et

HARBERTSON, J.; SPAYD, S. **Measuring phenolics in the winery**. American Journal Enological and Viticulture, n. 57, p. 280-288, 2006.HARBORNE, 1994.

HARSCH, M.J. **Identification of yeast genes involved in sauvignon blanc aroma development**. 2009, 207p. Thesis was submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Biological Sciences- University of Auckland.

HASHIZUME, T. Situação atual da vitivinicultura do Brasil. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, n.31, p.65-78, 1972.

HASHIZUME, T. Tecnologia do Vinho. In: BORZANI, W. et al. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, v. 4, p. 21-68, 2001.

HENSCHKE, P.A.; JIRANEK, V. Yeast - Metabolism of nitrogen compounds. Capítulo 4. p.77-164. **In: FLEET, G.H.** Wine microbiology and biotechnology. Sydney: Harwood academic publishers. 1994. 510p

HORECKER, B.L.The Pentose Phosphate Pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n.50, p.47965-47971, 2002.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Em: Mello, L, M, R. **Viticultura brasileira: Panorama 2011**. Embrapa: Comunicado técnico-115. ISSN 1808-6802. p. 2. Bento Gonçalves (2012).

IBRAVIN. Disponível em <http://www.ibravin.org.br/regioesprodutoras.php>. Acesso em 04/02/2013.

JACKSON, R. S. **Wine Science: principles and applications**. San Diego, Ed. Academic Press, Inc., 1994, 475p.

JACKSON, R. S. Wine science: Principles, practice and perception. 2.ed. San Diego, C.A: Elsevier Academic Press, 2000. 647p.

JACKSON, R. S. **Wine Science: Principles, Practice, Perception**. San Diego, Third edition, Academic Press, 2008.702p.

JOSHI, V. K.; PANDEY, A. **Biotechnology: food fermentation**. New Delhi: Educational Publishers & Distributors, 1999. v. 2. p. 647-744.

KOVAC, V.; ALONSO, E.; BOURZEIX, M.; REVILLA, E. Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.40, p.1953-1957, 1992.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Editora Sarvier, 1995. 725p.

LEONE, A. M., LA NOTTE, E., GAMBACORTA, G. (1984). Gli antociani nelle fasi di macerazione e di elaborazione del vino. L'influenza della tecnica diffusiva sulla loro estrazione. *Vignevini*, 4, 17.

LEPE, S. J. A., **Leveduras vinicas – Funcionalidade y uso em bodega**. Madrid: Mundi Prensa, 1997.

LEPE, J. A. S; LEAL, I. B. Microbiologia enológica: Fundamentos de vinificación. 3. ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2004. 761 p.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: LIMA, U. A. (Coord). *Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blucher, p. 1-43, v 3. 2001.

LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. Álcool carburante: Uma estratégia brasileira. Curitiba: Editora UFPR, 248p., 2002.

LIMA, L.L.A. **Caracterização e estabilização dos vinhos elaborados no Vale do Submédio do São Francisco**. Tese-doutorado, UFPE. Recife-PE. 2010.

LOPES, C. A.; VAN B, M., QUEROL, A. CABALLERO, A.C. *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast populations in a cold region in Argentinean Patagonia: a study at different fermentation scales. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, p. 608-615, 2002.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Biology of microorganisms**. 9. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2004.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 79, p.727-747, 2003.

MANLY, B.F.J. **Métodos estatísticos multivariados**: uma introdução. Porto Alegre: Artmed, 2008, 229p.

MAURICIO, J. C.; MORENO, J. Z.; ORTEGA, J. M. The effects of grape must fermentation conditions on volatile alcohols and esters formed by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 75, p. 155-160, 1997.

MAURIVIN. **Active dried yeast**: wine. Disponível em: <<http://www.maurivinyeast.com/yeast.aspx?id=1&menu=open&parentid=282&menuid=283>>. Acesso em 7 de janeiro de 2012.

MERCOSUL. Resolução 45/1996 do GMC. Regulamento Vitivinícola do Mercosul. In: Ibravin. **Legislação vitivinícola**. Bento Gonçalves: Ibravin, 2002.

MOREIRA, N.; MENDES, F.; HOGG, T.; VASCONCELOS, I. (2005). Alcohols, esters and heavy sulphur compounds production by pure and mixed cultures of apiculate wine yeasts. **International Journal of Food Microbiology**. 103: 285-294.

NAVARRÉ, C. L. **Oenologie**. Paris: Lavoisier.322p. 1991

NIKFARDJAM, M. S. P.; MÁRK, L.; AVAR, P.; FIGLER, M.; OHMACHT, R. Polyphenols, anthocyanins, and trans-resveratrol in red wines from the Hungarian Villány region. **Food Chemistry** (2005), doi:10.1016/j.foodchem.2005.06.014.

NYKÄNEN, L. Formation and Occurrence of Flavor Compounds in Wine and Distilled Alcoholic Beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 37, n. 1, p. 84-96, 1986.

O.I.V. **Recueil des methodes internacionales d'analyse des vins et des moûts**. Office Internacional de la vigne et du vin, Paris. 1990.

OLIVEIRA, J. B. **Influência do clima, porta-enxerto e clones sobre as características analíticas e sensoriais de vinhos tropicais cv. Syrah**. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) – Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, 2012.

PATO, O. **O vinho: sua preparação e conservação**. 10ª edição. Lisboa: Clássica Editora, 1998.

PEDRUZZI, I. (2004). Efeito da adição de enzimas na vinificação de Cabernet Sauvignon e Merlot. **Dissertação de mestrado**. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, Brasil.

PEREIRA, G. E. Contribution de la chimométrie a la caractérisation des fruits: application des profils métaboliques du raisin a l'étude des effets du climat, du sol et du cépage. **Tese de Doutorado**, Menção Ciências Biológicas e Médicas, Opção Viticultura-Enologia, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, França, 2005, 178 p.

PEREIRA, G. E.; GAUDILLERE, J.-P.; VAN LEEUWEN, C.; HILBERT, G.; MAUCOURT, M.; DEBORDE, C.; MOING, A.; ROLIN. Microclimate influence on mineral and metabolic profiles of grape berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6765-7-6775, 2006.

PEREIRA, G. E.; GUERRA, C. C.; MANFROI, L. Vitivinicultura e Enologia. In: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. **A Vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina: EMBRAPA Semi-Árido, 2009. 756 p.

PEYNAUD, E. **Connaissance et travail du vin**. Editora Dunod, Paris, 341p., 1997.

PISKUR, J. et al. How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer? **TRENDS in Genetics**. v. 22, p. 183-186, 2006.

PLATA, C.; MAURICIO, J.C.; MILLAN, C.; ORTEGA, J.M. (2005). Influence of glucose and oxygen on the production of ethyl acetate and isoamyl acetate by a *Saccharomyces cerevisiae* strain during alcoholic fermentation. **World Journal of Microbiologi & Biotechnology**. 21: 115-121.

PRETORIUS, I. S. Tailoring wine yeast for the new millenium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v. 16, n. 8, p. 675-729, 2000.

PRICE, S. F.; BREEN, P. J.; VALLADAO, M.; WATSON, B. T. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot nois grapes and wine. **Am. J. Enol. Viticult.** v.46, p.187-194, 1995.

QUEROL, A.; FERNÁNDEZ-ESPINAR, M.T.; OLMO,M.; BARRIO,E. Adaptive evolution of wine yeast. **International Journal of Food Microbiology**, v. 86, p. 3-10, 2003.

RADLER, F. Yeasts – metabolism of organic acids. In FLEET, G.H. **Wine Microbiology and Biotechnology**. Harwood Academic Publishers, chapter 5, p. 165–182, 1993.

RANKINE, B. **Manual Práctico de Enología**. Editorial ACRIBIA, S.A., Zagarosa, Espanha, 2000.

RAPP, A.; VERSINI, G. (1991). Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In: International Symposium on Nitrogen in Grapes and wine. Anais. pp. 156-164. Washinton. 1991.

RENAUD, S.; LORGERIL, M. Wine, alcohol, plateles and the French Paradox for coronary heart disease. **Lancet**, v.339, p.1523-1526, 1992.

RIBÉREAU – GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. **Tratado de Enologia- Microbiologia del vino**

**vinificaciones.** Editorial Emisfério Sur, Buenos Aires, vol. 1, 2003. 655 pág.

RIZZON, L.A.(1985). Incidence de la macération sur la composition chimique des vins. **Thèse de doctorat en oenologie-ampélogie**, Université de Bordeaux II, Bordeaux, France.

RIZZON, L. A.; SGANZERLA, V. M. A. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves-RS. *Ciência Rural*, v.37, n.3, p. 911-914, Santa Maria, 1997.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. Cabernet Franc para a elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.21, n.2, p.249-255, 2001

RIZZON, L. A. ZANUZ, M. C.; MANFREDINI, S. **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade.** Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 2003. 36p.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.. **Características analíticas de vinhos Merlot da Serra Gaúcha.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.6, p.1913-1916, set, 2009.

SHIRAHIGUE, L. D. **Caracterização química dos extratos de semente e casca de uva e seus efeitos antioxidantes sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração.** 2008, 94f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo - ESALQ, Piracicaba, 2008.

SILVA, M.A.A. da; SILVA, G. A. da. **Leveduras nacionais selecionadas para elaboração de vinho.** Circular técnica 14, Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 1987. p. 19.

SOARES, J.M. LEÃO, P.C.S. **A Vitivinicultura no Semiárido Brasileiro.** Embrapa, 2009, 756p.

SOUZA, J. S. I. de. **Uvas para o Brasil.** 2. ed. Piracicaba FEALQ. 791 p. 1996.

SOUZA, M. A.; RIBEIRO, M. Z; SILVA, D.P; PESSOA, Jr. A.; VITOLO, M. Effect of pH on the stability of hexokinase and glucose-6-

phosphate dehydrogenase. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, Totowa, v98/100, p265-272, 2000.

SWIEGERS, J.H.; CHAMBERS, P.J..; PRETORIUS, I.S. Olfaction and taste: Human perception, physiology and genetics. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.11, n. 2, p.109-113, 2005.

TEIXEIRA, A. H. C.; AZEVEDO, P. V.. Zoneamento agroclimático para a videira europeia no estado de Pernambuco, Brasil.. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria-RS, v. 4, n. 1, p. 139-145, 2006.

TEIXEIRA, A. H. de C. **Informações Agrometeorológicas do Polo Petrolina, PE/Juazeiro, BA - 1963 a 2009**. Série Documentos - Embrapa Semiárido, 2010 21p.

TOGORES, J.H. (2003). Tratado de Enología. 1 ed. Madrid: Mundi-prensa. 1423p.

TONIETTO, J., TEIXEIRA, A. H. C. Zonage climatique dès périodes viticoles de production dans l'année em zonage tropicale: application de la méthodologie du Système CCM Géoviticole. In: **Joint International Conference on Viticultural Zoning**, Cape Town, Siuth África [S.I.: s.n.], 2004. p.193-201

TONIETTO, J.; PEREIRA, G. E. A concept for the viticulture of “tropical wines”. In: **Proceedings of the IXth International Terroir Congress**, Dijon and Reims, France, 2012, p. 34-37.

TORIJA, M. J. **Ecologia de levaduras: selección y adaptación a fermentaciones vnicas**. Tarragona, 2002. 260 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Facultat d’Enologia, Universitat Rovira i Virgili.

TORRES-ALEGRE, V. M. (1982). Formation des acides gras et autres produits secondaires au cours de la vinification. Interprétation statistique des resultants. **Thèse de doctorat en oenologieampéologie**. Université de Bordeaux II, Bordeaux, France.

TORRIANI, S.; ZAPPAROLI, G.; MALACRINÓ, P.; SUZZI, G.; DELLAGLIO, F. Rapid identification and differentiation of *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* and their hybrids by

multiplex PCR. **Letters in Applied Microbiology**. v. 38, p. 239-244, 2004.

UGLIANO, M. HENSCHKE, P. A. Yeasts and Wine Flavour. In: MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. **Wine Chemistry and Biochemistry**, 2009.

USSEGLIO-TOMASSET, L. **Química enológica**. 4ª edição. Madrid: Ediciones Mundi Prensa, 1998. 400p.

VALADE, M. **Las levaduras seleccionadas, aliadas en el control de calidad del vino** – La Semana Vitivinícola – Revista técnica de interés permanente, nº3.082 – Setembro, 2005. pág. 3038 a 3041.

ZAMBONELLI, C. **Microbiologia e biotecnologia dei vini**. 2ª edizione. Itália:Edagricole,1998.

ZAMORA, F. **Biochemistry of Alcoholic Fermentation**. In: Moreno-Arribas, M, V.; Polo, M, C. **Wine Chemistry and Biochemistry**.cap.1. p.7-20. New York. Springer (2009).

ZUZUARREGUI, A.; OLMO, M. Expression of stress response genes in wine strains with different fermentative behavior. **FEMS Yeast research**, v. 4, p. 699-710, 2004.

ZOECKLEIN, B. W. et al. **Wine analysis and production**. New York: Chapman & Hall, 621p. 1994.