

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

**EFEITO DA LEVEDURA E DA ADIÇÃO DE NUTRIENTE
SOBRE O PERFIL AROMÁTICO DO VINHO TINTO BORDÔ
“IVES”**

André Miguel Gasparin

Caxias do Sul, (2005)

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

André Miguel Gasparin

**EFEITO DA LEVEDURA E DA ADIÇÃO DE NUTRIENTE
SOBRE O PERFIL AROMÁTICO DO VINHO TINTO BORDÔ
“IVES”**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Biotecnologia da Universidade de
Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de
Mestre em Biotecnologia
Orientadora: Dra. Regina Vanderlinde
Co-orientador: Dr. Juan Carrau Bonomi**

Caxias do Sul

2005

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Vinícola Don Affonso por possibilitar a realização deste trabalho através da doação das uvas e da disponibilização do tempo necessário para realização da pesquisa.

Também agradeço de forma especial ao IBRAVIN, ao seu presidente executivo Sr. Carlos Paviani, e toda diretoria pela concessão da bolsa de trabalho e pelo apoio recebido durante a realização do mesmo.

Ao Laboratório de Referência Enológica (LAREN) e a Secretaria da Agricultura e Abastecimento (SAA DPV) do estado do Rio Grande do Sul, os quais foram de grande importância para o sucesso deste estudo. De forma especial ao Sr. Plínio Manosso e a Sra. Vera Kloss.

A Universidade de Caxias do Sul de modo especial aos professores do programa de pós graduação em Biotecnologia, que em todas as horas souberam compartilhar seus conhecimentos com sabedoria e dedicação.

Não poderia deixar de mencionar todos aqueles que de uma forma ou outra fizeram parte desta etapa de minha vida, minha orientadora Dra. Regina Vanderlinde pela confiança depositada em mim. Aos colegas de mestrado que passaram junto comigo por todas etapas até o fim. Aos colegas do LAREN, Ângela, Sandra, Laurien, Israel, Graziela, Fernanda, Paula, Elisangela, Fernando, Alessandra, Vanessa e Cleusa, que sem eles eu nunca concluiria esta etapa, enfim a todos que de uma forma ou de outra foram importantes neste período.

Também agradeço de forma especial às pessoas que considero como ícones da pesquisa enológica e microbiológica que me auxiliaram nas horas mais difíceis, Dr. Luiz Antenor Rizzon, Dr. Sérgio Echeverrigarai e Dr. Juan Carrau Bonomi.

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo a todos os bons vitivinicultores brasileiros que a mais de 100 anos, vem desbravando novos caminhos, com bravura e enfrentando as dificuldades encontradas, dando exemplo de perseverança e trabalho, aos quais me incluo também.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Ficha técnica do ativador de fermentação Actibiol Special

Anexo 2: Ficha técnica das leveduras AWRI 796, FR 95 e PDM

Anexo 3: Ficha de degustação

Anexo 4: Tabelas estatísticas referentes a cepa de levedura

Anexo 5: Tabelas estatísticas referentes ao ativador de fermentação

Anexo 6: Tabela estatística do ativador de fermentação em relação a levedura Benda II

Anexo 7: Tabela estatística do ativador de fermentação em relação a levedura AWRI 796

Anexo 8: Tabela estatística do ativador de fermentação em relação a levedura FR 95

Anexo 9: Tabela estatística do ativador de fermentação em relação a levedura PDM

Anexo 10: Tabela estatística do ativador de fermentação em relação a levedura Montrachet

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Metabolismo dos aminoácidos e formação de respectivos álcoois.....	15
Tabela 2: Composição média do ativador de fermentação.....	31
Tabela 3: Composição média em nitrogênio assimilável por 100 gramas de proteínas do ativador de fermentação.....	31
Tabela 4: Leveduras comerciais utilizadas nas microvinificações e suas características enológicas.....	33
Tabela 5: Influência da cepa de levedura nas análises clássicas do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	48
Tabela 6: Influência da cepa de levedura nos teores de compostos responsáveis pelo caráter foxado do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	54
Tabela 7: Influência da cepa de levedura nos teores de etanal, metanol e álcoois superiores do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	63
Tabela 8: Influência da cepa de levedura nos teores de hexanol, butirato de etila e dietil succinato do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	64
Tabela 9: Influência da cepa de levedura nos teores dos ésteres etílicos do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	69
Tabela 10: Influência da cepa de levedura nos teores dos ácidos graxos livres do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	72
Tabela 11: Influência da cepa de levedura nos teores dos ácidos graxos voláteis do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ”	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Antranilato de metila.....	8
Figura 2: O-aminoacetofenona.....	9
Figura 3: Furaneol.....	11
Figura 4: Etapas da glicólise e suas respectivas enzimas.....	12
Figura 5: Principais rotas do metabolismo do carbono por <i>Saccharomyces</i>	14
Figura 6: Formação de álcoois superiores conforme o mecanismo de Ehrlich.....	16
Figura 7: Catabolismo de aminoácidos, carboidratos e sulfatos.....	18
Figura 8: Produtos da degradação dos aminoácidos no metabolismo da levedura.....	25
Figura 9: A uva da variedade Bordô “Ives”	29
Figura 10: Evolução da área plantada da variedade Bordô no estado do Rio Grande do Sul.....	30
Figura 11: Isolamento da levedura e preparação do pré-inoculo.....	35
Figura 12: Disposição das fermentações durante a realização das microvinificações...37	
Figura 13: Recipientes utilizados para fermentação durante a vinificação.....	38
Figura 14: Cromatograma da análise de antranilato de metila, furaneol e o-aminoacetofenona de um vinho de mesa da variedade Bordô.....	40
Figura 15: Cromatograma típico da análise de álcoois superiores.....	42
Figura 16: Exemplo de cromatograma da análise de ésteres, ácidos voláteis e 2-feniletanol.....	44
Figura 17: Teores de antranilato de metila nas diferentes fermentações.....	49
Figura 18: Teores de furaneol nas diferentes fermentações.....	50

Figura 19: Teores de o-aminoacetofenona nas diferentes fermentações.....	53
Figura 20: Intensidade foxada nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	54
Figura 21: Teores de etanal nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	56
Figura 22: Teores metanol nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	57
Figura 23: Teores de 1-propanol nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	58
Figura 24: Teores de 2-metil-1-propanol nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	59
Figura 25: Teores de 2-metil-1-butanol nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	59
Figura 26: Teores de 3-metil-1-butanol nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	60
Figura 27: Teores da soma dos álcoois isoamílicos nos vinhos em relação a cepa de levedura.....	61
Figura 28: Soma dos álcoois superiores nas diferentes fermentações.....	62
Figura 29: Teores de 2-feniletanol nas diferentes fermentações.....	65
Figura 30: Teores de acetato de etila nas diferentes fermentações.....	66
Figura 31: Teores de acetato de isoamila nas diferentes fermentações.....	67
Figura 32: Soma dos ésteres etílicos nas diferentes fermentações.....	69
Figura 33: Teores da soma dos ácidos graxos livres das diferentes fermentações.....	71
Figura 34: Teores da soma dos ácidos graxos voláteis nas diferentes fermentações.....	73
Figura 35: Teor de furaneol em função das doses do ativador de fermentação na levedura AWRI 796.....	75
Figura 36: Teor de acetato de isoamila em função das doses do ativador de fermentação na levedura AWRI 796.....	76
Figura 37: Teor de álcoois isoamílicos em função das doses do ativador de fermentação na levedura FR 95.....	77
Figura 38: Teor de antranilato de metila em função das doses do ativador de fermentação na levedura PDM.....	78
Figura 39: Teor de o-aminoacetofenona em função das doses do ativador de fermentação na levedura Montrachet.....	78
Figura 40: Teor de ácido isovalérico em função das doses do ativador de fermentação na levedura Montrachet.....	79

Figura 41: Interação da cepa de levedura e do ativador de fermentação em relação ao índice foxado do vinho tinto Bordô.....	80
Figura 42: Interação da cepa de levedura e do ativador de fermentação em relação a soma dos álcoois superiores do vinho tinto Bordô.....	81
Figura 43: Interação da cepa de levedura e do ativador de fermentação em relação a soma dos ácidos graxos livres do vinho tinto Bordô.....	82
Figura 44: Principais descritores aromáticos observados no vinho Bordô <i>Vitis labrusca</i> no painel de análise sensorial.....	83
Figura 45: Nota global dos vinhos Bordô fermentados com diferentes cepas de leveduras.....	84
Figura 46: Descritores sensoriais dos vinhos fermentados com diferentes doses de ativador de fermentação.....	84
Figura 47: Painel sensorial dos vinhos Bordô em relação ao ativador de fermentação.....	85

RESUMO

Os vinhos elaborados com uvas do grupo das americanas (*Vitis labrusca*) possuem características aromáticas marcantes, especialmente o aroma foxado. Os principais compostos responsáveis por este aroma no vinho são furaneol, o-aminoacetofenona e antranilato de metila. O objetivo deste estudo foi determinar a influência da cepa de levedura e da adição de um ativador de fermentação rico em nitrogênio orgânico sobre os teores destes compostos, bem como sobre a formação de ésteres, álcoois superiores e ácidos graxos em vinho tinto de mesa da variedade Bordô “Ives” (*Vitis labrusca*). Foram testadas as linhagens de levedura *Schizosaccharomyces pombe* “Benda II”, *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* “PDM” e três linhagens de *S. cerevisiae* var. *cerevisiae*: “Montrachet”, “FR 95” e “AWRI 796”. Foram realizadas, para cada cepa de levedura, nove fermentações com 20 kg de uvas colhidas ao acaso de três filas de um vinhedo homogêneo. Antes da inoculação, foram ministradas duas doses de ativador de fermentação, 2 ou 4 g/hL, além de uma testemunha sem o ativador. Foram realizadas três repetições de cada dose para cada cepa de levedura, totalizando quinze repetições para cada dose de ativador. A predominância de cada cepa utilizada nas fermentações foi garantida com a adição de inóculos com aproximadamente 5.10^6 células viáveis por mL. Os teores de furaneol, o-aminoacetofenona e antranilato de metila, foram determinados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS). Os outros compostos voláteis foram determinados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID). Os resultados foram submetidos a análise estatística através do programa SPSS 12.0 *for Windows*. Com respeito à característica foxada, o composto que mais marcante foi o furaneol, com teores médios de 12 mg/L. Considerando, os teores médios de antranilato de metila (220 µg/L) e o-aminoacetofenona (14,9 µg/L) encontrados no vinho tinto de mesa Bordô “Ives”, conclui-se que, no que diz respeito a característica foxada, o furaneol é o composto mais expressivo de tal característica, sendo determinante no perfil aromático deste vinho. Nas diferentes fermentações, o vinho elaborado com *Schizosaccharomyces pombe* “Benda II” apresentou os teores mais elevados dos três compostos. Em relação aos álcoois superiores, os teores médios encontrados foram considerados dentro dos limites normais, destacando-se os vinhos elaborados com as cepas *S. cerevisiae* var. *cerevisiae* “Montrachet” e “FR 95” que apresentaram os valores mais elevados. No que diz respeito aos outros compostos responsáveis pela característica olfativa dos vinhos (ésteres, ácidos graxos, álcoois), as cepas de leveduras foram responsáveis por algumas diferenciações importantes. A adição de ativador no início da fermentação apresentou comportamento distinto para cada cepa de levedura, aumentando o conteúdo de álcoois superiores, compostos foxados e ácidos graxos. A análise sensorial demonstrou distinções importantes nos vinhos, comprovando as variações encontradas nas determinações analíticas. Do ponto de vista gustativo, os degustadores preferiram os vinhos fermentados com as cepas “Montrachet”, “FR 95” e “Benda II”, concluindo que, de um modo geral, a adição do ativador aumentou a complexidade aromática dos vinhos. A cepa de levedura e a adição de ativadores específicos

foram consideradas duas importantes ferramentas de grande aplicabilidade na enologia atual. Em relação ao perfil aromático deste tipo de vinho, os resultados deste trabalho indicam a possibilidade de obtenção de produtos diferenciados pela manipulação de parâmetros como a linhagem de levedura empregada e conteúdo de nitrogênio orgânico dos mostos.

Palavras chave: *Vitis labrusca*, foxado, fermentação, perfil aromático.

ABSTRACT

The wines made with grapes belonging to the species *Vitis labrusca*, the so-called American grapes, present outstanding aromatic characteristics, specially the foxy aroma. Such aroma is due to compounds such as furaneol, o-aminoacetophenone and methyl antranilate, which are present in these wines. The aim of this work was to determine the influence of both the yeast strain and the addition of an organic nitrogen-rich activator on the titres of these compounds as well as on the formation of esters, superior alcohols and fatty acids in red wines of the variety Bordeaux "Ives" (*Vitis labrusca*). The yeasts tested were *Schizosaccharomyces pombe* strain Benda II, *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* PDM, and three *S. cerevisiae* var. *cerevisiae*: Montrachet, FR 95, and AWRI 796. For each yeast strain, nine fermentation runs were carried out with 20 kg of grapes randomly harvested from three lines of a homogeneous vineyard. Before the inoculation, 2 or 4 g/hL of fermentation activator were added to grape juices besides a blank without the activator. Three replicates of each dose were done for each yeast strain, with a total of fifteen experiments for each dose of activator. The predominance of each strain used in the fermentation tests was assured by using inocula with approximately $5 \cdot 10^6$ viable cells per mL of juice. The titres of furaneol, o-aminoacetophenone and methyl antranilate were determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The further volatile compounds were analysed in a gas chromatograph equipped with a flame ionisation detector (GC-FID). The results were statistically evaluated with the software SPSS 12.0 for Windows. With respect to the foxy characteristics, furaneol was the remarkable compound with average titres of 12 mg/L. As such, considering the relatively low average titres of methyl antranilate (220 µg/L) and o-aminoacetophenone (14.9 µg/L) found in Bordeaux red wines, one can conclude that furaneol is the main compound with respect to the foxy characteristics, being this compound chiefly responsible for the aromatic attribute of this wine. In the analysis of the different fermentation runs, it was observed that the wine produced with *S. pombe* Benda II presented the highest titres of the three compounds. For all conditions tested, the titres of superior alcohols were found within the expected limits, being the highest levels observed in wines produced with the strains *S. cerevisiae* var. *cerevisiae* Montrachet and FR 95. Depending on the yeast strain used in fermentation tests, important differences were observed in the titres of other compounds which are responsible for the aromatic characteristics of wines (esters, fatty acids etc.). The addition of activator to the grape juice in the beginning of fermentation runs with the different yeast strains resulted in distinct contents of superior alcohols, foxy compounds and fatty acids in the wines. Sensorial analysis confirmed the important differences detected in the analytical determinations. In this sensorial analysis, the tasters preferred the wines fermented with the strains Montrachet, FR 95 and Benda II. These specialists also observed that the addition of activator contributed to the aromatic complexity of the wines. The yeast strain and the addition of specific activators were considered as two important tools with great applicability in the modern enology. With respect to the aromatic characteristics of this type of wine, the results of this work indicate that differentiated products can be obtained by handling parameters such as the yeast strain and the nitrogen content of musts.

Keywords: *Vitis labrusca*, wine fermentation, foxy characteristics, aromatic profile.

<u>1</u>	<u>INTRODUÇÃO</u>	14
<u>2</u>	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	16
<u>2.1</u>	<u>Aromas particulares das variedades americanas e seus híbridos</u>	16
2.1.1	<u>Antranilato de metila e o-aminoacetofenona</u>	17
2.1.2	<u>Furaneol</u>	20
<u>2.2</u>	<u>Fermentação alcoólica dos vinhos</u>	21
<u>2.3</u>	<u>Compostos voláteis originários do metabolismo fermentativo</u>	24
2.3.1	<u>Formação de álcoois superiores</u>	24
2.3.2	<u>Ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis e 2-fenil etanol</u>	26
<u>2.4</u>	<u>Compostos nitrogenados nos mostos e vinhos</u>	30
<u>2.5</u>	<u>Compostos Nitrogenados e Fermentação Alcoólica</u>	31
<u>2.6</u>	<u>Ativadores ou nutrientes para fermentação</u>	35
<u>2.7</u>	<u>Variedade Bordô “<i>Vitis labrusca</i>”</u>	36
<u>2.8</u>	<u>Composição química do ativante de Fermentação Actibiol Special®</u>	39
<u>3</u>	<u>MATERIAIS E MÉTODOS</u>	41
<u>3.1</u>	<u>Etapa microbiológica</u>	41
3.1.1	<u>Escolha das leveduras</u>	41
3.1.2	<u>Isolamento e identificação</u>	42
3.1.3	<u>Preparo do pré-inóculo</u>	43
<u>3.2</u>	<u>Etapa de prática enológica</u>	44
3.2.1	<u>Microvinificações</u>	44
3.2.2	<u>Finalização da vinificação</u>	46
<u>3.3</u>	<u>Etapa analítica</u>	47
3.3.1	<u>Análises Clássicas</u>	47
3.3.2	<u>Determinação do antranilato de metila, furaneol e o-aminoacetofenona</u>	47
3.3.3	<u>Determinação dos álcoois superiores, etanal, acetato de etila e metanol</u>	50
3.3.4	<u>Determinação dos ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis, acetatos e 2-feniletanol</u>	51

3.3.5	<u>Análise sensorial</u>	53
3.4	<u>Análise dos resultados</u>	53
4	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	54
4.1	<u>Avaliação dos resultados referentes aos vinhos elaborados com distintas cepas de leveduras.</u>	55
4.1.1	<u>Análises Clássicas dos vinhos.</u>	55
4.1.2	<u>Antranilato de metila</u>	56
4.1.3	<u>Furaneol (4-hidróxi-2,5-dimetil-furan-3-ona)</u>	57
4.1.4	<u>O-aminoacetofenona</u>	60
4.1.5	<u>Intensidade do caráter foxado</u>	61
4.1.6	<u>Etanal, metanol e álcoois superiores</u>	63
4.1.7	<u>Ésteres, ácidos graxos e 2-fenil etanol</u>	70
4.1.8	<u>Ésteres do ácido acético</u>	73
4.1.9	<u>Ésteres etílicos</u>	75
4.1.10	<u>Ácidos graxos livres</u>	77
4.1.11	<u>Ácidos graxos voláteis</u>	79
4.2	<u>Avaliação dos resultados referentes ao efeito do ativador de fermentação sobre as características dos vinhos elaborados com distintas cepas de leveduras</u>	81
4.2.1	<u>Comportamento da cepa Benda II frente ao ativador de fermentação</u>	81
4.2.2	<u>Comportamento da cepa AWRI 796 frente ao ativador de fermentação</u>	81
4.2.3	<u>Comportamento da cepa FR 95 frente ao ativador de fermentação</u>	83
4.2.4	<u>Comportamento da cepa PDM frente ao ativador de fermentação</u>	84
4.2.5	<u>Comportamento da cepa Montrachet frente ao ativador de fermentação</u>	85
4.3	<u>Interações Importantes entre cepa de levedura e ativador de fermentação</u>	86
4.4	<u>Análise sensorial</u>	89
5	<u>CONCLUSÕES</u>	93
6	<u>PERSPECIVAS FUTURAS</u>	95
7	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	96

1 INTRODUÇÃO

Os vinhos de uvas americanas representam em torno de 85% do vinho elaborado no Brasil, sendo ainda uma alternativa em se tratando de vinhos jovens de consumo corrente. Do ponto de vista econômico o vinho de mesa exerce papel fundamental no setor vinícola nacional, como fonte de renda para pequenos, médios e grandes produtores. Os vinhos originados de uvas das variedades americanas, principalmente de *Vitis labrusca*, possuem características marcantes, sendo a mais evidente o aroma foxado, originado do nome fox (raposa). Os principais compostos responsáveis por este aroma no vinho são o antranilato de metila o-aminoacetofenona e o furaneol. Estes compostos são encontrados na maioria das variedades utilizadas para elaborar o vinho de mesa na Serra Gaúcha, estes compostos possuem aroma característico e agregam tipicidade ao vinho de mesa. Inúmeros estudos identificaram a composição aromática dos vinhos e a influência dos recursos biotecnológicos à disposição da agroindústria vitivinícola. Um dos importantes fatores a serem considerados é a composição química dos mostos. Outro fator relevante é a cepa de levedura responsável pela fermentação alcoólica do vinho.

Uma considerável parcela dos vinhos tintos de mesa são elaborados a partir da variedade Bordô. Originária do Sul dos Estados Unidos, também conhecida como “Ives”, bastante difundida na região da Serra Gaúcha e em outras localidades do Brasil. Seu vinho tem se destacado dentre os vinhos de mesa por sua complexidade aromática, também por ser uma variedade extremamente rústica e altamente resistente as principais doenças da videira.

Além da elaboração de vinho tinto de mesa varietal, a uva Bordô é muito utilizada em cortes com outras variedades. Ela também é utilizada para elaboração de suco e comercializada como uva *in natura*. Seu vinho possui boa intensidade de cor e acidez pouco pronunciada, dependendo do tipo de vinificação e do nível de maturação, apresentando aroma característico de frutas vermelhas como amora e ameixa preta. Quando o grau de maturação é maior apresenta notas de morango e ameixa seca, no entanto a principal característica é o aroma “foxado” devido aos relevantes teores de antranilato de metila e furaneol além de outros compostos responsáveis por esta nota aromática encontrada nos vinhos provenientes de *Vitis labrusca*.

Dentro deste contexto, este trabalho tem como objetivo geral a busca de novas alternativas para a melhoria da qualidade dos vinhos de mesa da Serra Gaúcha, visando uma caracterização enológica do mesmo junto ao consumidor em geral, como um vinho de qualidade. E como objetivos específicos avaliar a variabilidade aromática do vinho da variedade Bordô, *Vitis labrusca*, testando diferentes cepas de leveduras, e a adição de nutriente a base de aminoácidos e suas influências na composição aromática do vinho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aromas particulares das variedades americanas e seus híbridos

As substâncias responsáveis pelo aroma peculiar do vinho se reúnem no conceito de substâncias aromáticas. A ação conjunta das substâncias voláteis sobre os nervos olfativos recebe o nome de “bouquet do vinho” (Rankine, 1989).

Até 1952, cerca de 50 substâncias já tinham sido assinaladas como componentes do aroma dos vinhos. Os progressos alcançados posteriormente, foram possíveis graças à utilização de aparelhos de cromatografia gasosa (Peynaud, 1984; Flanzy, 2003).

Dados indicam que mais de 600 substâncias voláteis foram detectadas no vinho, pertencentes a diferentes classes químicas: álcoois, ésteres, ácidos orgânicos, aldeídos, cetonas, podendo ser provenientes da uva ou formadas durante a fermentação alcoólica. Através da quantificação destes compostos aromáticos é possível caracterizar diferentes variedades de uvas e diferenciar muitos tipos de vinho. Vários métodos analíticos têm sido desenvolvidos para a extração e determinação de componentes do aroma de vinhos. Incluindo purificação e aprisionamento (amostragem com *headspace* dinâmico), extração líquido-líquido, microextração em fase sólida, extração com destilação simultânea, extração com fluido supercrítico, entre outros, seguidos por determinações cromatográficas (Demyttenaere *et al.*, 2003).

O acoplamento de cromatografia gasosa à espectrometria de massa é eficaz no estudo de aromas. A determinação de compostos aromáticos necessita de técnicas de

separação altamente resolutivas, e de uma técnica de identificação o mais eficaz possível (Flanzy, 2003)

Somente a partir dos anos 70, certas moléculas específicas de algumas variedades híbridas foram colocadas em evidência e estudadas mais profundamente. Trata-se do antranilato de metila (2-aminobenzoato de metila) (Nelson *et al.*, 1977), do furaneol (2,5-dimetil-4-hidroxi-furan-3-ona) (Rapp *et al.*, 1980), do 3-mercaptopropionato de etila (Kolor, 1983), da N-glicina, (Boison & Tomlison, 1988); e da o-aminoacetofenona (Acree *et al.*, 1990). Além destes outros compostos começaram a ser estudados mais efetivamente, tratam-se dos compostos enxofrados formados no transcurso da fermentação e dos ésteres derivados do metabolismo dos álcoois e ácidos graxos (Flanzy, 2003).

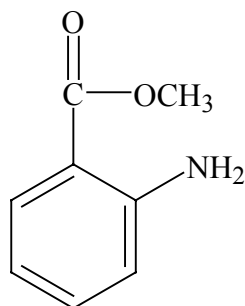
2.1.1 Antranilato de metila e o-aminoacetofenona

Antranilato de metila é um produto natural com forte odor, ocorrendo em materiais tais como flores de laranja, uvas e jasmims (Schmitt *et al.*, 1986). Diferentes aromas foram descritos para este composto como fruta doce, mel, coco, pêssago e floral (Aznar *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2002; López *et al.*, 2003; Moio & Etievant, 1995).

Antranilato de metila, evidenciado por Flanzy (2003), foi durante muito tempo considerado o único responsável do aroma “foxado” das variedades *Vitis labrusca* e de seu híbridos. Seu limiar de percepção é de 300 µg/L (Nelson *et al.*, 1977). É um éster com elevado ponto de ebulição (256°C) e baixa solubilidade em água (3 mg/L a 30°C) (Moyer *et al.*, 1977). Tem sido determinado em vinhos e outras bebidas de uvas por espectrofotometria, fluorimetria, cromatografia gasosa e cromatografia líquida com detecção de fluorescência (Moyer & Mattick, 1976; Schmitt *et al.*, 1986). As concentrações podem variar de 0 a 10 mg/L em uvas americanas e de 1 a 5 mg/L em seu suco (Moyer & Mattick, 1976)

Antranilato de metila (figura 1) foi primeiramente isolado em uvas da variedade Concord. Devido à elevada concentração encontrada nestas uvas, tem sido

considerado por mais de 50 anos como a principal substância responsável pelo característico aroma dos vinhos Concord (Nelson *et al.* 1977). Moio & Etievant (1995) identificaram o composto pela primeira vez em um vinho obtido de uma cultivar *Vitis vinifera* (Pinot noir). Todos os resultados anteriores eram de variedades de uvas nativas da América e somente alguns dados quantitativos foram relatados para os vinhos Concord, Catawba e Niágara.



Shaulis & Robinson (1953) notaram a importância da variação sazonal na concentração de antranilato de metila de uvas Concord e Fredonia. Os vinhos das variedades Niágara, Fredonia e Concord possuem uma elevada quantidade natural de antranilato de metila. Quando estas uvas são vinificadas sem as cascas a quantidade deste composto é reduzida a baixos níveis, além de remover outras substâncias (Moyer *et al.*, 1977).

López *et al.* (2003) identificaram compostos aromáticos de impacto em diferentes vinhos brancos jovens de cultivares *Vitis vinifera* das Ilhas Canárias, dentre eles o antranilato de metila. Foi encontrado também em vinhos Grenache Rosé, em concentrações menores que 0,3 µg/L, e em alguns vinhos espanhóis (Ferreira *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2002).

Nelson *et al.* (1977) mostraram que podem existir variedades cujas uvas e vinhos apresentam um intenso aroma “foxado”, mas não contém antranilato de metila. Acree *et al.* (1990), evidenciaram uma molécula com as mesmas características organolépticas que o antranilato de metila, trata-se da o-aminoacetofenona (figura 2). A biossíntese destes dois

compostos pela videira têm a função de proteção das bagas, pois eles repulsam os pássaros (Nolte *et al.*, 1993).

Em 1993, Nolte *et al.* identificaram a o-aminoacetofenona como característica de impacto no odor de vinhos, com limiar de percepção de apenas 2 µg/L. A o-aminoacetofenona é formada pela degradação oxidativa do ácido indol-3-acético (IAA), fitohormônio que ocorre naturalmente nas uvas. Evidências indicam que a o-aminoacetofenona é formada pela clivagem do anel pirólico de IAA que exige radicais superóxidos gerados pela oxidação aeróbica do sulfeto durante a estocagem de vinhos sulfurados. Esta formação pode ser reduzida por antioxidantes presentes no vinho (Hoenicke *et al.*, 2002).

A o-aminoacetofenona foi encontrada em vinhos *Vitis vinifera* (variedades Muller Thurgau, Riesling e Silvaner) que apresentavam um defeito observado durante a conservação e que foi considerado como um cheiro do tipo “naftaleno” ou “híbrido” (Rapp *et al.*, 1996). Foi também identificada em vinhos tintos espanhóis (Aznar *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2001).

As concentrações de antranilato de metila e o-aminoacetofenona nos vinhos depende de vários fatores, tais como maturação das uvas, maceração pelicular, temperatura e condições de fermentação (Nelson *et al.*, 1977).

Antranilato de metila e o-aminoacetofenona foram encontrados em destilados de vinho. Ensaios de destilação em laboratório demonstraram que estas substâncias destilam

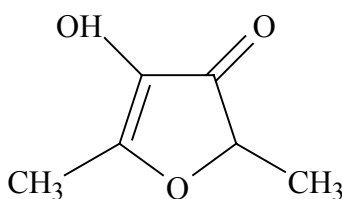
praticamente na sua totalidade, então, pela determinação analítica destes compostos é possível detectar misturas de uvas ou de vinhos híbridos com uvas ou vinhos *Vitis vinifera* nos destilados correspondentes (Guedes de Pinho, 1994).

2.1.2 Furaneol

O furaneol (figura 3) pode existir naturalmente em frutas como abacaxi (Rodin *et al.*, 1965), morango (Ohloff, 1975), manga (Hunter *et al.*, 1974), framboesa (Honkanen *et al.*, 1980), uvas de certas variedades (Rapp *et al.*, 1980), ou pode ser um produto da reação de Maillard (Ohloff, 1975) neste caso podendo ser encontrado no suco de laranja (Tatum *et al.*, 1975), no café (Baltes & Bochmann, 1987), na carne (Mottram, 1989). Roscher *et al.* (1996) isolaram um glucopiranosídeo de furaneol em morangos.

Em altas concentrações o furaneol possui um aroma de caramelo e/ou açúcar queimado, e frutado (com um aroma que lembra morango) no caso de doses mais baixas. Seu limiar de percepção é de 300 µg/L (Rapp, 1996). É uma molécula instável, em relação ao pH e temperatura, podendo reagir com moléculas contendo grupos tiol como a cisteína e o sulfato de hidrogênio (Hirvi *et al.*, 1980).

Em vinhos elaborados com uvas híbridas, o furaneol pode ser encontrado em quantidades acima de 1 mg/L, concentração em que produz um aroma de morango. Guedes de Pinho (1994) utilizou três sucessivas extrações com acetato de etila e posterior análise em Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa para a determinação quantitativa de furaneol em altas concentrações.



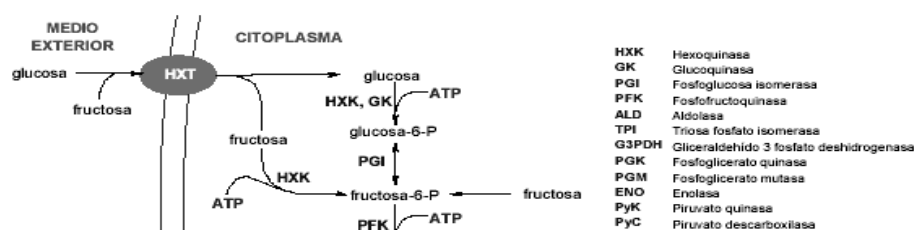
Guth (1997) identificou o furaneol em vinhos brancos de *Vitis vinifera* das variedades Gewürztraminer e Scheurebe. Outros pesquisadores também determinaram este composto em vinhos tintos espanhóis envelhecidos (Aznar *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2001).

2.2 Fermentação alcoólica dos vinhos

O sentido da palavra fermentação alcoólica sofreu muitas modificações ao longo dos tempos, tanto na linguagem vulgar como na científica. A palavra fermentação se denominou a princípio aos fenômenos de decomposição da matéria orgânica com rápido e tumultuoso desprendimento de gás, e a raiz do nome vem do provérbio hebraico “*fevere*”, que significa ferver. Pasteur deu o nome a processos microbianos que se desenvolvem em condições anaeróbias. Outros contemporâneos, designaram como fermentação, os processos microbianos exotérmicos, ou de elaboração de produtos agrícolas. Também se define como resultado da atividade enzimática dos microorganismos, o que equivale a denominar fermentação a qualquer transformação microbiana da matéria (Suárez Lepe *et al.*, 2004).

Desde Pasteur, as leveduras e a fermentação alcoólica tem dado origem a um número considerável de trabalhos, integrando o progresso crescente da microbiologia, da bioquímica e atualmente da genética e da biologia molecular (Riberéau-Gayon *et al.*, 2003).

Em função das condições de aerobiose, as leveduras podem degradar os açúcares utilizando duas vias metabólicas: a fermentação alcoólica e a respiração. Estes dois processos começam da mesma maneira, tomando o caminho comum da glicólise (Riberéau-Gayon *et al.*, 2003; Togores 2003; Flanzky 2003).



Na glicólise, a glicose e a frutose são convertidas em piruvato (figura 4). É a rota universal entre os eucariotos. A glicólise é composta por dez reações divididas em duas etapas, na primeira ocorre um gasto de energia (ATP), na segunda etapa ocorre um ganho de energia na forma de ATP e da redução de uma coenzima $\text{NADH} + \text{H}$, o balanço energético final é de 2 ATP mais uma coenzima $\text{NADH} + \text{H}$. A glicose é convertida em duas moléculas de piruvato. Este constitui a estação central do catabolismo dos açúcares, a partir daí pode-se tomar várias rotas dependendo das condições do meio, em geral, a fermentação alcoólica é o principal destino do piruvato, em que este é descaboxilado a acetaldeído ocorrendo a liberação de gás carbônico, posteriormente é convertido em etanol. Além da formação de etanol simultaneamente acontece a formação de outros compostos secundários em menor quantidade como o glicerol os álcoois superiores, e outros compostos voláteis em menor quantidade porém não menos importantes (Boulton *et al.*, 1996).

Em uma fermentação, com um mosto de uvas contendo normalmente 22 a 24% de açúcares, 95% do açúcar é convertido em etanol e gás carbônico, 1% em matéria celular e o restante aproximadamente 4% se converte em outros produtos do metabolismo. Aproximadamente 50% do açúcar de uma fermentação vínica normal é consumido pelas

leveduras durante a fase estacionária de fermentação, ainda que esta porcentagem varia em função do tamanho do inoculo, da temperatura de fermentação e da disponibilidade de nutrientes (Kunkee & Bisson, 1993).

As principais rotas do metabolismo dos compostos carbonados por *Saccharomyces* estão expostas na figura 5, e se ativam segundo o substrato disponível e as condições de desenvolvimento. A disponibilidade de oxigênio é um fator determinante no metabolismo, já que o oxigênio molecular é o aceptor final dos eletros na respiração, no entanto tem um papel diferente nas fermentações com grandes quantidades de açúcares, relativamente anaeróbias. Durante a respiração que consiste em uma etapa muito importante no início das fermentações vínicas e na produção industrial de leveduras, grande parte da energia de catabolismo dos compostos carbonados se armazenam na forma de ATP, como consequência das rotas metabólicas do ciclo do ácido cítrico e da cadeia de transporte de elétrons (Boulton *et al.*, 1996).

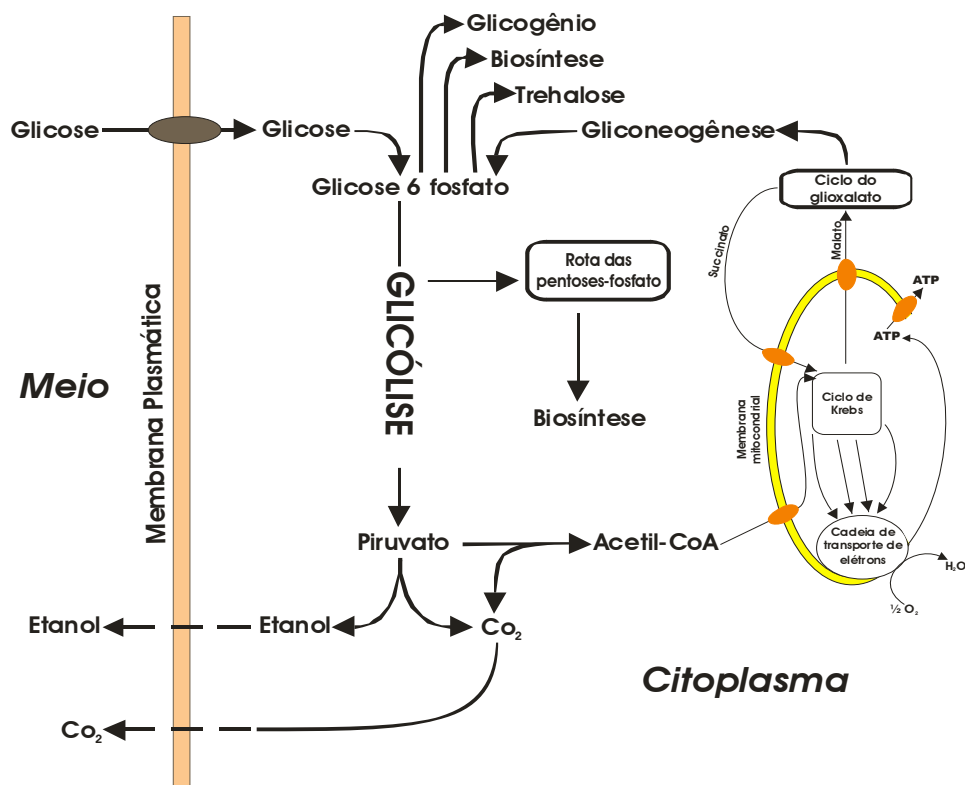


Figura 5: Principais rotas do metabolismo do carbono por *Saccharomyces*, Fonte: (Boulton *et al.*, 1996).

Outra rota importante para a produção de precursores biosintéticos é a rota das pentoses fosfato. Em *Saccharomyces* esta rota serve para produzir ribose-5-fosfato, um precursor da biosíntese de nucleotídeos, e também para produzir eritrose-4-fosfato, que é o passo inicial necessário para a rota do ácido chiquímico e a síntese de aminoácidos aromáticos. Desta maneira, a rota das pentoses fosfato acontece tanto no crescimento fermentativo como na respiração (Boulton *et al.*, 1996).

2.3 Compostos voláteis originários do metabolismo fermentativo

Os compostos voláteis de origem fermentativa são os responsáveis pelas notas aromáticas classificadas como secundárias nos vinhos. Sua composição está relacionada com o metabolismo fermentativo das leveduras e com a ação enzimática durante o processo de vinificação. A maioria dos compostos de origem fermentativa possuem rotas metabólicas conhecidas e se classificam na maioria dos casos como ésteres, álcoois, ácidos graxos e ácidos voláteis (Flanzy 2003).

2.3.1 Formação de álcoois superiores

A fermentação alcoólica é acompanhada pela formação de pequenas quantidades de álcoois alifáticos de maior peso molecular, denominados álcoois superiores. Os álcoois superiores detectados em maiores quantidades são: 1-propanol; 2-metil-1-propanol; 2-metil-1-butanol; 3-metil-1-butanol; em menores quantidades aparecem outros álcoois superiores listados na tabela 1 com seu respectivo precursor segundo modelo de Ehrlich (Boulton *et al.*, 1996).

Tabela 1: Metabolismo dos aminoácidos e formação de seus respectivos álcoois

<i>Aminoácido</i>	<i>α-cetoácido</i>	<i>Aldeído</i>	<i>Álcool</i>
Alanina	2- α propionico	Acetaldeído	Etanol
Serina	3-Hidroxi-2- α - propionico	Glioxal	Glicol
Ácido-2-amino- butírico	2- α butírico	Propionaldeído	1-Propanol
Valina	2- α -Isovalérico	Butiraldeído	1-Butanol
Isoleucina	2- α - Isocapróico	Isoburaldeído	2-Metil-1-propanol
Leucina	3-Fenil-2- α - propionico	2-Metil- butiraldeído	2- Metil-1-butanol
Fenilalanina	3-Fenil-2- α - propionico	Isovaleraldeído	3- Metil-1-butanol
		Hexanal	1- Hexanol
Tirosina	3-(4-hidroxifenil)-2- α -propionico		Fenil álcool
Triptofano			Tirosol
			Triptofol

Fonte: Wine Microbiology and biotechnology, Fleet (1993)

Entre as substâncias que formam o aroma de um vinho, indiscutivelmente, os álcoois superiores e os ésteres voláteis são de grande importância (Shinohara, 1984).

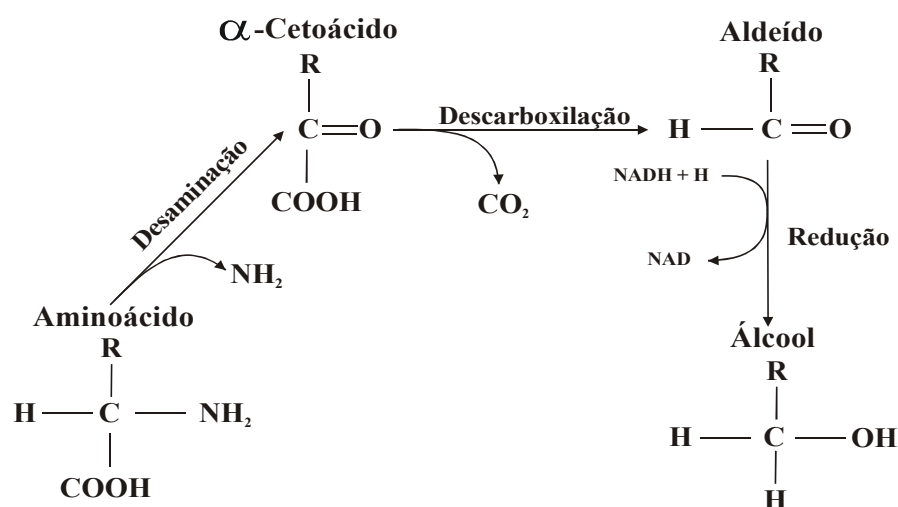
Conforme podemos observar na figura 6, a formação de álcoois superiores acontece paralelamente à produção de etanol. Os álcoois superiores podem ser formados através do mecanismo de Ehrlich, onde os correspondentes aminoácidos são desaminados e os α -cetoácidos descarboxilados e reduzidos para os respectivos álcoois (Bisson, 1991).

De acordo com Rapp & Versini (1991), a produção de álcoois superiores segue da seguinte maneira, 10% dos correspondentes aminoácidos através do mecanismo de Ehrlich, 25% do esqueleto de carbono dos açúcares e 65% de outros aminoácidos.

A exata função da formação de álcoois superiores não é conhecida. Poderia simplesmente servir para detoxificar algum aldeído produzido durante o catabolismo de aminoácidos, ou para regular o anabolismo de aminoácidos (Bisson, 1991).

Muitos fatores podem alterar a composição aromática de um vinho, 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)

Shinohara (1984) estudou a influência de diferentes leveduras sobre a formação de álcoois superiores nos vinhos. As cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (cerca de 160 mg/L) formam mais álcoois superiores do que a *Schizosaccharomyces pombe* (42 mg/L).



nitrogenados

no mosto de diferentes leveduras sobre a formação de álcoois superiores nos vinhos. Em um experimento com mostos de Chardonnay e seu vinhos correspondentes de três anos consecutivos de vindima, encontraram uma correlação linear positiva entre a concentração de 1-propanol do vinho e o conteúdo de aminoácidos livres no mosto. Foi encontrada uma correlação negativa entre 3-metil-1-butanol e 2-metil-1-butanol e o conteúdo de aminoácidos livres do mosto.

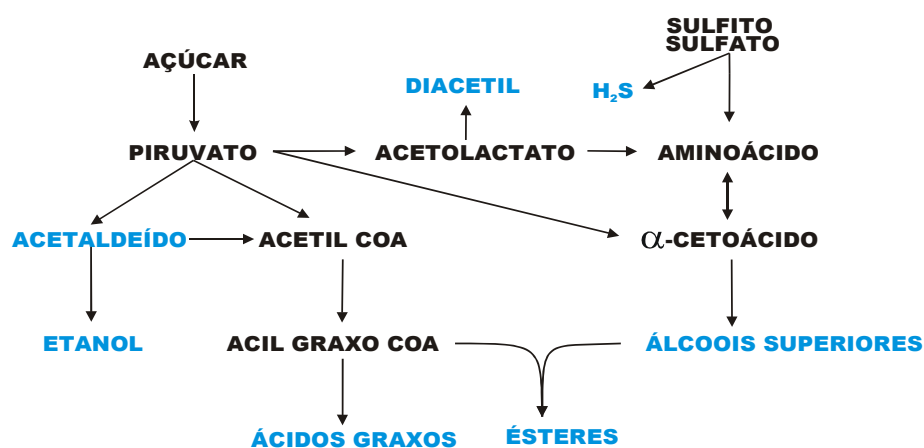
2.3.2 Ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis e 2-fenil etanol

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).

Em geral, a contribuição das leveduras na totalidade do aroma e do gosto depende das condições de fermentação e da composição química dos mostos, também do

nível de clarificação e “*deburbage*” dos vinhos brancos além da influência da cepa de levedura. Também em relação à temperatura de fermentação, baixas temperaturas, em torno de 15 °C favorecem a formação de ésteres voláteis, no entanto em temperaturas abaixo disso não se constata esta tendência (Boulton *et al.*,1996).

Segundo Fleet (1993), os aromas secundários provenientes das fermentações são de vital importância para a qualidade final do vinho, experimentos realizados comprovam que a matéria nitrogenada nos mostos interfere diretamente na qualidade aromática dos vinhos. Os principais produtos do metabolismo de leveduras são: etanol, glicerol, gás carbônico e substâncias voláteis, estes compostos são afetados diretamente quando mudamos a composição nitrogenada do meio. O catabolismo dos aminoácidos, carboidratos e sulfatos esta expresso na figura 7.



Os ésteres constituem a maior fração do aroma dos vinhos, eles podem ser originários de diferentes processos de formação, 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 atribui-se aos aromas fermentativos ou os chamados aromas secundários dos vinhos. A formação de ésteres também pode acontecer após o término da fermentação no período de amadurecimento ou envelhecimento. A origem de um éster

durante o envelhecimento e conservação de um vinho é a reação química entre um ácido e um álcool, dependendo do tipo de ácido ou de álcool origina um éster específico (Boulton *et al.*, 1996).

Os ésteres possuem diferentes procedências durante o metabolismo das leveduras, eles podem ser produzidos a partir da alcoólise dos compostos acilCoA. Também podem ser formados pela descarboxilação oxidativa conduzida pela CoA. 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 (Flanzy, 2003).

Os ácidos graxos e seus ésteres são, como os álcoois, os principais marcadores do aroma fermentativo. No entanto, devido a que sua biogênese estarem diretamente ligadas, a maior parte dos estudos não tem conseguido diferenciar sem ambigüidade sua participação respectiva. De fato, os ácidos graxos são produzidos em quantidades elevadas nos vinhos representando um aroma fermentativo agradável, cujos ésteres são os principais responsáveis. Estes últimos apresentam individualmente os aromas julgados como agradáveis principalmente frutados, com exceção do acetato de etila cujo odor, ainda que desagradável, é mal percebido nos vinhos quando os conteúdos são superiores a um valor limite de cerca de 100 mg/L. Ainda que os ácidos graxos possuam odores julgados geralmente como negativos (normalmente, sua concentração no vinho não ultrapassa o limiar de percepção), se consideram necessários para um bom equilíbrio do aroma fermentativo (Riberéau-Gayon, *et al.*, 2003).

As condições de fermentação são muito importantes para a produção destes ácidos e ésteres, em condições anaeróbicas estritas e a baixas temperaturas de fermentação, ainda com uma clarificação do mosto que permita a presença de células de leveduras (e de ergosterol) estabeleceriam os fatores mais favoráveis para a formação dos ácidos graxos e dos

ésteres presentes no vinho. Nestas condições sabendo que os ácidos graxos em C6, C8, C10 e C12, e seus ésteres inibem a multiplicação celular das leveduras (Togores, 2003).

Os ácidos butírico, hexanóico, octanóico, decanóico juntamente com o ácido esteárico são originados diretamente do metabolismo lipídico das células. A reação global de síntese dos ácidos graxos que são catalisados, por exemplo, por proteínas localizadas no citosol, pelo complexo ácido graxo sintetase. O acetil CoA derivado dos glucídios ou de aminoácidos é o precursor dos átomos de carbono que formam os ácidos graxos (Torres-Alegre, 1982).

A correlação entre a formação dos ésteres e o nitrogênio amínico, é provavelmente um resultado geral, mas com aplicação específica na concentração de alguns aminoácidos que se catabolizam através da rota inversa dos ácidos tricarboxílicos (TCA) (são eles: arginina, glutamina e glutamato). A soma destes ácidos constitui geralmente a fração maior dos aminoácidos consumidos pelas leveduras durante a fermentação, razão da correlação (Boulton *et al.*, 1996).

O conteúdo em nutrientes do mosto também influencia sobre a quantidade de ésteres, a formação de ésteres diminui em mostos com pouco conteúdo em nitrogênio, no qual não é raro, já que os esqueletos carbonados dos aminoácidos são os precursores dos ésteres. Em condições que inibam a síntese de ácidos graxos também se limita a produção de ésteres, confirmando o papel central do acetil CoA na formação dos ésteres. A presença de ácidos graxos insaturados no mosto, pode suprimir a síntese de ésteres porque a composição do mosto também é um fator de importância (Henschke & Jiranek, 1993).

O ácidos graxos C₆, C₈, C₁₀, C₁₂, C₁₄ e C₁₆, podem ser esterificados pelo etanol formando seus respectivos ésteres (Torres-Alegre, 1982)

Dubordieu *et.al*, (1993) constataram que as atividades enzimáticas das leveduras podem dar lugar a formação de novas substâncias com caráter olfativo e gustativo muito acentuados como os terpenos ou os mercaptanos, já que estas atividades enzimáticas

dependem da cepa de levedura. Sugere-se que o conteúdo nutritivo do mosto tem grande importância também porque os mostos com carências nutritivas colocam as leveduras em condições desfavoráveis para a formação de produtos finais, este efeito também se relaciona com a cepa de levedura.

Torres-Alegre (1982), estudou a formação de ácidos graxos, ésteres e álcoois superiores no transcurso da vinificação, constatou que as temperaturas de fermentação, a cepa de levedura, a sanidade da uva e as práticas enológicas interferem significativamente na quantidade de ácidos graxos nos vinhos.

Rizzon (1985), analisou a influência da maceração na composição química dos vinhos, comprovando que as condições de maceração estão diretamente relacionadas com o conteúdo dos ácidos graxos, ésteres e outras substâncias voláteis nos vinhos.

Rosier (1992), realizou estudo onde constatou que as práticas culturais da vinha e as condições de solo e clima exercem um fator determinante nas características analíticas e sensoriais dos vinhos de Graves “França”, as diferenciações encontradas foram claras em relação aos compostos voláteis.

2.4 Compostos nitrogenados nos mostos e vinhos

Na década de 1930, aminoácidos foram determinados nos mostos pela primeira vez, desde então, vários pesquisadores têm estudado a composição de aminoácidos no grão de uva e no mosto em relação a diversos fatores (Rapp & Versini, 1991).

O conteúdo de nitrogênio total e sua distribuição entre os diferentes compostos é altamente variável nas uvas. A concentração de aminoácidos na uva madura depende de vários fatores: a cultivar, as condições ambientais, as condições de solo e as práticas culturais. O nível total de aminoácidos livre nos mostos varia de 65 a 1130 mg N/L. Essa variação depende da variedade, região de cultivo, densidade de plantação, época de colheita bem como a riqueza de nitrogênio do solo e das práticas de fertilização (Bisson, 1991).

Gallander *et al.* (1988) determinou aminoácidos em oito cultivares americanas, concluindo que a quantidade relativa de cada aminoácido apresentou diferenças dentro de cada uma das cultivares estudadas. O aminoácido que apresentou maior concentração em cinco das oito variedades foi a alanina, que é o aminoácido predominante em *Vitis Labrusca*.

Miele *et al.* (1990) investigaram a composição de aminoácidos em dezenove sucos de uva comerciais elaborados com variedades *Vitis labrusca* e seus híbridos, cultivadas no Rio Grande do Sul. Os mais importantes aminoácidos foram a α - alanina (30,44%), arginina (21,12%) e ácido glutâmico (9,81%), que foram responsáveis por 61,37% dos aminoácidos totais.

2.5 Compostos Nitrogenados e Fermentação Alcoólica

Compostos nitrogenados são importantes metabólitos para as leveduras. A concentração inicial de nitrogênio total no mosto e as quantidades relativas dos constituintes nitrogenados individuais afetarão diretamente o crescimento das leveduras, a velocidade de fermentação, a formação de produtos finais e, portanto, a qualidade organoléptica do vinho (Bell *et al.*, 1979; Bely *et al.*, 1991)

Rapp & Versini (1991) realizaram fermentações com diferentes mostos e perceberam que cada aminoácido é metabolizado pelas leveduras com intensidade diferente. Glutamina, asparagina, serina, ácido glutâmico, ácido aspártico, e arginina são as origens favoritas de nitrogênio para o crescimento das leveduras, quando comparadas aos outros aminoácidos.

O passo chave para o controle da utilização de um metabólito é o transporte desse composto para dentro da célula. Há, basicamente, três tipos de transporte celular de metabólitos: difusão simples, difusão facilitada e transporte ativo. Muitos compostos contendo nitrogênio são transportados via mecanismo ativo (Bisson, 1991).

Vários sistemas de transporte têm sido descritos, alguns com substratos específicos, outros transportando somente um único ou altamente relacionado grupo de aminoácidos. A arginina, um aminoácido presente em quantidade relevante em mostos de variedades *Vitis labrusca*, é transportada via uma permease específica para arginina, que é induzida pela arginina e reprimida pela amônia (Large, 1986).

Muitos sistemas de transporte de aminoácidos, em leveduras, são *symports* de próton, acoplado a tomada de uma molécula de substrato para a de um íon hidrogênio. Os prótons que entram na célula devem ser excretados para prevenir a acidificação do citoplasma, o que causaria a morte da célula. Prótons são excretados via ATPase da membrana plasmática, uma bomba de íon hidrogênio bombeado para fora da célula, explicando então o requerimento de energia necessária para o processo de transporte ativo (Bisson, 1991).

O transporte de aminoácidos é fortemente inibido pelo etanol, este aumenta a velocidade de influxo passivo de próton para dentro da célula da levedura. A célula pode eliminar o excesso de íons de hidrogênio via a ATPase, mas pode ter que impedir o transporte, acoplado ao íon hidrogênio, para evitar sobrecarregar a capacidade da ATPase de remover o excesso de prótons citoplasmático. A maioria dos aminoácidos são consumidos no início da fermentação, anteriormente ao aparecimento de etanol no meio. A estratégia da levedura, que parece estar envolvida durante a fermentação do mosto, é transportar os aminoácidos quando há energia disponível e com baixos níveis de etanol no meio, armazenando os aminoácidos no vacúolo para utiliza-los quando necessários para a biosíntese (Bisson, 1991).

A levedura *Saccharomyces sp.* pode acumular grandes *pools* intracelulares de aminoácidos. Os aminoácidos básicos e neutros são encontrados no vacúolo, enquanto os aminoácidos de caráter ácido são encontrados no citoplasma. Essa compartimentalização

subcelular serve para separar as enzimas do metabolismo de seus substratos, seguindo melhor coordenação do metabolismo dos aminoácidos (Large, 1986; Davis, 1986).

O nitrogênio pode ser incorporado dentro de uma molécula receptora, via aminação direta, usando amônia, ou via uma reação de transaminação, em que o segundo composto contendo nitrogênio serve como doador de nitrogênio. Existem duas reações enzimáticas, que servem para equilibrar o nível desses compostos e acoplar o metabolismo do nitrogênio e do carbono: glutamato-dehidrogenase - NAD depende e glutamato-dehidrogenase – NADP depende, são reações catabólicas e anabólicas, respectivamente (Bisson, 1991).

Rapp & Versini (1991), explicaram o metabolismo dos aminoácidos através da assimilação direta; desaminação; descarboxilação e produção de amônia (preferencial origem de nitrogênio para as leveduras) e transaminação.

As leveduras apresentam o fenômeno conhecido como controle geral de aminoácidos. A falta de um aminoácido resulta na desrepressão de enzimas biosintéticas para vários aminoácidos. A histidina e a arginina estão sob o controle geral de aminoácidos. A completa via de biosíntese para cada um destes aminoácidos será desreprimida pela falta de um deles (Davis, 1986).

Um esquema geral do metabolismo nitrogenado esta expresso na figura 8, o íon amônio e o glutamato, são, de maneira geral, as duas fontes de nitrogênio preferidas, e quando estão presentes são utilizadas diretamente na biosíntese. A glutamina que dá lugar ao íon amônio e ao glutamato, também é uma fonte de nitrogênio usada pelas leveduras. Em geral, muitas espécies de leveduras esgotam o meio antes destes três compostos nitrogenados, antes de atacar outras formas de nitrogênio (Henschke & Jiranek, 1993).

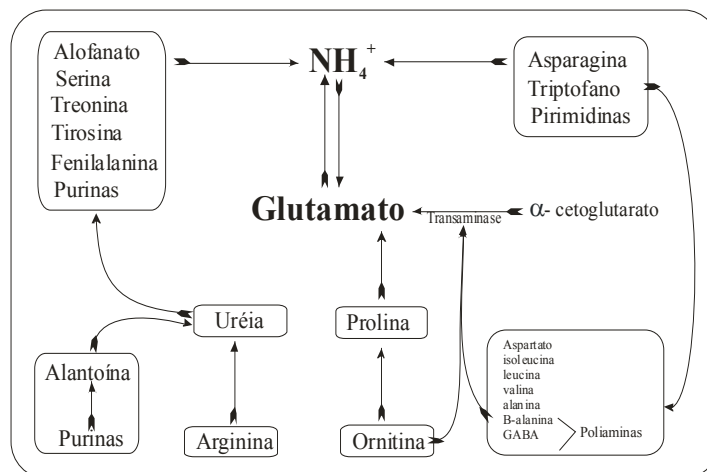


Figura 8: Produtos da degradação dos aminoácidos no metabolismo das leveduras, Fonte: (Boulton *et al.*, 1996).

Monteiro & Bisson (1991) pesquisaram a relação entre a suplementação de nitrogênio no mosto e a utilização de aminoácidos durante a fermentação. A suplementação com nitrogênio no mosto de Chenin Blanc afetou a velocidade de fermentação e o tempo necessário para completar a fermentação com ambas as leveduras estudadas. A suplementação com nitrogênio apresentou maior efeito sobre a produção de biomassa na cepa Prise de Mousse (PDM), quando comparada com a UCD 522 (Montrachet), e um efeito mais pronunciado sobre a velocidade de fermentação com UCD 522, foi independente do aumento da biomassa. As duas leveduras apresentaram modelo similar de utilização de aminoácidos.

Nos mostos suplementados com arginina, o tempo total de consumo foi estendido moderadamente àquele observado no mosto controle. Quando a metade do açúcar cerca de 100g/L tinha sido consumido, o consumo de arginina bem como dos outros aminoácidos havia cessado. A suplementação com alta concentração de fosfato de amônio reduziu significativamente o consumo de arginina. A adição de poliamina afetou mais moderadamente a utilização da arginina. A suplementação com ambas, poliaminas e altas concentrações de fosfato de amônio, não eliminou completamente o consumo de arginina e subsequente degradação.

Em enologia, fermentação alcoólica é um processo complexo, envolvendo muitos mecanismos diferentes (físicos, químicos, bioquímicos e microbiológicos). Vários estudos têm sido realizados sobre o efeito da temperatura, da concentração de etanol, do

nitrogênio assimilável, dos nutrientes, do oxigênio e dos inibidores. No entanto, um modelo preciso da cinética é impossível, devido ao grande número de parâmetros e a grande variabilidade de composição do mosto (Sablayrolles & Barre, 1993).

2.6 Ativadores ou nutrientes para fermentação

Os ativadores de fermentação são constituídos de substâncias vitamínicas chamadas de fatores de crescimento, e também de outras substâncias classificadas como fatores de sobrevivência, atuam em baixas concentrações, na multiplicação e na atividade celular, são indispensáveis para os microorganismos, sua carência se reflete em problemas graves de fermentação. São constituintes essenciais para as coenzimas e devido a isso intervêm nas reações do metabolismo. Geralmente os mostos possuem quantidades suficientes de fatores de crescimento para um bom andamento da fermentação, as principais vitaminas descritas com fatores de crescimento são: tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, piridoxina, nicotinamida, biotina, mesoinositol, cobalamina e colina (Riberéau-Gayon *et al.* 2003).

Durante a fermentação alcoólica a composição vitamínica dos mostos é modificada, a tiamina ou vitamina B1 desaparece quase por inteiro, as leveduras são capazes de consumir quantidades (600 a 800 $\mu\text{g/L}$) superiores as quantidades normalmente encontradas nos mostos. As outras vitaminas presentes em menor quantidade não possuem grandes variações em relação aos teores encontrados nos mostos e nos vinhos. Pode-se afirmar que na maioria dos mostos encontram-se quantidades suficientes destas vitaminas, no entanto, nem sempre os teores encontrados estão na faixa ótima para o transcurso das fermentações (Boulton *et al.*, 1996)

A adição de ácido pantotênico influi diretamente na cinética e nos subprodutos da fermentação, já que este interfere diretamente na formação da acetil-CoA que é a base da síntese dos ácidos graxos e dos lipídios. No que diz respeito a adição de tiamina nos mostos algum estudos comprovaram que a fração de SO_2 combinado diminui e a fração de SO_2 livre

aumenta devido a diminuição no metabolismo das substâncias primeiramente combináveis ao SO₂ (Flanzy, 2003).

Tratando-se dos chamados fatores de sobrevivência, alguns autores tem destacado a ação de esteróis e alguns ácidos graxos de cadeia longa, e que estes têm influência direta na velocidade de fermentação. Afirmam-se que em condições de anaerobiose as leveduras utilizam o ergosterol como substituto do oxigênio (Togores, 2003).

Larue *et al.* (1980) e Lafon-Lafourcade (1983) concluem, em estudos realizados, que o modo de ação dos esteróis é na verdade muito mais complexo. Estes autores afirmam que a ação dos “fatores de crescimento” que significa crescimento da população máxima, em uma fermentação em anaerobiose estrita, assim como o efeito inibidor dos esteróis acontece somente quando a fermentação é conduzida em aeração constante.

Outros ativadores de fermentação tem sido utilizados, são composto de fatores de crescimento e de sobrevivência e a maioria tem origem em extratos de leveduras autolizadas. Inúmeros estudos tem comparado ativadores de fermentação e sua influência na qualidade do vinho, esses parâmetros dependem de uma série de fatores e ainda são muito estudados, (Riberéau-Gayon *et al.* 2003).

2.7 Variedade Bordô “*Vitis labrusca*”

A variedade Bordô *Vitis labrusca* foi selecionada por Henry Ives em Ohio, Estados Unidos, a partir de uma sementeira em 1840. Seu nome original é Ives ou Ives seedling, porém, no Brasil, além da denominação de Bordô utilizada no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, é também conhecida por Terci no Paraná e por Folha de Figo em Minas Gerais. Embora em certa época após ter sido selecionada, tenha tido expressão na viticultura norte americana, hoje, seu cultivo limita-se ao Brasil. Registros dão conta que foi introduzida por volta de 1904, vinda de Portugal, difundiu-se inicialmente no Rio Grande do Sul sendo depois levada para Minas Gerais, Santa Catarina e Paraná. A maior concentração de plantio

de uva Bordô está no Rio Grande do Sul e atualmente é a segunda casta de *Vitis labrusca* mais plantada no estado superada apenas pela Isabel. Destaca-se também por ser extremamente rústica e tolerante à maioria das doenças da videira. Em virtude deste fato pode-se dizer que possui bom potencial para o cultivo orgânico (Giovannini, 2005; Camargo & Falcão, 1986).

Sua descrição apelográfica, segundo Camargo & Falcão (1986), é a seguinte: ramo jovem verde com aspecto ferruginoso, lanoso, com considerável quantidade de pêlos glandulares vermelhos; extremidade semi-aberta, cotonosa, branca com tonalidade amarelo queimado e bordos rosados, recurva; folhas jovens amarelo queimado, lanosas na parte superior e cotonosas na parte inferior, planas um pouco gofradas. A folha adulta é trilobada, face superior aranhosa, face inferior cotonosa, branco ferruginosa, seio peciolar em “V” estreito com base convexa. O fruto (figura 9), apresenta cacho pequeno, cilíndrico, as vezes alado, medianamente compacto, baga preta, pequena e esférica, polpa mucilagínosa e sabor foxado intenso, muito rica em matéria corante.

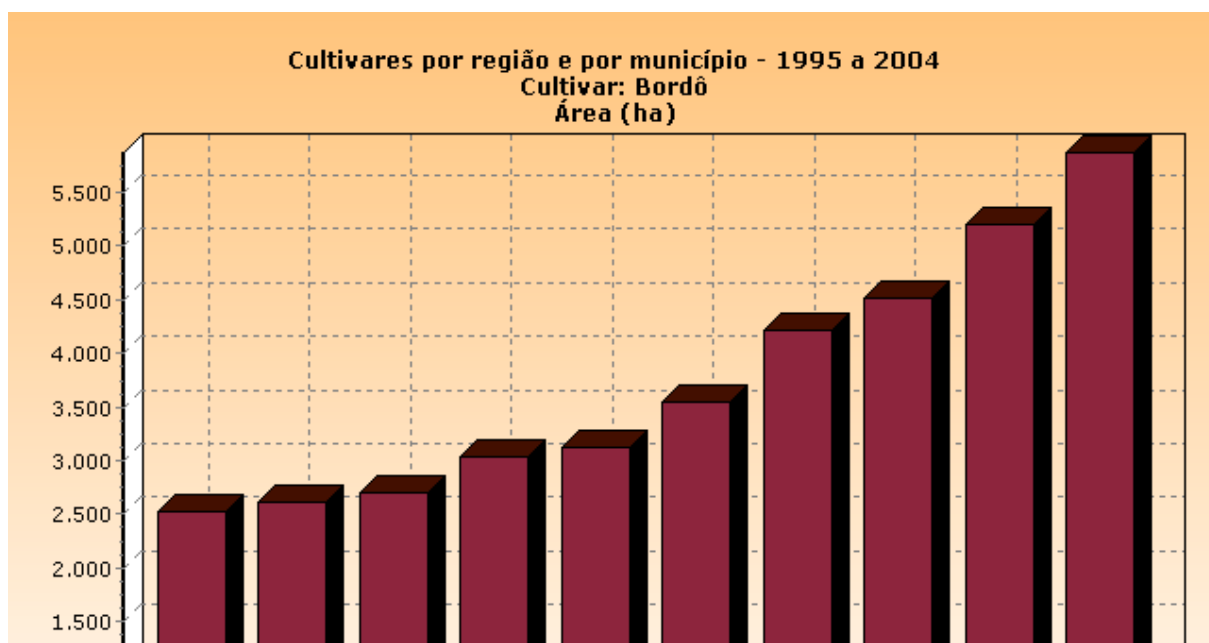


Figura 9: A uva da variedade Bordô “Ives”

Segundo registros no Ministério da Agricultura a área plantada vem crescendo em comparação com as demais variedades, isto se deve ao fato de que as empresas vinícolas, e principalmente as produtoras de suco de uva, optaram pela qualidade da matéria prima da uva Bordô, por ser superior as outras em relação a quantidade de cor e a boa acidez, o que agrega características de frescor e qualidade ao suco de uva. Além da elaboração de suco de uva é também muito utilizada para elaboração de vinhos tintos de mesa, originando vinhos de boa qualidade e excelente aceitação no mercado, que são vendidos como varietal ou entram na composição de outros vinhos tintos de mesa (Brasil, 2005).

Conforme dados do cadastro vinícola o volume de uva Bordô vinificada no ano de 2000 foi de 52.482 toneladas, em 2001 processaram-se 42.151 toneladas, em 2002 foram 54.989 toneladas, em 2003 totalizaram 39.213 toneladas, em 2004 foram vinificadas 70.888 toneladas e em 2005 já foram registrados nos cadastro vitícola um volume de 63.566 toneladas sendo que ainda faltam alguns registros (Brasil, 2005).

Na figura 10 observa-se a franca evolução na área plantada no estado, conforme o cadastro vitícola 2004. A área plantada duplicou nos últimos dez anos, e observa-se que a curva de crescimento é ascendente, isto é, existe uma previsão de crescimento para os próximos anos.



2.8 Composição química do ativante de Fermentação Actbiol Special®

Segundo o laboratório “Pall Filtratio & Separations S.p.A”, o coadjuvante enológico “Actbiol Special” é indicado para ativação da biomassa de leveduras por tratar-se de um produto rico em matéria nitrogenada facilmente assimilável proveniente de leveduras autolizadas. Sua composição química conforme comunicado técnico (anexo 1) é expressa conforme as tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Composição média do ativador de fermentação

Extrato seco: 94 – 98%	Piridoxina: 60 – 80 mg/kg
Nitrogênio total: 10 – 11,8%	Niacina: 900 – 1100 mg/kg
Nitrogênio amínico: 4,8 – 6,3%	Cianocobalamina: 5 –15 µg/kg
Nitrogênio protéico: 62,5 – 73,7%	Pantotenato de Ca ++: 120 –160 mg/kg

pH: 6,8 – 7,2
Tiamina: 100 – 120 mg/kg

Inositol: 900 – 1600 mg/kg
Riboflavina: 60 – 90 mg/kg

Fonte: Ficha técnica do laboratório “ Pall Filtratio & Separations S.p.A” (Anexo)

Tabela 3: Composição média em nitrogênio assimilável por 100 gramas de proteínas do ativador de fermentação

Arginina: 5,1%	Serina: 4,6%
Histidina: 2,1%	Treonina: 4,3%
Tirosina: 2,4%	Leucina: 7,6%
Triptofano: 1,3%	Isoleucina: 5,5%
Fenilalanina: 3,7%	Valina: 5,9%
Cisteína: 0,9%	Ac. Glutâmico: 16,3%
Metionina: 1,4%	Ac. Aspártico: 9,9%
Glicina: 4,8%	Alanina: 8,8%
Lisina: 8%	

Fonte: Ficha técnica do laboratório “ Pall Filtratio & Separations S.p.A” (Anexo)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Na realização da parte experimental foram testadas, cinco cepas de leveduras e duas doses de nutriente, mais uma testemunha. Os materiais e métodos foram divididos em quatro etapas: Microbiológica, realizada no Instituto de Biotecnologia no laboratório de Enobiotecnologia; Etapa de prática enológica, no laboratório de microvinificação do LAREN (Laboratório de Referência Enológica do estado do Rio Grande do Sul); Etapas analíticas, sensorial e físico-químicas também no LAREN e análise estatística dos resultados através do programa SPSS 12.0.

3.1 Etapa microbiológica

Nesta etapa foram realizados os cultivos das leveduras e o crescimento microbiano das células. Também o isolamento e a multiplicação do pré-inóculo.

3.1.1 Escolha das leveduras

As leveduras foram escolhidas com base na revisão bibliográfica de vários artigos na área de microbiologia enológica. Os parâmetros levados em conta foram a necessidade de nitrogênio na fermentação e a capacidade de produção de álcoois superiores e ésteres. Utilizou-se leveduras de espécies diferentes, algumas com caráter de neutralidade e outras com grande tendência a formação de ésteres, além de algumas que são utilizadas como parâmetro de experimentação. Também observou-se o fato de escolher leveduras que estejam disponíveis atualmente no setor enológico, a fim de possibilitar uma maior difusão de

tecnologia posteriormente a experimentação. Baseando-se nestes dados as cepas de leveduras escolhidas foram determinadas conforme apresentado na tabela 4.

Tabela 4: Leveduras comerciais utilizadas nas microvinificações e suas características enológicas.

Marca Comercial	Espécie de levedura	Necessidade de Nitrogênio	Formação de ésteres
MONTRACHET ® (Davis 522)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alta	Média
BENDA II ®	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Média	Baixa
AWRI 796 ®	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alta	Baixa
BLASTOSEL FR 95 ®	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Média	Alta
PDM (Prisse de mousse) ®	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>bayanus</i>	Baixa	Baixa

Fonte: Dados fornecidos pelos fabricantes conforme especificações conforme anexo 2.

A cepas Benda II e Montrachet foram obtidas da coleção do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul. As outras, são leveduras comerciais provenientes das marcas Maurivin® (AWRI 796 e PDM) e Laboratório Pall Filtration & Separations (FR 95).

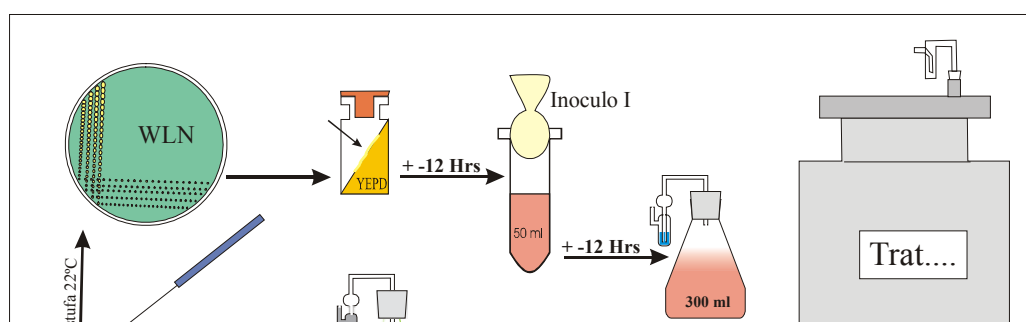
3.1.2 Isolamento e identificação

As cepas de leveduras escolhidas foram submetidas a isolamento em meio WLN, vertido em placas de Petri, conforme metodologia descrita por Delfini (1995). Mesmo em se tratando de leveduras comerciais optou-se por isolamento, a fim de garantir a

autenticidade da cepa. Após o isolamento, através do método de estrias e crescimento em estufa a 24°C por 48 horas, observou-se o crescimento de colônias. Estas foram isoladas com a técnica de alçada de levedura e depositadas em frascos de vidro com meio YEPD inclinado para crescimento em estufa a 24°C. Após, os frascos com meio inclinado foram armazenados a temperatura de 4°C, para posterior multiplicação do pré inóculo. O isolamento foi realizado conforme metodologia descrita por Yarrow (1998).

3.1.3 Preparo do pré-inóculo

Após isolamento e identificação, as cinco leveduras foram multiplicadas em mosto estéril (mosto submetido ao aquecimento de 70 °C por 10 minutos, três vezes). Inicialmente, 50 mL de mosto estéril foram colocados em tubos de ensaio onde foram inoculadas as leveduras através de alça de platina em câmara de fluxo laminar. Posteriormente, os tubos foram colocados em estufa de cultura a uma temperatura de 24 °C por um período de aproximadamente 24 horas. Observou-se então o crescimento dos cultivos. A contagem de células foi realizada através da técnica microscópica com câmara de Neubauer. Após a constatação de um cultivo superior a 5.10^7 células viáveis por mL o pré-inóculo foi aumentado para 300 mL de mosto estéril e submetido à estufa a uma temperatura de 24°C. Depois de aproximadamente 48 horas, realizou-se nova contagem e constatou-se um cultivo de aproximadamente 6.10^6 células viáveis por mL de mosto estéril em todas as cinco cepas de leveduras. O pré-inóculo foi então aumentado de 300 mL para 4,6 litros e colocado em estufa para crescimento, o desenvolvimento foi acompanhado por contagem em câmara de Neubauer e azul de metileno afim de estabelecer uma boa viabilidade de células e uma contagem superior a 5.10^6 cel./mL no mosto a ser fermentado. O esquema de multiplicação das leveduras e preparo do pré inoculo esta exemplificado na figura 11.



3.2 Etapa de prática enológica

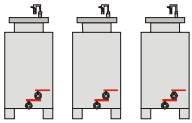
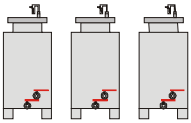
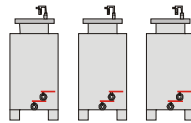
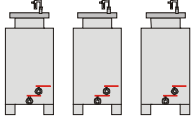
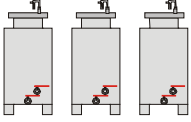
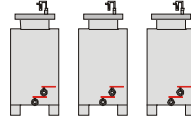
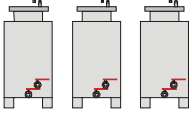
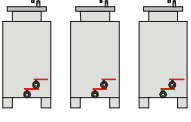
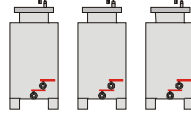
3.2.1 Microvinificações

A colheita da uva foi realizada durante a safra 2005, nos vinhedos da Vinícola Don Affonso localizados no município de Flores da Cunha, localidade de São Caetano. Foram colhidas 1200 kg de uva da variedade Bordô de um vinhedo de aproximadamente 15 anos, conduzido no sistema de latada simples, com poda mista e produção média de quinze toneladas por hectare. As uvas foram colhidas ao acaso, com as mesmas condições de fertilização e manejo foliar. Procurou-se obter uvas com as mesmas características físico químicas, teor de açúcar médio de 17 Brix e acidez total de 70 meq/L. Posteriormente à colheita, as uvas foram conduzidas ao laboratório de microvinificação do LAREN, onde foram realizadas as microvinificações.

As uvas foram submetidas ao processo de desengace e esmagamento, por equipamento especialmente projetado para microvinificação. O mosto obtido foi dividido em quarenta e cinco microvinificações. As microvinificações foram conduzidas em recipientes de aço inox e vidro com capacidade de 50 litros, acoplados com válvulas de Müller. Cada microvinificação foi realizada com 20 kg de mosto proveniente de uva desengaçada. Foi

adicionada uma dose de SO₂ de 20 mg/L logo após o desengace e esmagamento e após uma hora foi adicionada uma dose de 2g/hL de enzima pectolítica enológica.

Posteriormente a adição da enzima, os recipientes foram separados em cinco grupos de nove recipientes cada (cada grupo para uma cepa de levedura), cada grupo subdividiu-se em três (três recipientes para cada dose de ativador de fermentação) obtendo-se a divisão referente a adição de nutriente a base de aminoácidos, utilizou-se duas doses e uma testemunha apenas com a levedura, uma com 2g/hL (dose recomendada pelo fabricante) e outra parcela com 4g/hL de ativador de fermentação da marca Actibiol Special. Assim, obteve-se cinco tratamentos referentes à cepa responsável pela fermentação e três tratamentos referentes ao ativador de fermentação. Totalizando quinze tratamentos, com três repetições cada, dando um total de quarenta e cinco vinificações. Procurou-se avaliar o comportamento da levedura isoladamente e a quantidade de matéria nitrogenada disponível. Após a divisão e subdivisão dos grupos experimentais, e ministradas as doses do ativador de fermentação, adicionou-se o pré-inóculo de cada cepa previamente multiplicado (conforme descrito anteriormente), garantindo que ocorra o início da fermentação com um número de células viáveis de no mínimo 50.10⁴ por ml de mosto a fermentar, assegurando o predomínio da cepa inoculada. Posteriormente, os recipientes foram todos agitados afim de promover uma igual distribuição dos nutrientes, e em cada um, foi colocado uma válvula de Müller para impedir a entrada de ar. Desta forma, a unidade experimental ficou definida conforme demonstrado na figura 12. Durante a fermentação/maceração realizaram-se três remontagens diárias.

Dose de Ativante Levedura	<i>Testemunha</i> 0 g/HL	2 g/HL	4 g/HL
<i>Montrachet</i>			
<i>PDM</i>			
<i>FR 95</i>			
			

3.2.2 Finalização da vinificação

A fermentação alcoólica e maceração estenderam-se por dez dias. Após este período, o líquido foi separado da parte sólida (cascas e sementes) e conduzido a recipientes de vidro de 4,6 litros para realização da fermentação maloláctica (FML). Após realização da FML, o vinho foi submetido a estabilização tartárica à frio por quinze dias a temperatura controlada de -3°C . Foram adicionadas mais 20 mg/L de SO_2 , e posteriormente acondicionado em garrafas de vidro de 750 mL, devidamente codificadas e armazenadas em condições ideais de umidade e temperatura. Obtiveram-se dez garrafas de cada vinificação, totalizando 450 garrafas. Na figura 13, observamos os vinhos na fase final de fermentação e os recipientes utilizados para vinificação.



3.3 Etapa analítica

As amostras foram encaminhadas para as análises clássicas do vinho e posteriormente para determinação de antranilato de metila, furaneol e o-aminoacetofenona. Foram determinados também os álcoois superiores, ésteres, ácidos graxos e 2-fenil etanol. Após a obtenção dos resultados analíticos, foi formado um painel de análise sensorial com profissionais da área, afim de estabelecer um parâmetro sensorial de qualidade do vinho tinto de mesa Bordô. As metodologias analíticas serão descritas a seguir para cada variável.

3.3.1 Análises Clássicas

Para acompanhamento do final da fermentação e avaliação dos parâmetros clássicos de controle físico-químico dos vinhos as amostras foram submetidas a análise através da metodologia de infra-vermelho próximo, utilizando equipamento Wine Scan[®] (FOSS). As variáveis analisadas foram: teor alcoólico, pH, acidez total e volátil, açúcares totais e densidade.

3.3.2 Determinação do antranilato de metila, furaneol e o-aminoacetofenona

A determinação analítica de furaneol, antranilato de metila e o-aminoacetofenona foi realizada segundo o método de Guedes de Pinho (1994), que utiliza

cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS). Para a análise foi utilizado um cromatógrafo Agilent Plus série 6890 (EUA), equipado com injetor automático e amostrador Agilent série 7683, acoplado a um detector seletivo de massa Agilent 7683Network (EUA).

Para a solução de referência utilizou-se um balão volumétrico com tampa esmerilhada de 100 mL, onde foram adicionados 3 gramas de sulfato de sódio anidro (Merck), 50 mL de solução hidroalcoólica a 12 % contendo: 1,212 mg/L de antranilato de metila (Eastman Organic Chemicals[®]); 1,002 mg/L de o-aminoacetofenona (Aldrich[®]); 1,036 mg/L de furaneol (Aldrich[®]) e 1 mL de solução de 2-octanona (Aldrich[®]) a 4,688 mg/L em solução hidroalcoólica (40%) (padrão interno). Foi realizada uma extração *líquido/líquido* em três etapas utilizando-se respectivamente 8 mL, 2 mL e 2 mL de acetato de etila a 99,8 % (Merck[®]). Em cada etapa a mistura foi agitada em agitador magnético durante 5 minutos, separando-se a fase orgânica em funil de separação. As 3 frações foram reunidas e homogeneizadas. As condições cromatográficas para esta análise foram as seguintes: 1,0 µL da amostra foi injetado no cromatógrafo no modo "*split/splitless*" com divisão 30 mL/min a 200°C, o tempo de "*splitless*" foi de 0,5 min. Coluna capilar CP Inowax (Agilent) de 30 m de comprimento, 250 µm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme. O gás vetor foi o Hélio, com as seguintes condições de temperatura do forno: 40°C por 5 min; 60 a 200°C a 3°C min⁻¹; 200°C por 30 min. A temperatura do detector de massa foi de 250°C com um impacto eletrônico de 70 eV, e no multiplicador de elétrons de 2,7 KV, no modo "selected ion monitoring" (SIM).

A identificação do furaneol, antranilato de metila e o-aminoacetofenona nos vinhos foi realizada através da comparação com o tempo de retenção das substâncias puras (solução de referência) e com o espectro de massa fornecido pela biblioteca de espectros (Wiley 275), conforme cromatograma da figura 14. Os íons específicos do furaneol são respectivamente (m/z) 43, 57 e 128, do antranilato de metila são (m/z) 92, 119 e 151 e da o-

aminoacetofenona (m/z) são 92, 120, 135 e 136. A aquisição nestes íons permitiu identificar a presença destes compostos.

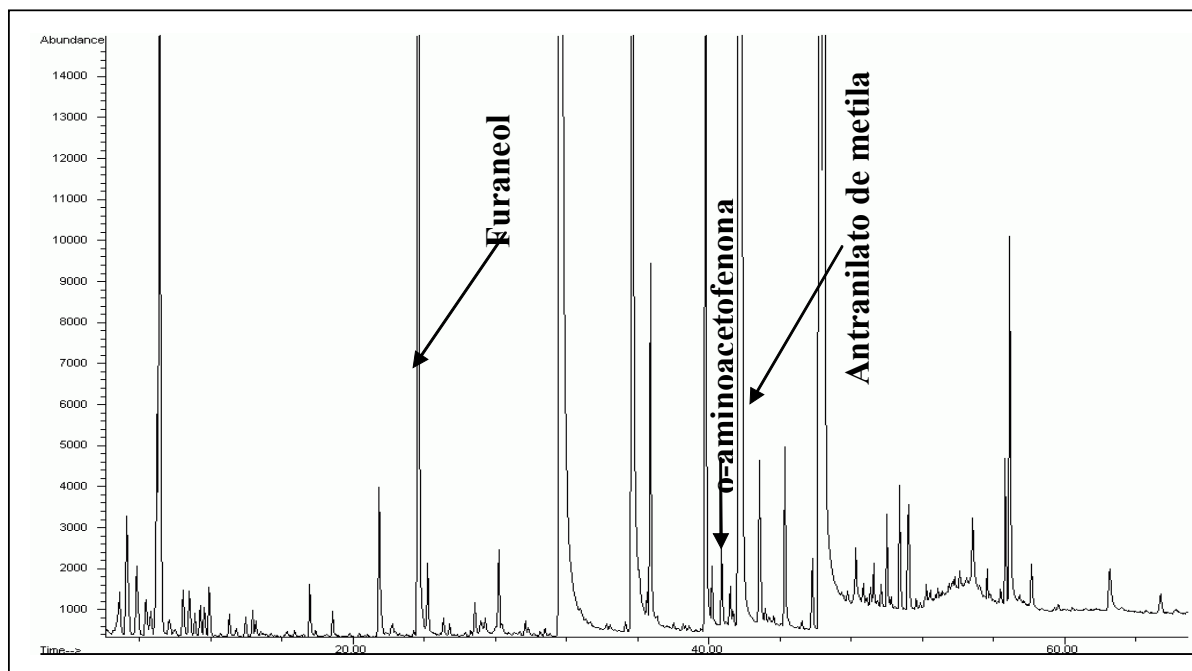


Figura 14: Exemplo de cromatograma da análise de Antranilato de metila, furaneol e o-aminoacetofenona de um vinho de mesa da variedade Bordô.

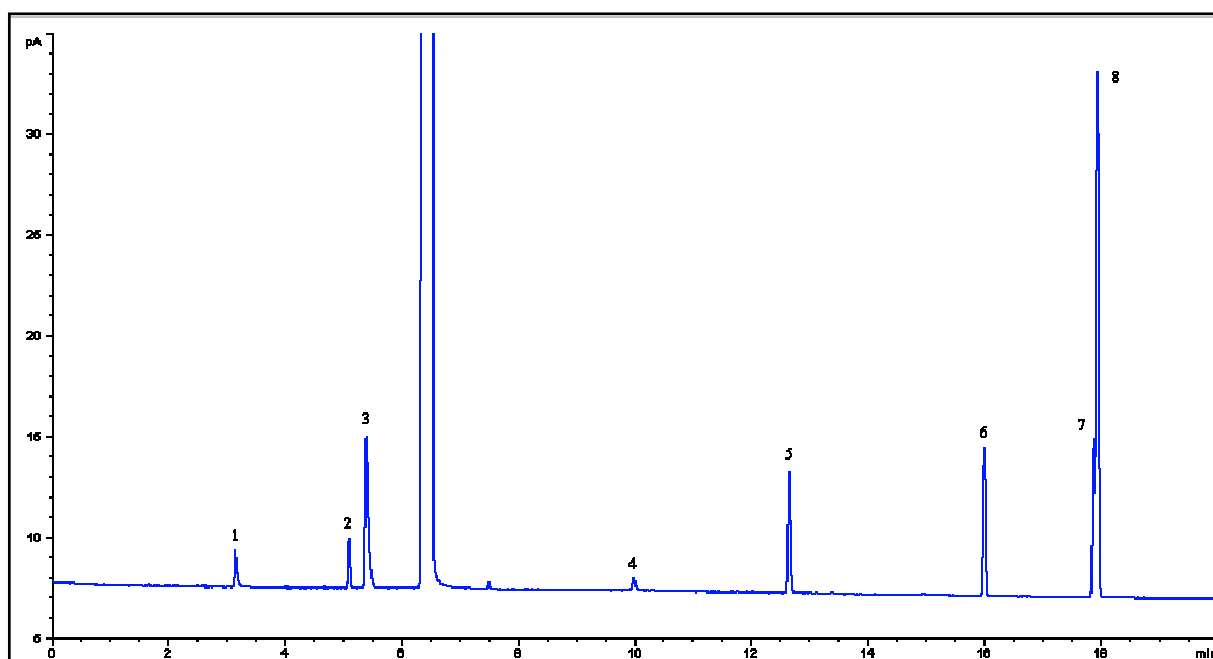
Para determinação nas amostras de vinho, em um balão volumétrico de 100 mL foram adicionados 3 g de sulfato de sódio, 50 mL de vinho e 1 mL de solução de 2-octanona (Aldrich®) a 4,688 mg/L em solução hidroalcoólica (40%) (padrão interno). Posteriormente foi feita uma extração *líquido/líquido* em três etapas utilizando-se respectivamente 8 mL, 2 mL e 2 mL de acetato de etila. Em cada etapa a mistura foi agitada em agitador magnético durante 5 minutos, separando-se a fase orgânica em funil de separação, as 3 frações foram reunidas e 1,0 μ L da amostra foi injetado no cromatógrafo.

As concentrações das substâncias foram calculadas pelo método de padrão interno, que consiste em adicionar uma quantidade conhecida de uma substância não existente na amostra a analisar e assim obter o cálculo dos teores nos vinhos.

3.3.3 Determinação dos álcoois superiores, etanal, acetato de etila e metanol

As determinações do conteúdo de etanal, acetato de etila, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol foram realizadas simultaneamente por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-FID), conforme procedimentos de Bertrand (1981). Para a análise foi utilizado um cromatógrafo Agilent® Plus série 6890 equipado com injetor automático Agilent® série 7683 (EUA).

A análise do destilado de 100 mL de vinho, sendo que sobre uma alíquota de 5mL foi adicionado 70 µL de uma solução 5 g/L de 4-metil-2-pentanol (padrão interno). O cromatograma obtido, conforme a figura 15, foi comparado com o cromatograma de uma solução dos padrões envolvidos, segundo o método do padrão interno.



Para esta análise, 1,0µL da amostra foi injetada no cromatógrafo no modo “split” com divisão 60mL/min a 220°C. Foi utilizada uma coluna capilar CPWax 57CB de

60m de comprimento, 250 µm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme. O gás vetor foi hidrogênio 5.0 em fluxo de 2,0 mL min⁻¹ e nitrogênio, como gás auxiliar, a 37 mL min⁻¹. As condições de temperatura do forno foram: 40°C por 5 min; 40 a 100°C a 3°C /min.; 100 a 220°C a 7°C /min.; 220°C por 10 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético em 400 mL/min. e hidrogênio 5.0 em 35 mL min⁻¹. A temperatura do detector foi controlada em 230°C.

Uma solução estoque dos padrões, em solução hidroalcoólica 50% v/v na concentração de 1 g/L, foi preparada e conservada sob refrigeração. O controle foi feito com solução estoque diluída em 2:10 e a linearidade e a repetibilidade do método observadas conforme procedimento da análise descrito anteriormente.

3.3.4 Determinação dos ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis, acetatos e 2-feniletanol

As determinações do conteúdo de ácidos graxos, ésteres, ácidos voláteis, acetatos e 2-feniletanol foram realizadas simultaneamente por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-FID), conforme procedimentos de Bertrand (1981). Para a análise foi utilizado um cromatógrafo Agilent® Plus série 6890 equipado com injetor automático Agilent® série 7683 (EUA). Em 50 mL de vinho foi adicionado 1 mL de 3-octanol e 1mL de ácido heptanóico, ambos a 50 mg/L como padrões internos, sendo a mistura acidificada com 0,3 mL de ácido fosfórico 1:3. Nestas condições, foram realizadas três extrações líquido/líquido sucessivas na ordem volumétrica 4:2:2 de uma mistura dos solventes orgânicos éter/hexano (1:1). A fase orgânica foi mantida em contato com a amostra por meio da agitação intensa em agitador magnético durante 5 min. Os extratos de cada extração foram então recolhidos através da separação das fases em funil de separação e colocados em "vial" para serem analisados em CG-FID. O cromatograma resultante, conforme exemplo

apresentado na figura 16, permitiu identificar e quantificar ésteres, ácidos voláteis e 2-feniletanol.

Os picos cromatográficos obtidos foram comparados àqueles encontrados no cromatograma da solução de padrões (concentrações conhecidas) das substâncias envolvidas, conforme método do padrão interno. Uma solução estoque dos padrões, em solução hidroalcoólica 50% v/v em concentrações próximas a 1 g/L, foi preparada e conservada sob refrigeração. O cromatograma padrão foi obtido pela diluição da solução estoque em 1:100, seguindo o procedimento de análise descrito anteriormente.

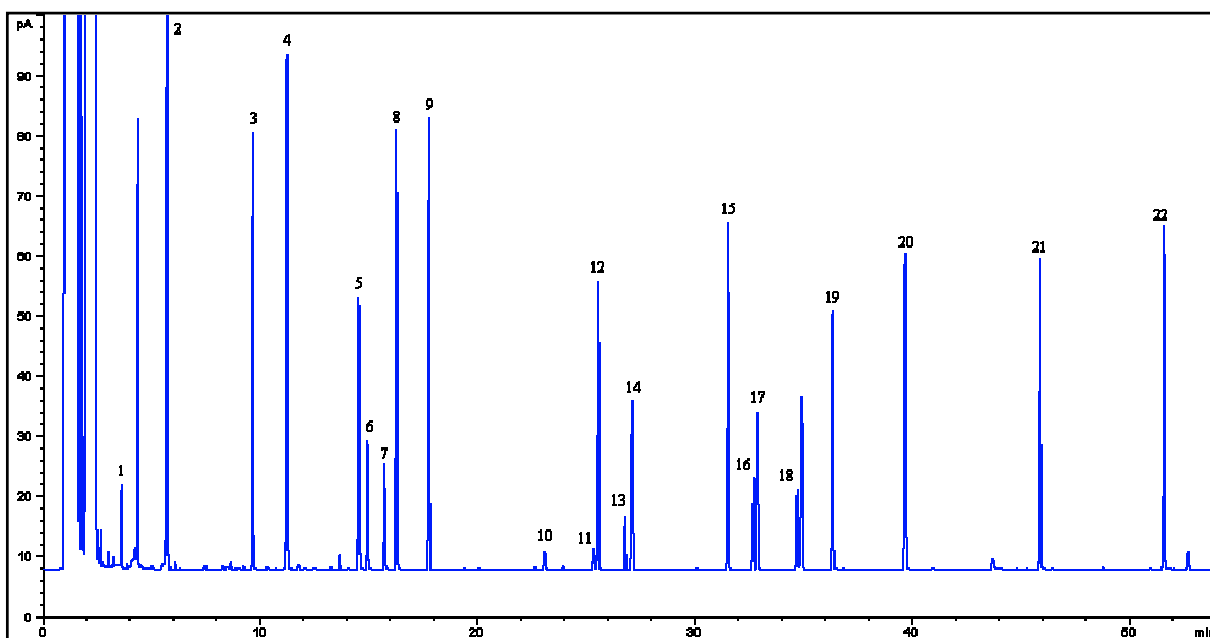


Figura 16: Exemplo de cromatograma da análise de ésteres, ácidos voláteis e 2-feniletanol. As substâncias identificadas foram: (1) Butirato de etila; (2) Acetato de isoamila; (3) Hexanoato de etila; (4) Acetato de hexila; (5) Hexanol; (6) Cis-3-Hexen-1-ol; (7) Trans-3-Hexen-1-ol; (8) octanol (padrão interno); (9) Octanoato de etila; (10) Ácido isobutírico; (11) Ácido butírico; (12) Decanoato de etila; (13) Ácido isovaleriânico; (14) Dietil succinato; (15) Acetato de feniletila; (16) Ácido hexanóico; (17) Dodecanoato de etila; (18) 2-Feniletanol; (19) Ácido heptanóico (padrão interno); (20) Ácido octanóico; (21) Ácido decanóico; (22) Ácido láurico.

Para esta análise, 2,0µL da amostra foram injetados no cromatógrafo no modo "splitless" com divisão 60 mL/min. a 240°C. Foi utilizada uma coluna capilar CP Inowax de 30m de comprimento, 250 µm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme. O gás vetor foi o hidrogênio 5.0 em fluxo de 2,0 mL/min. e nitrogênio, como gás auxiliar, a 37 mL min⁻¹. As condições de temperatura do forno foram: 40°C por 5 min; 40 a 230°C a 3°C min⁻¹;

230°C por 20 min. A combustão foi mantida com fluxo de ar sintético em 400mL/min. e hidrogênio 5.0 em 35 mL/min. A temperatura do detector foi controlada em 220°C.

3.3.5 Análise sensorial

Os vinhos elaborados foram avaliados através da análise sensorial por um grupo de enólogos treinados. Conforme ficha de degustação (Anexo 3), os requisitos avaliados compreenderam exame visual, olfativo e gustativo. No exame visual foram avaliadas as intensidades de cor, tonalidade dominante e apreciação visual. Para o exame olfativo foram verificados as intensidades globais, descritores percebidos, eventuais defeitos e intensidade do aroma foxado. No exame gustativo foram avaliadas as características básicas de gosto e a apreciação gustativa, sendo ao final avaliado a qualidade total do conjunto.

3.4 Análise dos resultados

Os resultados obtidos foram submetidos a tratamento estatístico através do programa computacional de estatística aplicada, SPSS 12.0 for Windows. Após a constatação da distribuição normal dos resultados o teste paramétrico utilizado foi (ANOVA) com teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância.

4 RESULTADOS E DICUSSÃO

Neste capítulo, dividido em quatro seções, serão apresentados e discutidos os resultados alcançados neste trabalho. Durante a apresentação dos resultados serão utilizadas figuras e tabelas ilustrativas das discussões, sendo que os dados completos encontram-se dispostos em forma de tabela, no anexo 4. Os resultados gerais das tabelas com os valores médios e a diferenciação estatística também encontram-se no mesmo anexo.

Na primeira seção serão apresentados e discutidos os resultados referentes às diferenciações encontradas nos vinhos elaborados com as cepas de leveduras, Benda II, AWRI 796, FR 95, PDM e Montrachet. Foram quantificados compostos voláteis de origem fermentativa além dos compostos responsáveis pelo caráter foxado. Os resultados foram avaliados em relação as diferentes fermentações realizadas nos ensaios de microvinificação.

Na segunda seção, foram avaliados os resultados referentes às diferentes doses do ativador de fermentação, foram ministradas duas doses de 2 e 4 g/hL, mais uma testemunha. Foram quantificados os principais compostos voláteis provenientes da fermentação. Os resultados foram avaliados através de análise estatística e comparados com outros estudos sobre o referido tema.

Na terceira seção foram avaliadas as interações existentes entre a levedura e o ativador de fermentação através de análise estatística com comparação de médias pela análise de variância (ANOVA), com o teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância.

Na quarta seção foram realizadas comparações entre as análises sensoriais e os resultados físico-químicos, bem como a avaliação das potencialidades de cada cepa de

levedura e suas interações com o ativador de fermentação no que diz respeito à qualidade sensorial do vinho.

4.1 Avaliação dos resultados referentes aos vinhos elaborados com distintas cepas de leveduras.

4.1.1 Análises Clássicas dos vinhos.

A avaliação das análises clássicas se deu através dos parâmetros de teor alcoólico, acidez total, acidez volátil, pH e açúcares redutores, foram realizados através da técnica de infravermelho próximo “WineScan”, cujos valores constam na tabela 5.

No que diz respeito ao teor alcoólico os vinhos fermentados com a Benda II apresentaram os menores valores 9,95 %. Entretanto, os vinhos obtidos com as outras leveduras avaliadas não diferiram significativamente para este parâmetro.

Em relação à acidez volátil a cepa AWRI 796 apresentou os valores mais elevados, com uma média de $0,23 \text{ g/L} \pm 0,06 \text{ g/L}$ expressa em ácido acético. Para as outras cepas os valores médios foram menores. Os valores são considerados aceitáveis e constata-se que todas as fermentações ocorreram sem contaminação de bactérias acéticas.

A acidez total oscilou entre dois grupos, nos vinhos fermentados com as cepas FR 95, Montrachet e Benda II obteve-se um valor médio de $7,3 \text{ g/L} \pm 0,17 \text{ g/L}$ expresso em ácido tartárico. Nos vinhos fermentados com as cepas AWRI 796 e PDM obteve-se o valor médio de $7,7 \text{ g/L} \pm 0,15 \text{ g/L}$ expresso em ácido tartárico e diferem-se estatisticamente do outro grupo.

O pH dos vinhos não sofreu alterações em função da cepa de levedura, a maior diferença foi observada nos vinhos fermentados com a cepa PDM $3,40 \pm 0,04$ em relação à cepa FR 95 com $3,48 \pm 0,04$, as outras cepas oscilaram os valores próximos a 3,45.

A quantidade de açúcares redutores nos vinhos foi sempre inferior a 2,0 g/L, constatando-se que todas as fermentações foram concluídas de maneira satisfatória.

As análises clássicas apresentaram resultados similares aos realizados com a variedade *Vitis labrusca* Isabel por Rizzon *et. al.* (2000), onde foram estudadas sete safras vitícolas. Os resultados das análises clássicas do vinho mostraram que todas as cepas de leveduras, quanto aos parâmetros de controle, foram consideradas satisfatórias no que diz respeito à qualidade final do vinho.

Tabela 5: Influência da cepa de levedura nas análises clássicas do vinho tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*”

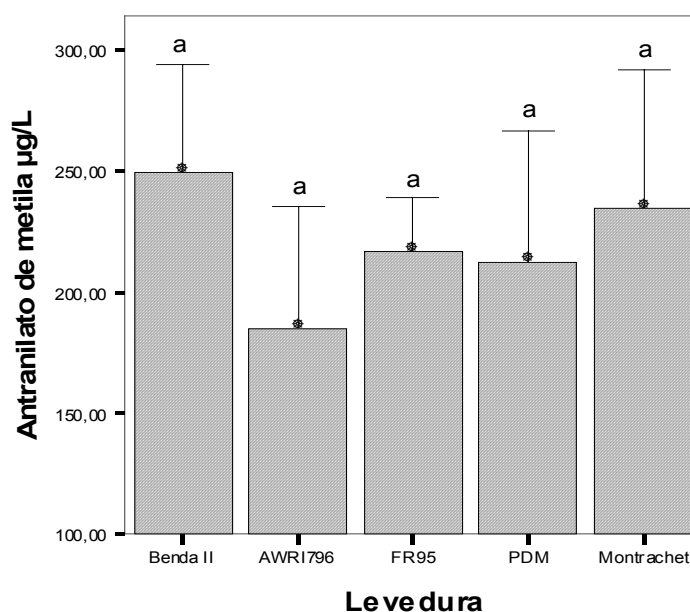
Variáveis	LEVEDURA										Méd.	Desvio P.
	Benda II		AWRI 796		FR 95		PDM		Montrachet			
Teor alcoólico %	9,95	a	10,02	a	10,41	a	10,0	a	10,34	a	10,15	0,21
Açúcar red. (g/L)	1,66	a	1,81	b	1,74	ab	1,80	ab	1,79	ab	1,76	0,06
pH	3,44	ab	3,41	ab	3,49	b	3,40	a	3,42	ab	3,43	0,03
Ac. tot. (ac. Tart.)	7,44	a	7,73	b	7,23	a	7,74	b	7,33	a	7,49	0,23
Ac. Vol. (ac. Acet.)	0,15	a	0,23	b	0,16	a	0,16	a	0,17	ab	0,17	0,03

** Médias seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância

4.1.2 Antranilato de metila

Os teores de antranilato de metila encontrados nos vinhos fermentados com diferentes cepas de leveduras não apresentaram diferenciação estatística segundo teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância (figura 17), no entanto observa-se que os teores apresentaram variações segundo os tratamentos. O vinho fermentado com a cepa AWRI 796 apresentou o menor valor (184,9) µg/L, o que corrobora as informações do fabricante como cepa de caráter neutro. Os vinhos fermentados com as cepas PDM e FR 95 apresentaram valores similares 212 e 215 µg/L respectivamente. Os vinhos elaborados com a cepa Montrachet apresentaram valor médio de 235 µg/L. Os vinhos que apresentaram os valores mais elevados (250 µg/L) foram os fermentados com Benda II.

Wang & De Luca (2005) afirmam que a produção de antranilato de metila em videiras *Vitis labrusca* está relacionada com expressões enzimáticas presentes em certas variedades de videiras, podendo ser reguladas através da ação enzimática da planta. Os teores encontrados no presente trabalho são mais elevados se comparados aos encontrados por Guedes de Pinho, (1994) que variaram entre 60 e 164 µg/L. Todos os vinhos apresentaram teores menores que o limiar de percepção sugerido por Nelson *et al.* (1977) é de 300 µg/L.



O valor médio dos teores de antranilato de metila no vinho tinto de mesa Bordô “Ives” do experimento foi de 219,8 µg/L. Os níveis encontrados mostram que este composto não é determinante em relação ao caráter foxado no vinho, já que todos os valores se encontram abaixo do limiar de percepção.

4.1.3 Furaneol (4-hidróxi-2,5-dimetil-furan-3-ona)

Em relação aos teores de furaneol os vinhos apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Os vinhos fermentados com as cepas Montrachet, FR 95 e AWRI 796, apresentaram valores médios de 9,14; 11,5 e 11,9 mg/L respectivamente. Os vinhos

fermentados com a cepa PDM não diferiram-se significativamente e seu valor médio foi de 12,5 mg/L. Os vinhos fermentados com a levedura Benda II diferiram significativamente obtendo os valores mais elevados, seu valor médio foi de 15,37 mg/L (tabela 6, página 51).

Os resultados mostraram que os teores de furaneol variaram significativamente em função da cepa de levedura. O valor médio de furaneol encontrado no vinho tinto de mesa do experimento foi de 12 mg/L. Na figura 18 podemos observar as variações nos teores de furaneol dos vinhos fermentados com diferentes cepas de leveduras, bem como sua diferenciação estatística.

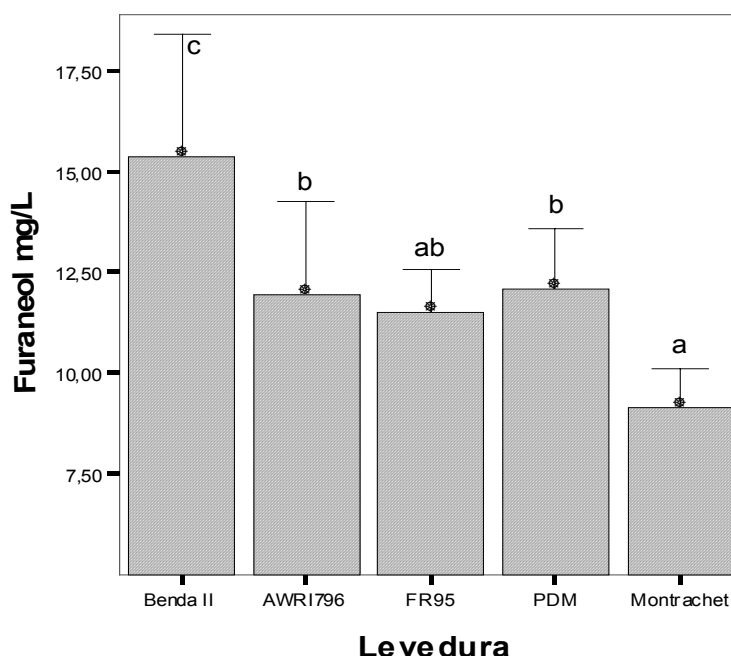


Figura 18: Teores médios de furaneol nas diferentes fermentações, as letras diferem entre si através do teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância.

Guedes de Pinho (1994), determinou furaneol em vinhos de diferentes variedades da região dos vinhos verdes de Portugal, dentre estas algumas *Vitis labrusca*, encontrando valor médio de 2 mg/L. Ferreira *et al.*, (2003) aperfeiçoaram a determinação de furaneol através de cromatografia gasosa acoplada a captura de íons. Genovese *et al.*, (2005a), determinaram os teores de furaneol através de GC-MS (SIM) em diferentes vinhos *Vitis vinifera* italianos encontrando quantidades consideráveis nas variedades Primitivo e Refosco.

Hauck *et al.*, (2003) estudaram a formação de furaneol pela levedura osmofílica *Zigosaccharomyces rouxii* e constataram que a adição de certos compostos influenciam no seu metabolismo.

Comparando-se os resultados encontrados para os vinhos neste trabalho, constata-se que os mesmos possuem quantidades bem maiores de furaneol em comparação aos estudos realizados na Europa. Vinhos da variedade Bordô apresentam teores mais elevados em comparação a outras variedades americanas, e por isso furaneol constitui um composto de grande impacto no aroma destes vinhos.

Segundo Anocibar Belouqui e Bertrand, (1994) a ação enzimática sobre as formas glicosiladas do furaneol tem grande impacto no aroma dos vinhos. Um estudo realizado, por estes autores, constatou que enzimas pectolíticas com atividades secundárias β -glucosidásicas chegaram a aumentar em até 50% os teores de furaneol. Hernández *et al.*, (2003) concluíram que as diferentes cepas de leveduras possuem atividades enzimáticas β -glucosidásicas distintas e que estas podem ser modificadas durante o processo de vinificação. Villena *et al.*, (2005) aperfeiçoaram um método de estudo sobre atividade β -glucosidásica de leveduras vínicas não *Saccharomyces*.

As atividades enzimáticas encontradas em distintas cepas de leveduras modificam a composição química e organoléptica dos vinhos em função das condições de vinificação (Fia *et al.*, 2005).

A relação entre atividade β -glucosidásica e cepa de levedura é um fator de grande impacto no caráter aromático dos vinhos, a diferenciação encontrada no vinho Bordô pode ser explicada devido as diferentes atividades enzimáticas de cada cepa de levedura.

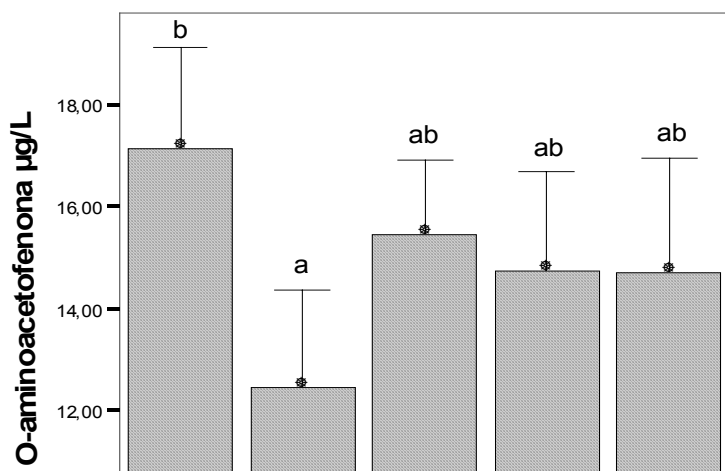
4.1.4 O-aminoacetofenona

A presença da o-aminoacetofenona é um importante fator em relação ao perfil aromático dos vinhos, por possuir um limiar de percepção muito baixo (Guedes de Pinho, 1994).

Os teores de o-aminoacetofenona encontrados nos vinhos fermentados com diferentes leveduras diferiram-se significativamente entre os tratamentos (figura 19). A cepa AWRI 796 obteve o menor teor, (12,45 µg/L). As cepas Montrachet, PDM e FR 95 obtiveram valores médios de 14,7 ; 14,75 e 15,4 µg/L respectivamente. A cepa Benda II apresentou os maiores níveis, com média de 17,14 µg/L. O teor médio de o-aminoacetofenona do vinho tinto de mesa Bordô no experimento foi de 14,9 µg/L.

Segundo Guedes de Pinho (1994) os teores de o-aminoacetofenona em vinhos de *Vitis labrusca* variam de 0,8 a 2,1 µg/L, valores bem inferiores aos encontrados no vinho Bordô estudado. Os teores encontrados são também mais elevados em comparação aos indicados por Acree *et al.*, (1990).

Os resultados mostraram que a o-aminoacetofenona varia significativamente em relação à cepa de levedura utilizada na fermentação alcoólica, concordando com os estudos de Hoenicke *et al.* (2002) que afirma que esta substância estaria relacionada com o metabolismo de *Saccharomyces*.



4.1.5 Intensidade do caráter foxado

A soma do antranilato de metila, furaneol e o-aminoacetofenona, dividida pelo seu respectivo limiar de percepção, está representada na tabela 6. Esta variável tem o intuito de estabelecer em qual dos tratamentos se elaborou o vinho com mais ou menos característica foxada. Os vinhos elaborados com a cepa Montrachet apresentaram os menores valores de compostos foxados. Já os elaborados com a cepa Benda II apresentaram diferenciação significativa em relação aos outros vinhos com os teores mais elevados. Os vinhos elaborados com as cepas AWRI 796, FR 95 e PDM apresentaram valores intermediários muito próximos entre si.

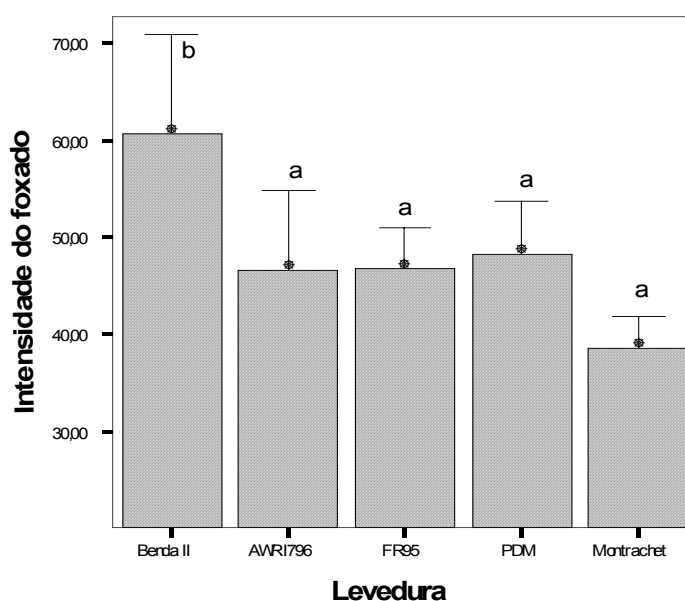
Tabela 6: Influência da cepa de levedura nos teores de compostos responsáveis pelo caráter foxado do vinho Tinto de mesa Bordô “Vitis labrusca”.

Variáveis* (µg/L)	LEVEDURA				
	Benda II	AWRI 796	FR 95	PDM	Montrachet
*Antranilato de metila	249,00 ± 58,0 ^a	184 ± 65,0 ^a	216 ± 28,0 ^a	212 ± 70,0 ^a	235 ± 74,0 ^a
Furaneol (mg/L)	15,30 ± 4,0 ^b	11,90 ± 3,0 ^a	11,50 ± 1,4 ^a	12,60 ± 2,0 ^{ab}	9,10 ± 1,2 ^a
*o-aminoacetofenona	17,10 ± 2,5 ^b	12,40 ± 2,5 ^a	15,40 ± 1,9 ^{ab}	14,70 ± 2,5 ^{ab}	14,70 ± 2,9 ^{ab}
*Soma comp. foxados	15644 ± 3907 ^a	12119 ± 3056 ^a	11732 ± 1414 ^a	12282 ± 1979 ^{ab}	9394 ± 1221 ^b
**Intensidade foxada	60,60 ± 13,4 ^a	46,50 ± 10,8 ^a	46,70 ± 5,5 ^a	48,20 ± 7,1 ^a	38,60 ± 4,1 ^b

Médias com desvio seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância. ** Soma dos teores divididos pelo limiar de percepção olfativa.

Segundo Nelson *et al.* (1977) o limiar de percepção do antranilato de metila é de 300 µg/L, do furaneol 300 µg/L (Rapp, 1996) e da o-aminoacetofenona de apenas 2 µg/L (Nolte *et al.*, 1993).

A soma dos compostos responsáveis pela característica foxada (figura 20) mostra que essa nota aromática os vinhos fermentados com a cepa Montrachet foram os que menos apresentaram tal característica. Os vinhos fermentados com a *Schizosaccharomices* Benda II foram os que apresentaram maior intensidade foxada.



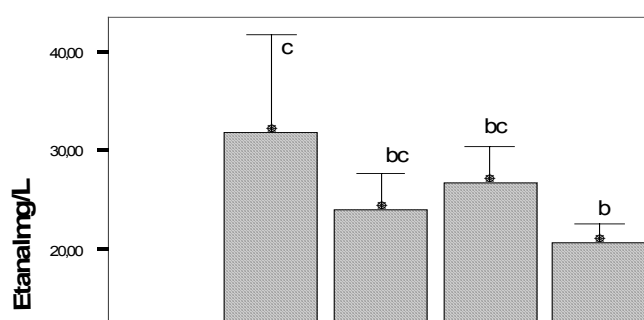
Os encontrados em maiores quantidade Guedes de Pinho (1994). Lee *et al.*, (2006) realizaram a caracterização instrumental e sensorial de vinhos provenientes de duas variedades *Vitis labrusca* tintas koreanas, onde constatarem que a característica varietal destes vinhos é marcante em relação ao caráter foxado. Também, segundo Hernández *et al.* (2003) deve-se levar em consideração a atividade β -glucosidásica presente na levedura e que esta está diretamente relacionada com a liberação de compostos aromáticos na forma glicosilada e que estes interferem de forma significativa no perfil aromático dos vinhos. Tratando-se do antranilato de metila e do furaneol, estes estão presentes

em vinhos de uvas *Vitis labrusca* e encontram-se tanto na forma livre como glicosilada e as condições fermentativas. As atividades enzimáticas podem interferir em seus teores (Anocibar Beloqui & Bertrand, 1994).

4.1.6 Etanal, metanol e álcoois superiores

O etanal é o aldeído presente em maior concentração nos vinhos. Possui múltiplas origens, grande capacidade de reação, está relacionado com a fração de SO₂ combinado e com a polimerização da cor dos vinhos tintos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003; Togores, 2003; Flanzky, 2003). Os teores de etanal variaram significativamente em função da cepa de levedura responsável pela fermentação alcoólica (figura 21 e tabela 7, página 61). Os menores teores foram encontrados para a cepa Benda II, 9,1 mg/L, constituindo uma diferenciação significativa em relação à cepa Montrachet, 20,6 mg/L. Para as cepas FR 95 e PDM os valores médios obtidos foram de 23,9 e 26,7 mg/L, respectivamente, constituindo outro grupo distinto. A cepa que apresentou os maiores valores médios foi a AWRI 796 com 31,8 mg/L. O teor médio de etanal encontrado no vinho tinto de mesa Bordô do estudado foi de 22,46 mg/L. Rizzon *et al.* (2000) encontraram um teor médio de 14,7 mg/L de etanal em vinhos tintos *Vitis labrusca*. Para Cabanis *et al.* (2003), os teores médios de etanal em vinhos tintos encontram-se no intervalo de 23 e 66 mg/L. Moreira, *et al.* (2005) realizaram um estudo testando diferentes espécies de leveduras em relação aos compostos voláteis, onde os teores de etanal encontrados oscilaram entre 93 e 68 mg/L em fermentações puras e de 81 a 39 mg/L em fermentações de culturas mistas.

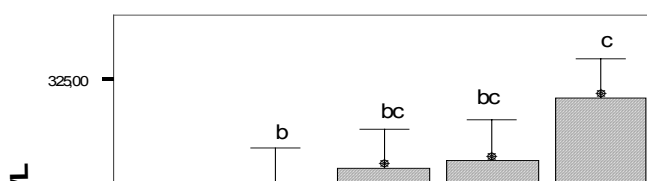
Os teores de etanal encontrados nos vinhos elaborados com diferentes cepas, foram condizentes com os estudos disponíveis na literatura, sendo considerados satisfatórios em todos os tratamentos.



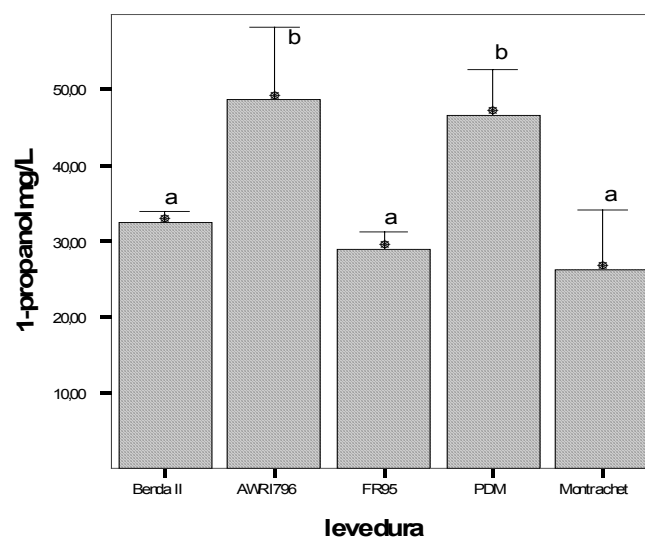
O metanol encontrado nos vinhos é resultante da ação enzimática na hidrólise das pectinas através das enzimas pectolíticas. Seus teores em vinhos *Vitis vinifera* variam de 60 a 150 mg/L (Riberéau-Gayon *et al.*, 2003). O teor máximo de metanol segundo a legislação brasileira vigente é de 350 mg/L (Brasil, 1974).

Conforme a tabela 7 e a figura 22, o vinho que obteve a menor média foi o elaborado com a levedura Benda II, apresentando 274 mg/L, seguidos pelas cepas AWRI 796 com 298,2 mg/L, FR 95 e PDM com 307,5 e 308,9 mg/L respectivamente. O tratamento que apresentou maior teor médio de metanol foi o vinho elaborado com a cepa Montrachet obtendo 321,2 mg/L. O teor médio de metanol do vinho tinto de mesa Bordô estudado, neste trabalho, foi de 302 mg/L.

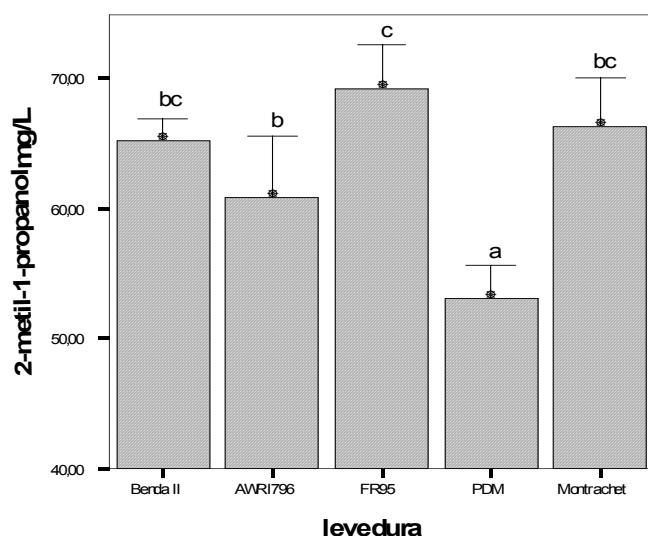
Rizzon *et al.* (2000) determinaram teores de metanol nos vinhos tintos *Vitis labrusca* brasileiros de sete safras, e obtiveram um teor médio de 268 mg/L, com valores que oscilaram entre 334 e 133 mg/L. Segundo Cabanis *et al.* (2003) os teores mínimo e máximo de metanol nos vinhos tintos são de 43 e 320 mg/L. O teor de metanol sofre um incremento importante quando são extrapolados o tempo de maceração e a dose de enzima pectolítica. (Pedruzzi, 2004). O teor médio de metanol encontrado no vinho tinto Bordô foi considerado elevado, levando em conta que durante a microvinificação foram tomados todos os cuidados necessários com dosagem enzimática e tempo de maceração.



Os teores de 1-propanol variaram significativamente em relação aos tratamentos (figura 23). Os vinhos elaborados com as cepas Montrachet, FR 95 e Benda II formaram 26,2; 28,9 e 32,4 mg/L respectivamente. As cepas PDM e AWRI 796 obtiveram 46,5 e 48,6 mg/L , o teor médio foi de 36,5 mg/L. Rizzon *et al.* (2000) obtiveram uma média de 36 mg/L de 1-propanol em vinhos tintos *Vitis labrusca*. Segundo Cabanis *et al.* (2003) nos vinhos tintos os valores oscilaram entre 11 e 68 mg/L. Conforme Moreira, *et. al.* (2005) os teores de 1-propanol não obtiveram diferenciação significativa em relação às fermentações de culturas puras e mistas, obtendo valores que oscilaram entre 6,9 e 5 mg/L, em meio sintético .



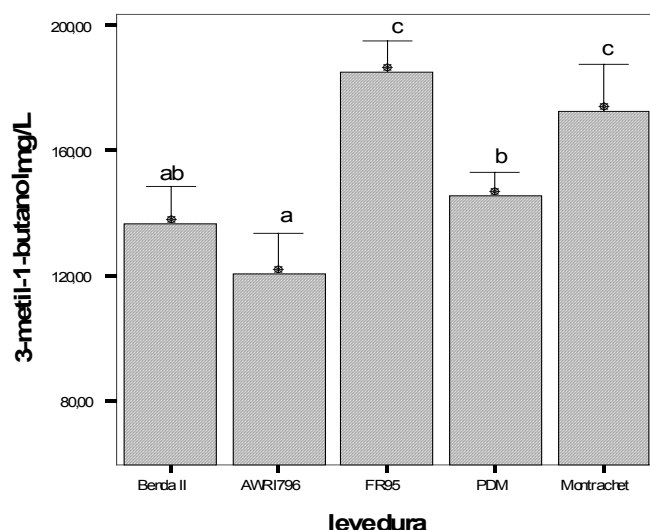
Os teores de 2-metil-1-propanol variaram significativamente entre os tratamentos (figura 24). Os maiores teores foram observados nos vinhos fermentados com a cepa PDM, 53 mg/L que deferiu da cepa AWRI 796 com teor médio de 60,8 mg/L. As cepas Benda II e Montrachet foram similares e apresentaram valores médios de 65,2 e 66,1 mg/L. Os vinhos que apresentaram os valores mais elevados foram os elaborados com a levedura FR 95 com 69 mg/L. O teor médio de 2-metil-1-propanol foi de 62,8 mg/L. Segundo Rizzon *et al.* (2000), os teores médios em vinhos tintos *Vitis labrusca* variaram de 57 a 83 mg/L. 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 .



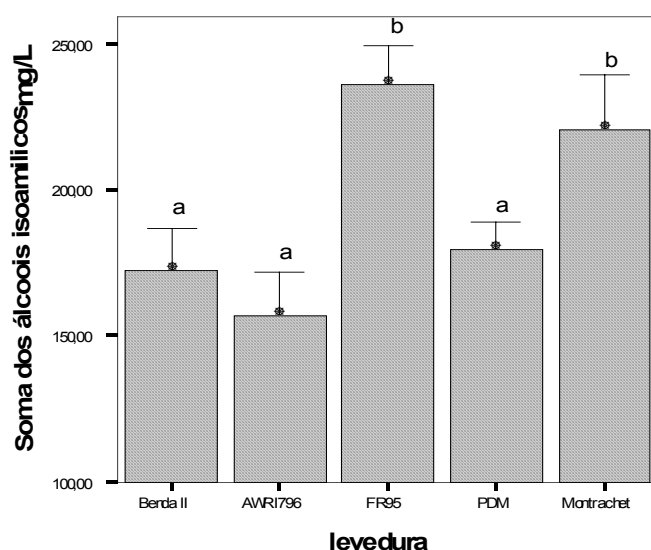
O 2-metil-1-butanol também conhecido como álcool amílico ativo apresentou variação significativa entre as diferentes cepas de leveduras utilizadas na fermentação do vinho Bordô (figura 25). As cepas que apresentaram os menores valores foram a PDM, Benda II e AWRI 796, com 34; 35,9 e 36,3 mg/L respectivamente. Os vinhos que apresentaram os

maiores valores foram os fermentados com as cepas Montrachet e FR 95, com 48,1 e 51,3 mg/L respectivamente. O valor médio do vinho tinto de mesa Bordô microvinificado foi de 41 mg/L. Segundo Cabanis *et al.* (2003) os teores mínimo e máximo nos vinhos tintos são de 18 e 150 mg/L respectivamente.

Em relação ao 3-metil-1-butanol, também conhecido como álcool isoamílico inativo, as diferentes cepas de leveduras mostraram comportamentos distintos em relação a sua formação (figura 26). O vinho que apresentou o menor valor foi o elaborado com a cepa AWRI 796, com valor médio de 120 mg/L, seguido pela cepa Benda II (136 mg/L) e PDM (145) mg/L. Os valores mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentados com as cepas Montrachet e FR 95 que apresentaram valores de 172 e 184 mg/L respectivamente. O valor médio dos vinhos tintos de mesa Bordô microvinificados neste trabalho foi de 152 mg/L. Os teores de 3-metil-1-butanol em vinhos tintos franceses variam de 49 a 490 mg/L (Cabanis *et al.* 2003).



Os álcoois isoamílicos constituem um importante fator na qualidade das fermentações, sua formação depende da cepa de levedura, da cinética fermentativa e da composição amínica dos mostos (Flanzy, 2003). Seu resultado é expresso pela soma do 2-metil-1-butanol com o 3-metil-1-butanol. Os vinhos fermentados com diferentes cepas de leveduras apresentaram diferenciação significativa entre os tratamentos (figura 27). Os valores médios mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentados com as cepas Montrachet (220 mg/L) e FR95 (236 mg/L). As cepas AWRI 796, Benda II e PDM apresentaram os seguintes valores médios 157, 172, 179 mg/L respectivamente, constituindo um grupo distinto. O teor médio de álcoois isoamílicos do vinho tinto de mesa Bordô microvinificado foi de 193 mg/L. Estudos de Rizzon *et al.* (2000) encontraram teor médio de álcoois isoamílicos de 210 mg/L em vinhos tintos *Vitis labrusca* Isabel.



A soma total dos álcoois superiores é um importante indicativo da qualidade de fermentação. Os teores de álcoois superiores apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (figura 28 e tabela 7). Os vinhos fermentados com as cepas Montrachet e FR95 apresentaram os maiores valores: 313 e 334 mg/L, respectivamente. As outras cepas formaram menores quantidades, porém significativas. O teor médio da soma dos álcoois superiores no vinho tinto de mesa Bordô microvinificado foi de 292 mg/L. Rizzon *et al.* (2000) determinaram a soma dos álcoois superiores em sete safras da variedade Isabel *Vitis Labrusca*, encontraram teores médios de 312 mg/L.

As interações existentes entre os teores de álcoois superiores e a cepa de levedura são evidentes neste experimento, pois a cepa de levedura exerce papel expressivo na quantidade destes compostos. Torea *et al.*, (2003) demonstraram que diferentes cepas de leveduras e com diferentes cinéticas fermentativas e concentrações de matéria nitrogenada formam distintas quantidades de álcoois superiores, além de outros compostos voláteis. Estevez *et al.* (2004), estudando sete diferentes cepas de leveduras e os compostos voláteis formados na fermentação, constatou que o teor de álcoois superiores constituíram uma variável de diferenciação significativa, e que esta está diretamente relacionado com a qualidade organoléptica dos vinhos. Segundo Swiegers *et al.*, (2005) a cepa de levedura responsável pela fermentação alcoólica é um ponto determinante em relação a formação de álcoois superiores nos vinhos e que esta pode servir como uma ferramenta de grande utilidade ao enólogo.

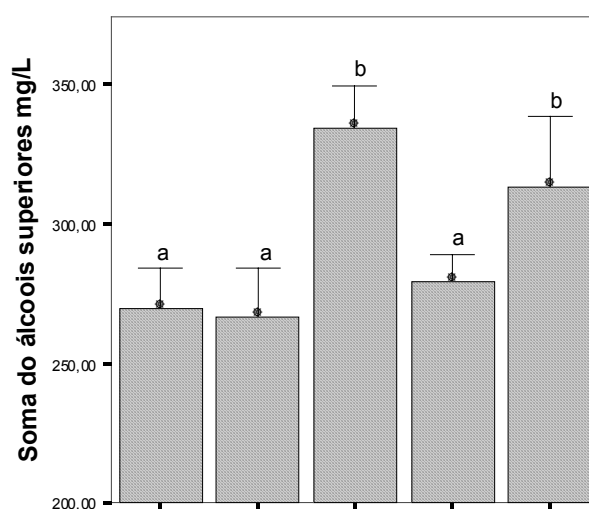


Tabela 7: Influência da cepa de levedura nos teores de etanal, metanol e álcoois superiores do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*”

Variáveis (mg/L)	LEVEDURA				
	Benda II	AWRI 796	FR 95	PDM	Montrachet
Etanal	9,1 ± 1,7 ^a	31,8 ± 12,7 ^c	23,9 ± 4,8 ^{bc}	26,7 ± 4,8 ^{bc}	20,6 ± 2,5 ^b
Metanol	274 ± 6,5 ^a	298 ± 17,3 ^b	307 ± 9,9 ^{bc}	308 ± 10,3 ^{bc}	321 ± 9,7 ^c
1-propanol	32,4 ± 2,0 ^a	48,6 ± 12,4 ^b	28,9 ± 2,8 ^a	46,5 ± 8,0 ^b	26,2 ± 10,2 ^a
2-metil-1-propanol	65,2 ± 2,0 ^{bc}	60,8 ± 6,0 ^b	69,0 ± 4,5 ^c	53,0 ± 3,4 ^a	66,0 ± 4,9 ^{bc}
2-metil-1-butanol	35,9 ± 3,0 ^a	36,3 ± 3,4 ^a	51,30 ± 4,9 ^b	34,0 ± 3,3 ^a	48,0 ± 5,9 ^b
3-metil-1-butanol	136 ± 15,8 ^{ab}	120,7 ± 16,9 ^a	184,9 ± 12,9 ^c	145,5 ± 9,9 ^b	172 ± 19,6 ^c
Isoamílicos	172 ± 18,7 ^a	157 ± 19,4 ^a	236 ± 17,6 ^b	179 ± 12,7 ^a	220 ± 24,6 ^b
Soma álcoois superiores	270 ± 18,5 ^a	266 ± 22,7 ^a	334 ± 19,6 ^b	279 ± 13,1 ^a	313 ± 33,3 ^b

Médias com desvio seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância.

4.1.7 Ésteres, ácidos graxos e 2-fenil etanol

Os ésteres os ácidos graxos e o 2-fenil, etanol constituintes da base aromática dos vinhos, são formados no transcurso da fermentação alcoólica e na conservação e envelhecimento dos vinhos. Os fatores que mais interferem na quantidade destes compostos são a cepa de levedura, as temperaturas de fermentação e a composição química dos mostos (Boulton *et al.* 1996; Ribéreau-Gayon, *et al.*, 2003; Togores, 2003).

O hexanol não apresentou diferenciação estatística entre os vinhos fermentados com diferentes cepas, o teor médio foi de 0,75 mg/L (tabela 8). 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.

Os teores de butirato de etila variaram significativamente para os diferentes tratamentos. O valor médio mais elevado (8,73 mg/L) foi encontrado nos vinhos fermentados com a cepa FR95. Para os vinhos fermentados com as cepas AWRI 796, Benda II e Montrachet os valores foram de 6,43 , 6,60 e 7,55 mg/L, respectivamente. O menor valor foi detectado nos vinhos fermentados com a cepa PDM (5,53 mg/L). Conforme Cabanis *et al.* (2003) os teores de butirato de etila em vinhos tintos variam de 0,02 a 3,0 mg/L. Os teores encontrados neste estudo (tabela 8), foram considerados elevados quando comparados com a literatura.

Quanto ao dietil succinato, os teores apresentaram diferenciações significativas. De acordo com a tabela 8, o vinho fermentado com a cepa AWRI 796 apresentou o maior valor médio (2,76 mg/L). As cepas Benda II, Montrachet e PDM apresentaram valores intermediários, com média de 2 mg/L. A levedura que apresentou os menores valores foi a FR 95 com 1,4 mg/L. Segundo Cabanis *et al.* (2000) os teores de dietil succinato em vinhos tintos variam de 0,5 a 8,0 mg/L.

Tabela 8: Influência da cepa de levedura nos teores de hexanol, butirato de etila e dietil succinato do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*”

Variáveis (mg/L)	LEVEDURA				
	Benda II	AWRI 796	FR 95	PDM	Montrachet
Hexanol	0,77 ± 0,10 ^a	0,78 ± 0,14 ^a	0,74 ± 0,08 ^a	0,76 ± 0,14 ^a	0,75 ± 0,09 ^a
Butirato de etila	6,70 ± 1,40 ^{ab}	6,40 ± 1,10 ^{ab}	8,70 ± 1,70 ^c	5,50 ± 1,00 ^a	7,50 ± 1,20 ^{bc}
Dietil succinato	2,00 ± 0,20 ^b	2,70 ± 0,60 ^c	1,40 ± 0,15 ^a	2,20 ± 0,37 ^b	2,20 ± 0,40 ^b

Médias com desvio seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância.

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. Neste trabalho, constataram-se diferenças significativas em relação aos tratamentos, (figura 29) os níveis mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentado com as cepas Montrachet e FR95 (116 e 126 mg/L, respectivamente) diferindo estatisticamente do grupo das cepas AWRI 796, Benda II e PDM, com teores médios de 80 mg/L. Segundo Cabanis *et al.* (2003) os teores em vinhos tintos variam de 10 a 183 mg/L. Os vinhos que apresentaram os valores mais elevados foram os fermentados com Montrachet e FR 95, o que confirma que estas cepas são boas produtoras de aromas secundários. Os menores valores foram encontrados nos vinhos fermentados com AWRI 796, que novamente confirma-se como cepa de caráter neutro.

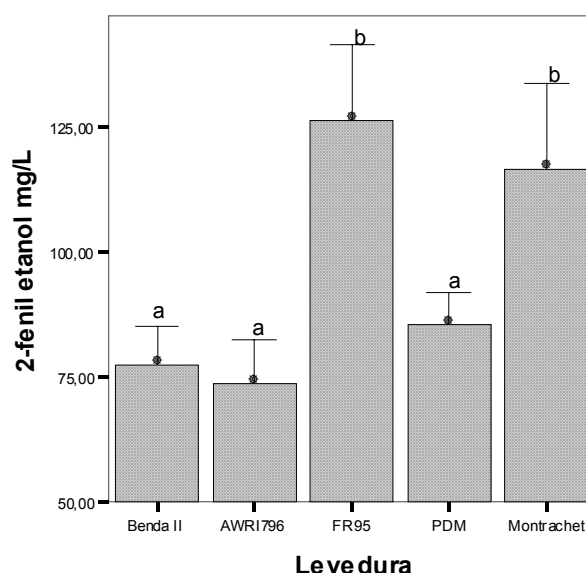
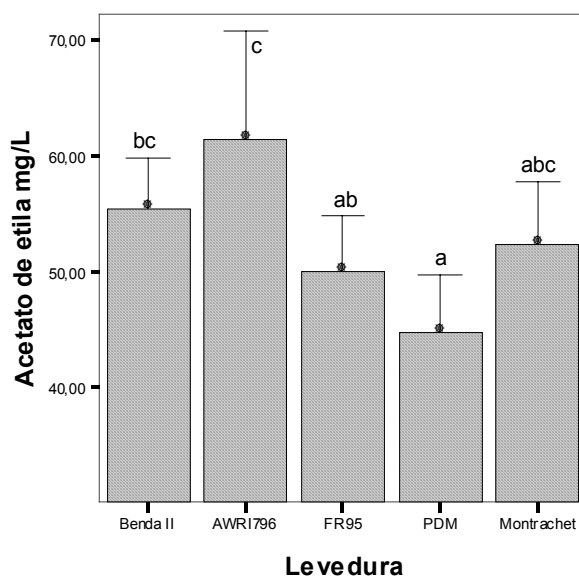


Figura 29: Tores médios de 2-feniletanol nas diferentes fermentações, as letras diferem entre si através do teste de Tukey com 0,05 de significância.

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 (figura 30). O menor teor médio foi encontrado na cepa PDM, (44,7 mg/L). Para as cepas FR 95, Montrachet e Benda II os teores médios foram de 49,9;

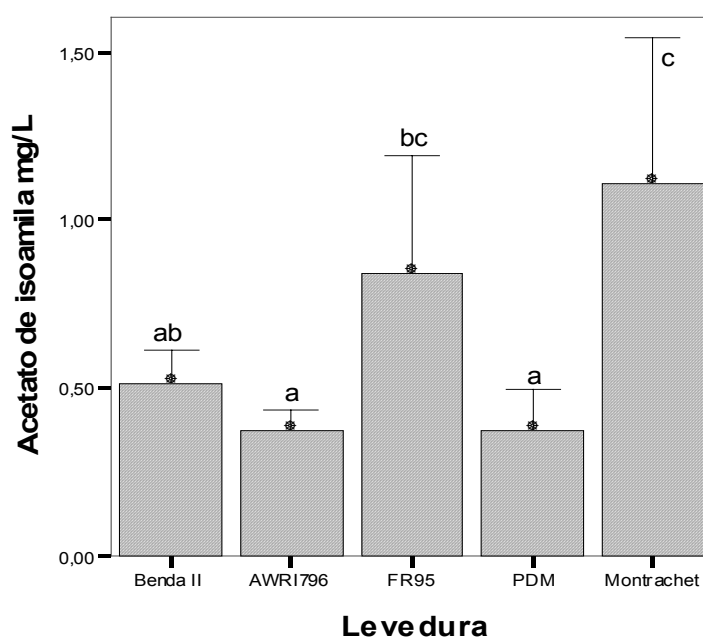
52,37 e 55,4 mg/L respectivamente. O tratamento que apresentou a maior concentração de acetato de etila foi da cepa AWRI 796, (61,35 mg/L) que também apresentou acidez volátil mais elevada, comprovando o aumento do teor de acetato de etila. Segundo Cabanis *et al.*, (2003) os níveis de acetato de etila em vinhos tintos variam de 41 a 180 mg/L. 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 acetato de etila.



4.1.8 Ésteres do ácido acético

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). As leveduras formaram quantidades muito

pequenas deste éster no vinho tinto de mesa Bordô, (figura 31) os valores mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentados com a cepa Montrachet (1,10 mg/L), seguido pelas cepas Benda II e FR95, (0,51 e 0,84 mg/L, respectivamente). Os vinhos que apresentaram os menores valores foram os fermentados com as cepas AWRI 796 e PDM, ambos com valor médio de 0,37 mg/L. Segundo Cabanis *et al.* (2003) os teores mínimo e máximo em vinhos tintos são de 0,2 a 1 mg/L, já nos vinhos brancos os teores são mais elevados. A quantidade de acetato de isoamila encontrada é muito pequena se comparada com vinhos brancos fermentados a baixas temperaturas, em virtude disso este composto não representa um papel significativo no perfil aromático dos vinhos Bordô estudados.



4.1.9 Ésteres etílicos

Os teores de hexanoato de etila apresentaram diferença significativa nos vinhos analisados. De acordo com a tabela 9, os vinhos elaborados com as cepas FR95 e Montrachet apresentaram os menores valores médios de 0,57 e 0,65 mg/L respectivamente, e formaram um grupo estatisticamente distinto dos vinhos elaborados com as cepas AWRI 796, Benda II e PDM que apresentaram os valores médios de 0,83; 0,87, e 0,89 mg/L respectivamente. Estes teores encontram-se dentro dos limites citados na literatura. O valor médio de hexanoato de etila do vinho estudado foi de 0,77 mg/L. Segundo Cabanis *et al.* (2003) os teores mínimo e máximo encontrados nos vinhos tintos são de 0,07 a 1,1 mg/L.

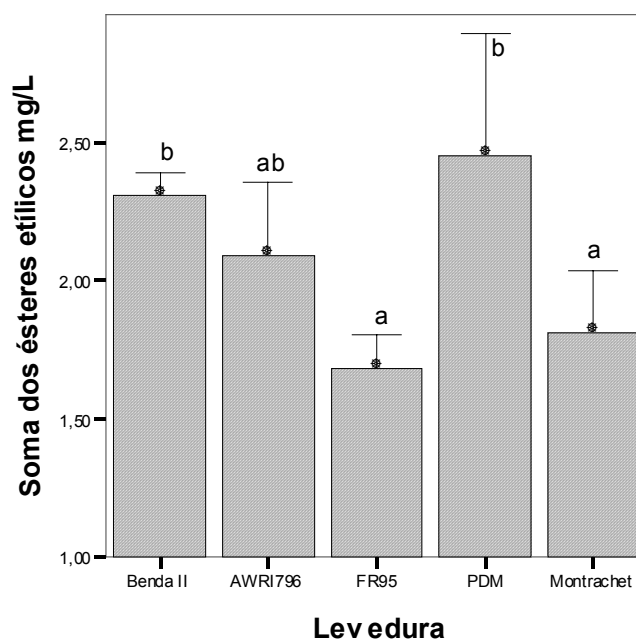
O octanoato de etila apresentou diferença significativa entre os tratamentos (tabela 9). As cepas de leveduras que apresentaram os valores mais elevados foram a Benda II (0,9 mg/L) e PDM (0,96 mg/L), seguidas das cepas AWRI 796 (0,83 mg/L) e Montrachet (0,69 mg/L). O vinho que apresentou os menores teores foi o fermentado com a cepa FR 95 (0,61 mg/L). 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.* (2000), em vinhos tintos, os teores podem variar de 0,5 a 3,4 mg/L

Os teores de decanoato de etila variaram significativamente segundo os tratamentos. Como podemos observar na tabela 9, os vinhos que apresentaram os teores mais elevados foram os fermentados com as cepas AWRI 796 e PDM, com aproximadamente 0,33 mg/L, seguidos pelos vinhos fermentados com a cepa Benda II (0,28 mg/L). Os menores teores foram constatados nos vinhos fermentados com as cepas FR 95 e Montrachet com aproximadamente 0,2 mg/L. Segundo Cabanis *et al.*, (2003) os teores mínimo e máximo em vinhos tintos são de 0,3 e 1,8 mg/L.

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 Benda II, Montrachet e FR95, (teor médio de 0,25 mg/L), seguidos pelos vinhos fermentados com as cepas PDM e AWRI 796, com aproximadamente 0,1 mg/L. Conforme Cabanis *et al.* (2003) os teores em vinhos tintos podem variar de 0,1 a 5 mg/L.

Na figura 32 observa-se as variações e as diferenças estatísticas relacionadas a soma dos ésteres etílicos.



Os ésteres etílicos são um importante indicativo da qualidade fermentativa da cepa de levedura, variações importantes nos seus teores podem ser considerados parâmetros na escolha de uma cepa de levedura (Torres-Alegre, 1982). As variações e seus respectivos desvios podem ser melhor observados na tabela 9. As maiores concentrações foram observadas nos vinhos fermentados com PDM.

Tabela 9: Influência da cepa de levedura nos teores dos ésteres etílicos do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*”

Variáveis (mg/L)	LEVEDURA				
	Benda II	AWRI 796	FR 95	PDM	Montrachet
Hexanoato de etila	0,87 ± 0,04 ^b	0,83 ± 0,17 ^b	0,58 ± 0,05 ^a	0,90 ± 0,13 ^b	0,66 ± 0,13 ^a
Octanoato de etila	0,90 ± 0,04 ^c	0,83 ± 0,12 ^{bc}	0,62 ± 0,06 ^a	0,97 ± 0,19 ^c	0,69 ± 0,14 ^{ab}
Decanoato de etila	0,28 ± 0,03 ^{ab}	0,33 ± 0,09 ^{ab}	0,21 ± 0,02 ^a	0,39 ± 0,26 ^b	0,21 ± 0,04 ^a
Dodecanoato de etila	0,25 ± 0,05 ^b	0,09 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,05 ^b	0,20 ± 0,17 ^{ab}	0,26 ± 0,10 ^b
Soma dos ésteres etílicos	2,31 ± 0,10 ^b	2,09 ± 0,34 ^{ab}	1,68 ± 0,15 ^a	2,45 ± 0,58 ^b	1,81 ± 0,29 ^a

Médias com desvio seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância.

4.1.10 Ácidos graxos livres

Os ácidos graxos livres encontrados nos vinhos são os responsáveis pela formação da maioria dos ésteres etílicos, e por isso de fundamental importância para a qualidade aromática do vinho (Torres-Alegre 1982).

Os valores de ácidos graxos encontrados neste estudo podem ser melhor visualizados na tabela 10 e na figura 33, assim como os desvios encontrados e a diferenciação estatística.

O ácido hexanóico é um importante metabólito da fermentação em *Saccharomyces*. Seus teores estão diretamente relacionados com a atividade fermentativa e apresentaram diferenciação estatística ($p < 0,05$) significativa entre os tratamentos. Os vinhos que obtiveram os teores mais elevados foram os fermentados com as cepas AWRI 796, PDM e Benda II, com valor médio de 4 mg/L, os vinhos elaborados com as cepas FR 95 e Montrachet apresentaram teores menores em (3 mg/L). Torres-Alegre (1982) determinou o conteúdo de ácido hexanóico nos mostos e nos vinhos fermentados com diferentes temperaturas encontrou nos mostos teores de 0,18 mg/L, nos vinhos fermentados uma média de 6,5 mg/L.

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 a cepa de levedura. Os vinhos que apresentaram os teores mais elevados foram os fermentados com as cepas AWRI 796, Benda II e PDM, que obtiveram um valor médio de 4,5 mg/L, seguidos pelos vinhos fermentados com as cepas FR95 e Montrachet, com valor médio de 3,5 mg/L. Em um estudo realizado em vinhos franceses encontrou-se teores médios de ácido octoico de 0,09 mg/L em mostos e 9,51 mg/L em vinhos (Torres-Alegre 1982).

Quanto ao ácido decanoico os teores mais elevados foram constatados nos vinhos fermentados com as cepas PDM e Benda II, ambas com teores acima de 1,0 mg/L, seguidos pelos vinhos fermentados com a cepa AWRI796 com teor médio de 0,93 mg/L. Os vinhos que apresentaram os menores teores foram os elaborados com as cepas FR95 e Montrachet com (teores médios de 0,8 mg/L). Torres Alegre (1982) encontrou teores de 0,05 mg/L em mostos e 3,54 mg/L nos seus vinhos.

O ácido láurico ou dodecanoico apresentou teores muito pequenos se comparados com outros estudos já realizados. Quanto a cepa de levedura, ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos. Os teores mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentados com as cepas Benda II, AWRI796, e PDM com valores médios de aproximadamente 0,15 mg/L, seguidos pelas cepas FR95 e Montrachet com média de 0,11 mg/L. Em vinhos franceses foram descritos teores médios de 0,24 mg/L nos mostos e 0,54 mg/L nos vinhos (Torres Alegre 1982).

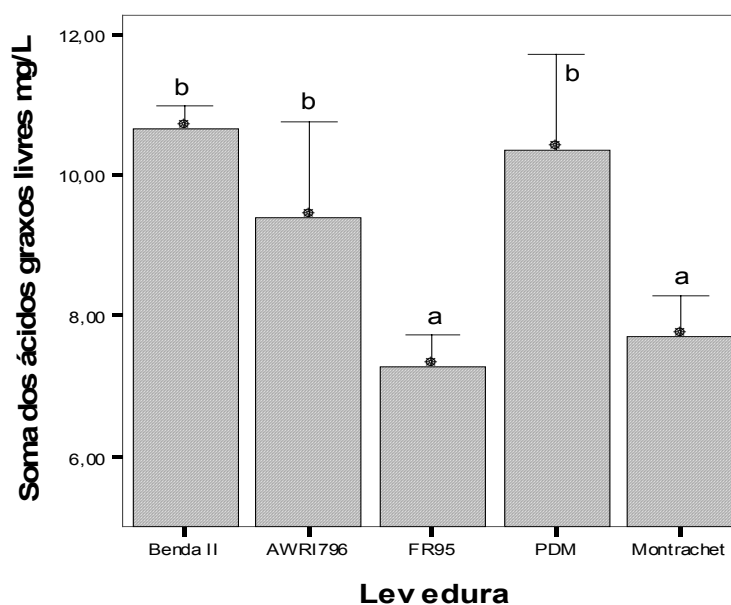


Tabela 10: Influência da cepa de levedura nos teores dos ácidos graxos livres do vinho Tinto de mesa Bordô “Vitis labrusca”

Variáveis (mg/L)	LEVEDURA				
	Benda II	AWRI 796	FR 95	PDM	Montrachet
Ac. Hexanóico	4,38 ± 0,34 ^b	4,00 ± 0,93 ^b	2,90 ± 0,32 ^a	4,30 ± 0,76 ^b	3,10 ± 0,32 ^a
Ac. Octanóico	4,90 ± 0,15 ^b	4,30 ± 0,68 ^b	3,40 ± 0,30 ^a	4,70 ± 0,80 ^b	3,60 ± 0,40 ^a
Ac. Decanóico	1,14 ± 0,04 ^c	0,94 ± 0,15 ^{ab}	0,83 ± 0,07 ^a	1,10 ± 0,22 ^{bc}	0,85 ± 0,11 ^a
Ac. Láurico	0,18 ± 0,02 ^a	0,16 ± 0,04 ^{ab}	0,11 ± 0,01 ^a	0,16 ± 0,08 ^{ab}	0,11 ± 0,02 ^a
Soma dos ácidos graxos livres	10,6 ± 0,40 ^b	9,40 ± 1,70 ^b	7,20 ± 0,60 ^a	10,30 ± 1,70 ^b	7,70 ± 0,70 ^a

Médias com desvio seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância.

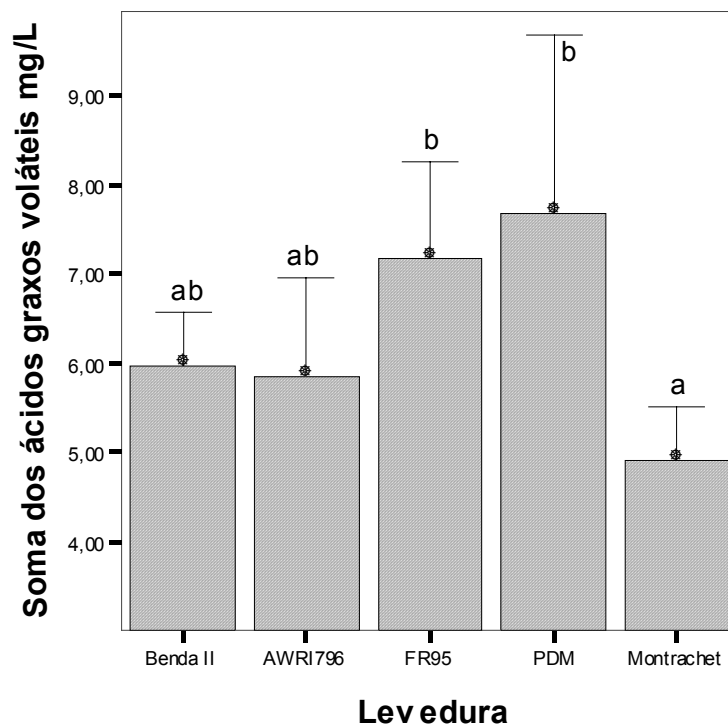
4.1.11 Ácidos graxos voláteis

Os ácidos butírico e isobutírico, estes apresentaram diferenciações significativas entre os tratamentos. As cepas que apresentaram os valores mais elevados foram a AWRI 796 e PDM com valores médios próximos a 3 mg/L, seguidas pelas cepas Montrachet e FR 95 com valores médios de 1,5 mg/L. Os vinhos que apresentaram os menores teores foram os fermentados com a cepa Benda II (média de 1,0 mg/L).

O ácido isovalérico apresentou uma boa diferenciação entre os tratamentos. Os valores médios mais elevados foram encontrados nos vinhos fermentados com a cepa FR 95 (2,07 mg/L), diferindo estatisticamente dos vinhos fermentados com as cepas Benda II, PDM e Montrachet que apresentaram um valor médio de 1,4 mg/L. Os teores menores foram encontrados nos vinhos fermentados com a cepa AWRI 796 (0,76 mg/L).

De acordo com a figura 34, observamos que os vinhos vinificados com a cepa Montrachet foram os que formaram menos ácidos graxos voláteis, sendo estatisticamente

distintos dos vinhos fermentados com PDM e FR 95 nos quais os valores foram mais elevados. Os vinhos fermentados com Benda II e AWRI 796 apresentaram concentrações médias em relação as outras cepas.



Os ácidos graxos voláteis estão presentes nos vinhos em pequenas quantidades, e seus teores estão diretamente relacionados com a qualidade do vinho, teores elevados indicam problemas fermentativos e são responsáveis por defeitos aromáticos (Torres-Alegre 1982).

Os teores (tabela 11) encontrados para estes ácidos estão descritos na tabela 11. Os vinhos obtidos com a cepa Montrachet apresentaram o menor teor total (4,80 mg/L), enquanto que os vinhos fermentados com a levedura FR 95 a concentração total foi de 7,60 mg/L.

Tabela 11: Influência da cepa de levedura nos teores dos ácidos graxos voláteis do vinho Tinto de mesa Bordô “Vitis labrusca”

Variáveis (mg/L)	LEVEDURA				
	Benda II	AWRI 796	FR 95	PDM	Montrachet
Ac. Butírico	1,56 ± 0,18 ^{ab}	3,27 ± 1,24 ^{bc}	1,20 ± 0,17 ^a	3,86 ± 2,55 ^c	0,96 ± 0,55 ^a
Ac. Isobutírico	3,06 ± 0,46 ^b	1,81 ± 0,40 ^a	3,88 ± 0,83 ^c	2,39 ± 0,31 ^a	2,47 ± 0,28 ^{ab}
Ac. Isovalérico	1,35 ± 0,24 ^b	0,77 ± 0,19 ^a	2,07 ± 0,48 ^c	1,42 ± 0,14 ^b	1,47 ± 0,34 ^b
Soma dos ácidos graxos voláteis	6,00 ± 0,78 ^a	5,80 ± 1,46 ^{ab}	7,10 ± 1,41 ^{ab}	7,60 ± 2,60 ^b	4,90 ± 0,70 ^b

Médias com desvio seguidas por letras distintas na linha deferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância.

4.2 Avaliação dos resultados referentes ao efeito do ativador de fermentação sobre as características dos vinhos elaborados com distintas cepas de leveduras

O desempenho das leveduras frente ao ativador de fermentação demonstrou comportamentos distintos, em virtude disso, serão apresentados os resultados e discutidos levando em conta cada cepa de levedura e cada dose de ativador de fermentação. As tabelas com a análise estatística completa estão no anexo 5, sendo que foram discutidos somente os resultados que apresentaram diferença estatística segundo o teste de Tukey, ao nível de 0,05 de significância.

4.2.1 Comportamento da cepa Benda II frente ao ativador de fermentação

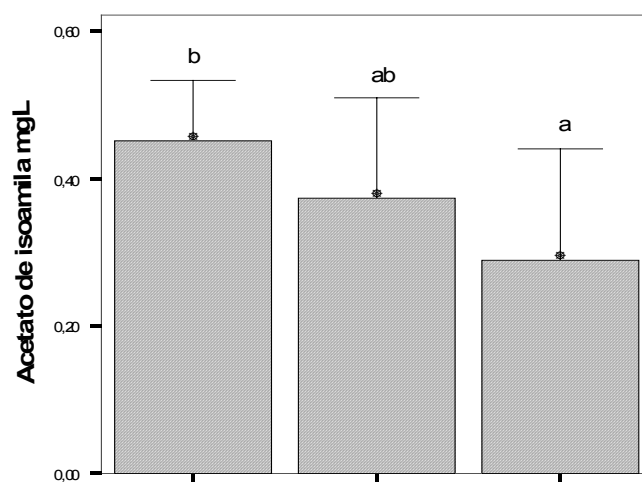
A cepa de levedura Benda II (*Schizosaccharomices pombe*) não apresentou diferenciação estatística em relação ao ativador de fermentação, (anexo 6). Observou-se um pequeno aumento de alguns compostos voláteis com a adição do ativador de fermentação, porém não significativos, segundo teste de tukey ao nível de 0,05 de significância.

4.2.2 Comportamento da cepa AWRI 796 frente ao ativador de fermentação

A cepa de levedura AWRI 796 apresentou diferenciação estatística (anexo 7), para os teores de furaneol conforme mostra na figura 35 onde a testemunha apresentou a

menor média, mostrando uma tendência de aumento de furaneol com a adição de ativador de fermentação. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que quanto maior a quantidade de matéria nitrogenada disponível no mosto maior será a atividade metabólica da levedura, e consequentemente, maior a liberação do composto (furaneol) da forma glicosilada para a forma livre através da ação β -glucosidásica da levedura (Hernández, *et al.*, 2003). Também observou-se esta mesma tendência para a soma dos compostos foxados já que grande parte se deve ao furaneol.

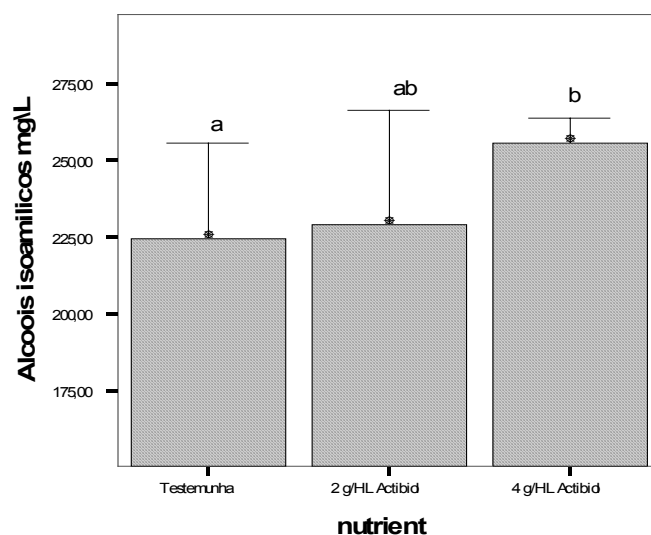
O teor de acetato de isoamila também apresentou diferenciação estatística significativa proporcional (figura 36). Observa-se um declínio no teor de acetato de isoamila ao aumento na concentração de ativador de fermentação.



A menor concentração em decanoato de etila foi observada no vinho testemunha (0,24 mg/L), enquanto que a maior foi encontrada no vinho adicionado de 2 g/hL de ativador de fermentação. As diferentes condições de fermentação alteram as quantidades dos ácidos graxos do vinho, que por sua vez alteram a quantidade de seus respectivos ésteres. (Torres-Alegre 1982),

4.2.3 Comportamento da cepa FR 95 frente ao ativador de fermentação

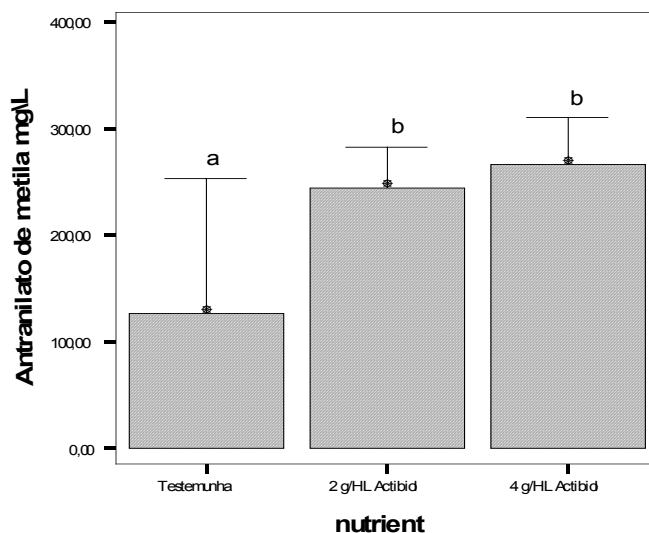
Em relação a levedura FR 95 as diferenciações mais marcantes foram constatadas nos teores dos álcoois superiores 2-metil-butanol e 3-metil-butanol e consequentemente na soma dos álcoois isoamílicos conforme a figura 37 e o anexo 8. A concentração dos álcoois isoamílicos foi mais elevada no vinho com maior teor de ativador de fermentação (255,6 mg/L).



Os resultados encontrados estão de acordo com estudo de Bisson (1991), que afirma que a adição de substâncias nitrogenadas aumenta o conteúdo dos álcoois superiores do vinho. Também segundo Rapp & Versini, (1991) o teor de álcoois isoamílicos de um vinho de qualidade devem estar entre 150 e 350 mg/L.

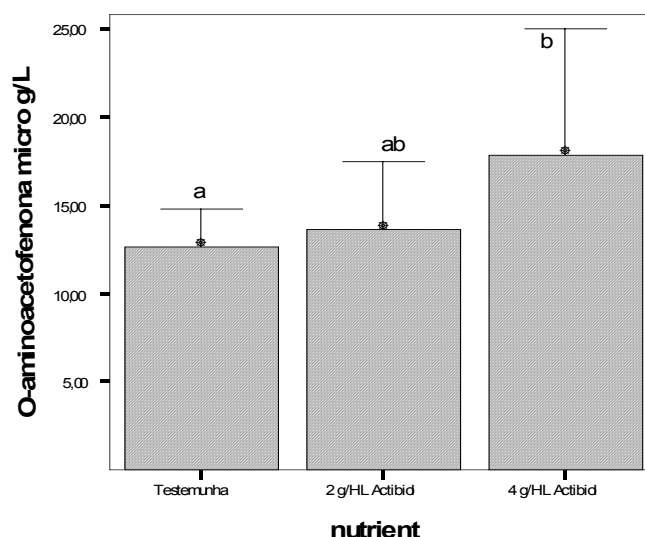
4.2.4 Comportamento da cepa PDM frente ao ativador de fermentação

O comportamento da cepa PDM em relação ao ativador de fermentação apresentou diferenças estatísticas significativas nas variáveis teor alcoólico, acidez total, antranilato de metila, metanol, 1-propanol, hexanoato de etila, hexanol e dietil succinato, conforme anexo 9. As variações mais importantes se deram nos teores de antranilato de metila e metanol. Como se pode observar na figura 38 os teores de antranilato de metila aumentaram com a adição do ativador fato que se deve ao aumento do metabolismo e do número de células de leveduras proporcionado pela matéria nitrogenada adicionada, o que se refletiu na maior liberação do antranilato de metila de sua forma glicosilada (Hernández *et al.* 2003).

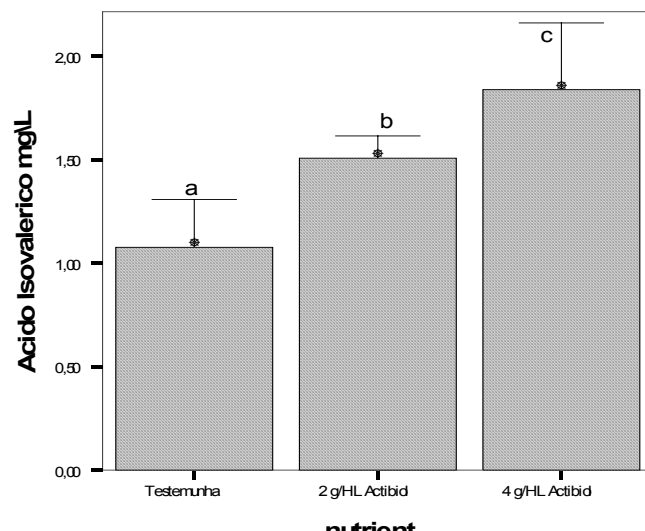


4.2.5 Comportamento da cepa Montrachet frente ao ativador de fermentação

Nas fermentações realizadas pela cepa montrachet observou-se diferença significativas nos teores de o-aminoacetofenona, ácido isovalérico e dietil succinato conforme o anexo 10. As variações encontradas nos teores de o-aminoacetofenona (figura 39) foram consideradas as mais importantes, sendo que o ativador de fermentação aumentou suas doses e conseqüentemente o caráter foxado na levedura montrachet.

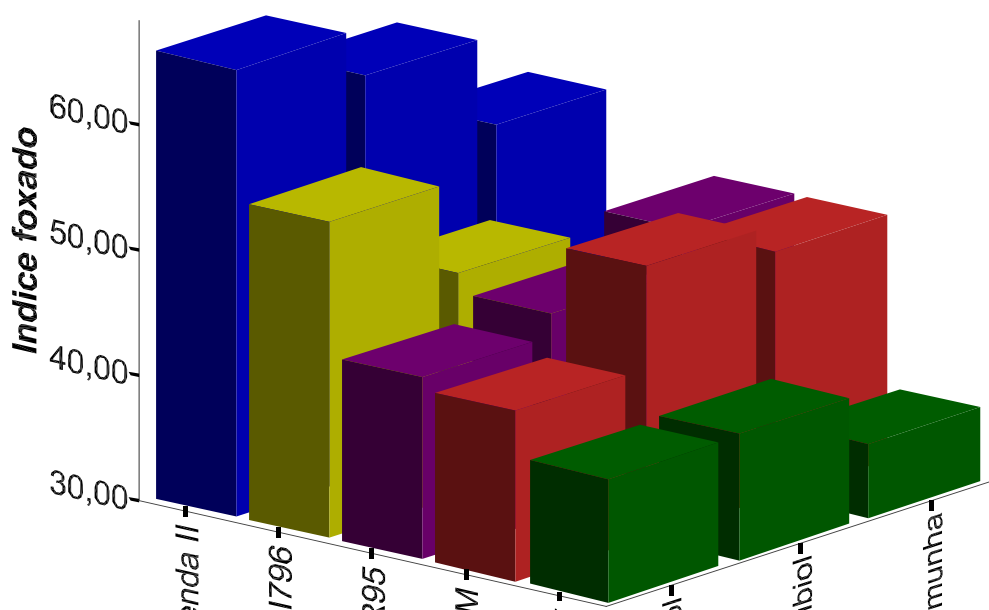


O ácido isovalérico é um composto interessante (figura 40), observa-se um acréscimo com a adição do ativador de fermentação. De acordo com Torres-Alegre (1982), esse aumento é resultado da maior disponibilidade de matéria nitrogenada.

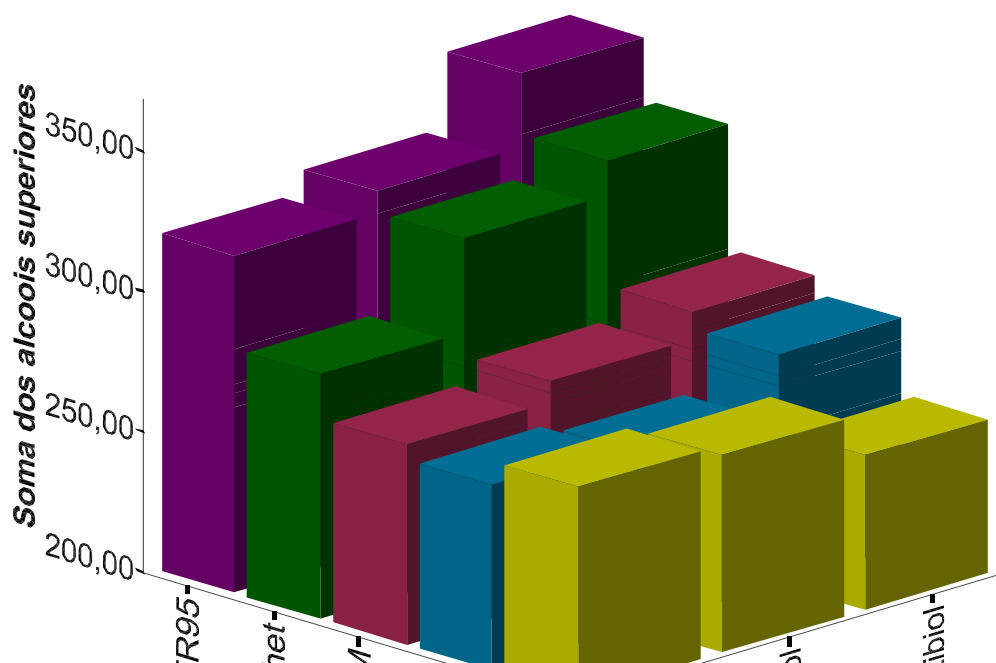


4.3 Interações Importantes entre cepa de levedura e ativador de fermentação

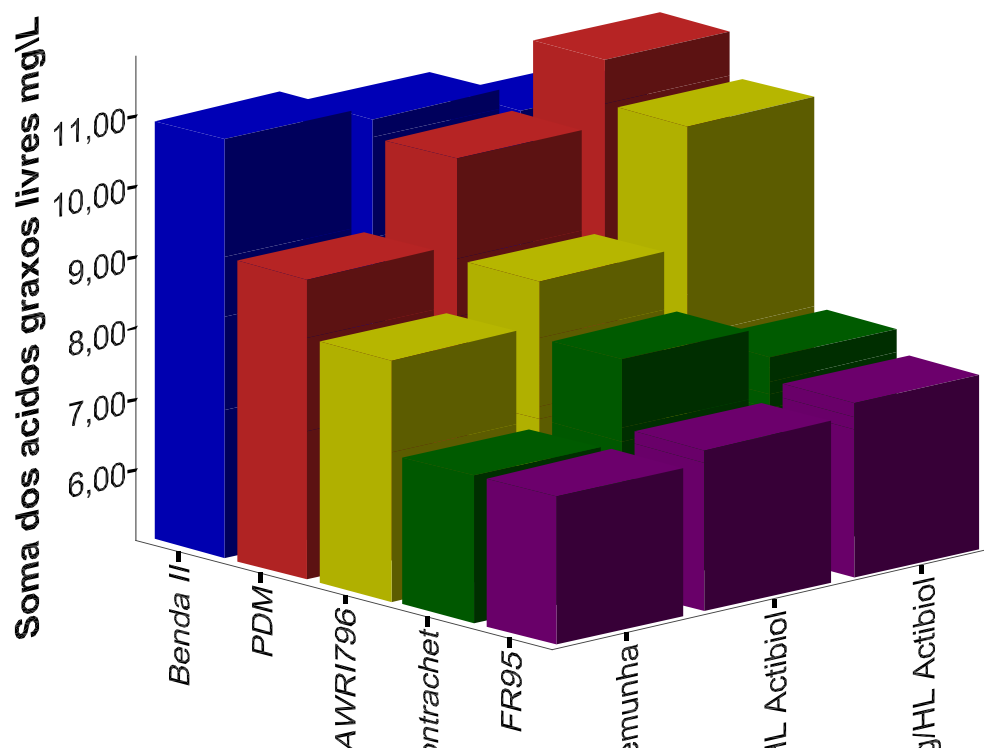
Observou-se uma correlação importante entre algumas variáveis apresentando comportamento distinto e considerável interação cepa x ativador. A variável índice foxado (figura 41) obtida através da soma dos compostos foxados divididos pelo seus respectivos limiares de percepção apresentou um comportamento distinto entre as cepas em relação as doses do ativador. Para a cepa Benda II observa-se um aumento do caráter foxado com a adição do ativador de fermentação. Este fenômeno se repete com a cepa AWRI 796 e é contrário na cepa FR 95 e PDM. A cepa Montrachet apresentou os menores índices e não parece sofrer grande interação com o ativador de fermentação.



Na variável soma dos álcoois superiores (figura 42) também fica nítida as interações existentes, observou-se que a cepas FR 95 e Montrachet apresentaram um comportamento similar, aumentando a concentração dos álcoois isoamílicos com a adição do ativador de fermentação. Nas cepas PDM e Benda II esta tendência aparece, no entanto, não é tão evidente. A cepa AWRI 796 apresentou um comportamento distinto diferindo das outras, observa um leve declínio nos teores de álcoois isoamílicos com a adição do ativador de fermentação.



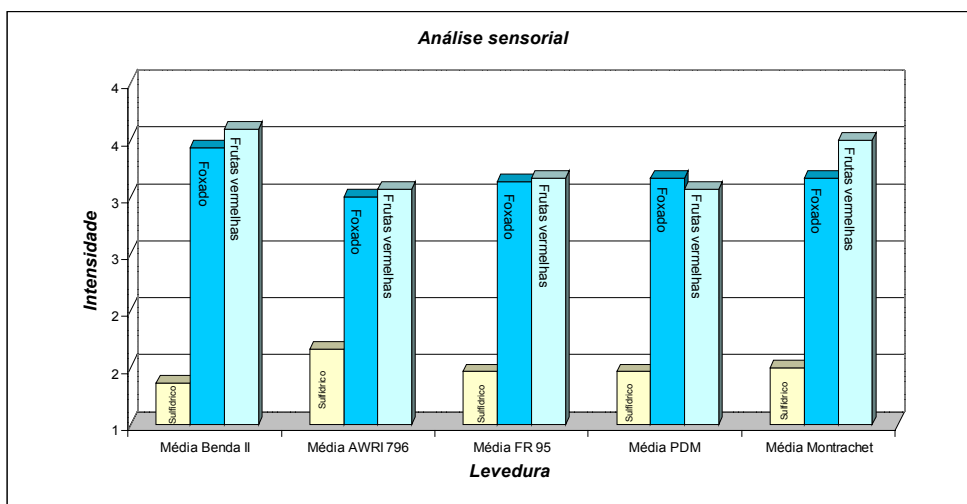
Outra variável interessante do ponto de vista fermentativo foi o teor de ácidos graxos livres, (figura 43) observa-se que as cepas PDM e AWRI 796 apresentaram um comportamento semelhante, aumentando os teores de ácidos graxos livres com a adição do ativador de fermentação, o que não fica evidente nas outras cepas.



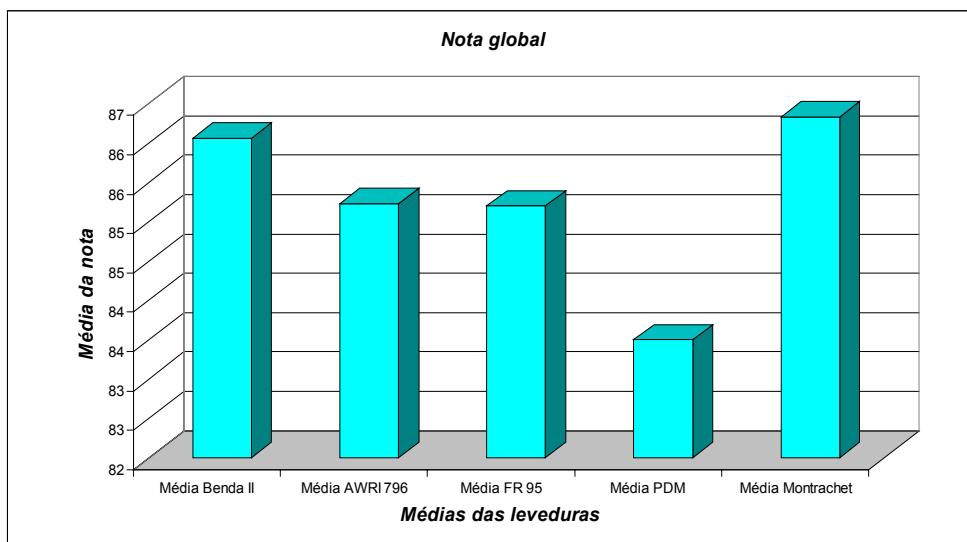
4.4 Análise sensorial

Os resultados mostraram que em relação ao caráter foxado os vinhos fermentados com a cepa Benda II apresentaram os maiores valores, o que é confirmado com a análise físico-química já que estes apresentaram a maior quantidade dos compostos responsáveis por esta nota aromática (figura 44). Os outros vinhos apresentaram um comportamento semelhante, no entanto, observou-se uma pequena diferença em relação a AWRI 796, que apresentou o menor índice segundo os degustadores. Em relação aos descritores aromáticos como ameixa, amora e morango, bastante presentes nestes vinhos observou-se que os vinhos elaborados com a Benda II foram os que se destacaram, possivelmente, devido a grande quantidade de furaneol encontrada. Outro vinho que apresentou um comportamento interessante junto ao painel de degustação foi o fermentado com a levedura Montrachet, que obteve uma nota aromática também relevante em relação ao descritor frutas vermelhas, isso poderia ser explicado devido a maior quantidade de 2-feniletanol em relação aos outros vinhos.

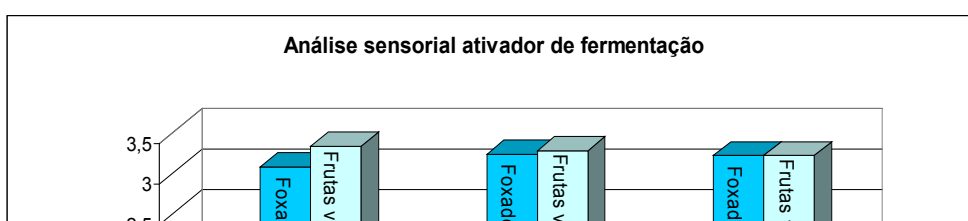
Em relação ao principal defeito fermentativo dos vinhos “produção de sulfídrico” todos os vinhos apresentaram-se como nulos ou imperceptíveis em. Observou-se também que os vinhos fermentados com AWRI 796 evidenciaram uma leve tendência para a formação desta nota aromática.



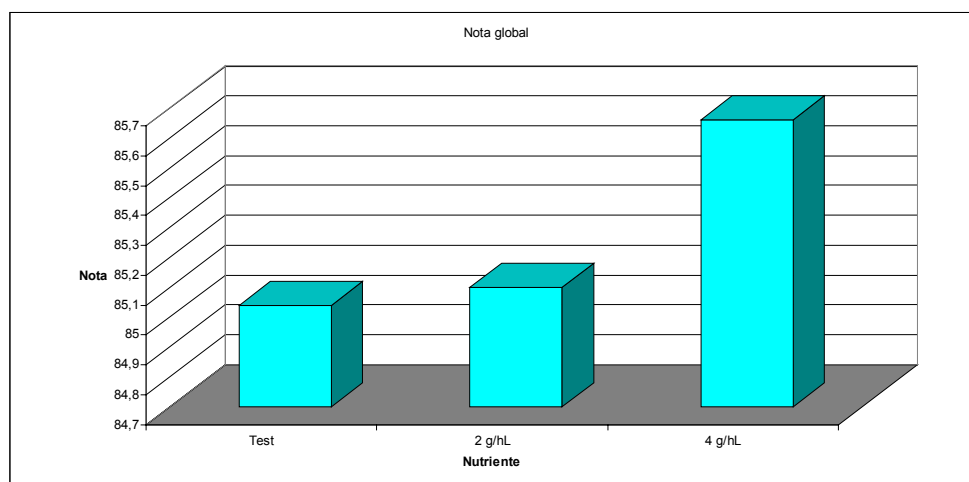
A nota global atribuída pelos degustadores está indicada na figura 45. Observou-se que os vinhos que se destacaram pela melhor nota foram os fermentados com a cepa Montrachet. Segundo o painel de análise sensorial esses vinhos tem como ponto positivo um melhor equilíbrio gustativo e aromático.



Em relação ao tratamento de ativador de fermentação, (figura 46) observou-se que estes tratamentos não interferiram significativamente nos vinhos.



Para a nota global (figura 47), de acordo com o painel de análise sensorial observou-se que os vinhos em que foi ministrada a dose de 4 g/hL de ativador de fermentação obtiveram um pequeno aumento na nota em relação aos outros vinhos, porém este aumento é considerável devido ao grande número de vinhos degustados.



A análise sensorial também serviu para estabelecer um perfil gustativo do vinho tinto de mesa Bordô, os descritores mais encontrados nas fichas de degustação foram amoras vermelhas, morangos e naftaleno, além de alguns vinhos que apresentaram notas de rosas vermelhas, geléia de uva, queimado e reduzido. No entanto a principal característica foi

o aroma foxado, presente em todos os vinhos porém com intensidades diferentes. Alguns vinhos se destacaram por sua complexidade e sutileza aromática. Pôde-se estabelecer um excelente indicativo de qualidade sensorial dos vinhos tintos *Vitis labrusca* da variedade Bordô.

5 CONCLUSÕES

Através do presente estudo concluiu-se que a cepa de levedura e a adição de nutriente para fermentação alcoólica constituem um passo de extrema importância na elaboração de vinhos tintos de mesa e que a manipulação e o controle dos fatores responsáveis pelas características organolépticas do vinho exercem um papel importante na sua qualidade.

Também observamos algumas constatações importantes descritas a seguir. O antranilato de metila não constitui um composto com importância relativa no perfil aromático do vinho tinto Bordô, visto que seus teores ficaram abaixo do limiar de percepção olfativa.

A o-aminoacetofenona apresentou elevados teores e variação significativa entre as cepas de leveduras, constituindo um importante precursor do caráter foxado do vinho tinto Bordô.

O furaneol foi o composto que apresentou os maiores valores em todas as cepas de leveduras e devido a isso se caracteriza como principal precursor do caráter foxado do vinho tinto Bordô, obtendo variações significativas nas fermentações indicando que é possível ao enólogo manipular suas concentrações de acordo com seu interesse.

Os teores de metanol encontrados foram considerados elevados, mostrando uma tendência natural e preocupante. Seus resultados mostram que devem ser tomados alguns cuidados durante a elaboração deste tipo de vinho, afim de não ultrapassar o limite estabelecido pela legislação vigente.

Em relação as leveduras utilizadas na fermentação do vinho tinto de mesa Bordô, os vinhos fermentados com a cepa Benda II diferiram estatisticamente na maioria das

variáveis, sendo os que apresentaram resultados mais contraditórios. Os vinhos fermentados com as cepas Montrachet e FR 95 apresentaram maior complexidade e qualidade físico-química e organoléptica.

O uso de nutriente ou ativador de fermentação, dependendo da cepa de levedura, afeta de forma significativa o andamento da fermentação alcoólica e consequentemente a composição química e organoléptica do vinho tinto Bordô. De maneira geral, a adição de ativador de fermentação aumentou a complexidade físico-química e organoléptica do vinho.

Os compostos voláteis apresentaram comportamentos distintos em cada tratamento, demonstrando as possibilidades existentes ao alcance do profissional da enologia, sendo assim, uma importante ferramenta na busca do reconhecimento e da qualidade deste tipo de vinho elaborado exclusivamente no Brasil. As determinações físico-químicas e análise sensorial permitiram dar mais um importante passo na caracterização enológica do vinho tinto de mesa Bordô (*Vitis labrusca*) brasileiro.

Por fim, concluiu-se que o presente estudo proporcionou um maior conhecimento sobre os fenômenos fermentativos em relação a vinhos de *Vitis labrusca*, muito pouco conhecidos até então. Foram elucidados alguns mecanismos e interações existentes entre as diferentes condições de fermentação, o que proporcionou um melhor controle do processo e conseqüente maior acerto na tomada de decisões durante a elaboração do vinho tinto de mesa Bordô.

6 PERSPECIVAS FUTURAS

- Comparação das atividades enzimáticas β -glucosidases na liberação de aromas glicosilados de vinhos tintos *Vitis labrusca*.
- Determinação de compostos enxofrados com características organolépticas que se assemelham a característica foxada.
- Isolamento, identificação, e seleção de leveduras na flora nativa das uvas *Vitis labrusca*, afim de estabelecer um critério de qualidade e diferenciação dos seus vinhos.
- Criar uma identidade própria dos vinhos tintos da variedade Bordô, estabelecendo o melhor modo de cultivo e vinificação a fim de possibilitar sua caracterização enológica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acree, T.E.; Lavin, E.H.; Nishida, R.; Watanabe, S. (1990). **O-aminoacetophenone, the foxy smelling component of labrusca grapes.** In: Bessiere Y.; Thomas A.H. (John Wiley & Sons) **Flavour science and technology.** Chichester UK. pp. 49-52.
- Anocibar Beloqui A. & Bertrand A. (1994). Essais d'utilisation d'enzymes pectolytiques à activités complémentaires de type glucosidase au autres dans le vin. In : I Cong. International de Vitic. Atlântica. **Anais.** pp. 15-19. Galice 1994.
- Arévalo, V.M.; Iranzo, J.F.U.; Otero, R.R.C.; Pérez, A.I.B. (2005). Optimization of a rapid method for studying the cellular location of β -glucosidase activity in wine yeasts. **Journal of Applied Microbiology.** 99: 558-564.
- Aznar, M.; López, R.; Cacho, J.F.; Ferreira, V. (2001). Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. **J. Agric. Food. Chem.** 49: 2924-2929.
- Bely, M.; Sablayrolles, J.M.; Barre, P. (1991). Automatic detection and correction of assimilable nitrogen deficiency during alcoholic fermentation under enological conditions. In: International symposium on nitrogen in grapes and wine. **Anais.** The American Society for Enology and Viticulture. pp. 211-214. Washington, 1991.

- Bell, A.; Ough, C.S.; Kliewer, W.M. (1979). Effects on must and wine composition, rates of fermentation, and wine quality of nitrogen fertilization of *vitis vinifera* var. Thompson seedless grapevines. **Am. J. Enol. Vitic.** 30: 124-129.
- Bertrand, A. (1981). Formation des substances au cours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité des vins. **Colloque Soc. Fr. Microbiol.**, Reims, 251-267.
- Baltes, W.; Bochmann, G. (1987). Model reactions on roast aroma formation. II. Mass spectrometric identification of furans and furanones from the reaction of serine and threonine with sucrose under the conditions of coffee roasting. **Z. Lebensm. Unters Forsch.M.** 184: 179-186.
- Bisson, L.F. (1991). Influence of nitrogen on yeast and fermentation of grapes. In: International symposium on nitrogen in grapes and wine. **Anais.** The American Society for Enology and Viticulture. pp. 78-89. Washinton, 1991.
- Boison, J.; Tomlinson, R.H. (1988). An investigation of the volatile flavor composition of *vitis labrusca* grape must and wines. The identification of n-(n-hydroxy, n-methyl-g-aminobutyl) glycine in native north american grape varieties. **Canadian Journal of Spectrophoresis.** 5: 541-545.
- Boulton, R. B., Sigleton, V. L., Bisson, L. F., Kunkee, R. E., (1996): **Yeast and biochemistry of ethanol fermentation.** In: **Principles and Practices of Winemaking.** Chapman and Hall. New York., pp 127-137.
- Brasil. (2005). Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Delegacia Federal da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul. **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre, RS: SDR - DENACOOP/EMBRAPA-CNPV - EMATER RS/FECOVINHO, 43p.
- Cabanis, J.C.; Cabanis, M.T.; Cheynier, V.; Teissedre P.L.(2003). **Tablas de composición.** In: Flanzy, C. (2 ed.) **Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos.** Madrid. Mundi-prensa. pp. 218-231.

- Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul 2001 a 2004.(2005) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. IBRAVIN, Instituto Brasileiro do Vinho. CD Room.
- Camargo, U.A.; Falcão Dias M. (1986). Identificação ampelográfica de videiras americanas e híbridas cultivadas na MRH 311. EMBRAPA Uva e Vinho, **Circular técnica 12**, Bento Gonçalves, 40p.
- Davis, R.H.(1986). Comportamental and regulatory mechanisms in the arginine pathways of *neurospora crassa* and *sacharomyces cerevisiae*. **Microbiological Reviews**.50: 280-313.
- Dubourdieu, D.; Darried, P.; Lavigne, V. (1993). Investigation on the varietal aroma of sauvignon wines. In: 10th International Oenological Symposium. **Anais**. pp 258-267. Montreux 1993.
- Demyttenaere, J.C.R.; Dagher, C.; Sandra, P.; Kallithraka, S.; Verhé, R.; Kimpe, N. (2003). Flavour analysis of greek white wine by solid-phase microextractio-capillary gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography** 985: 233-246.
- Delfini. C. (1995). **Scienza e Tecnica di Microbiologia Enológica**. 1 ed. Asti: Edzioni “ IL LIEVITO”. 631p.
- Estevez, P.; Gil, M.L.; Falque, E. (2004). Effects of seven yeast strains on the volatile composition of Palomino wines. **International Journal of Food Science and Technology** 39: 61-69
- Ferreira, V.; Aznar, M.; López, R.; Cacho, J.(2001). Quantitative gas chromatography – olfactometry carried out at different of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality spanish aged red wines. **J. Agric. Food chem.**: 4818-4824.
- Ferreira, V.; Ortín, N.; Escudero, A.; López, R.; Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of grenache rosé wines: aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. **J. Agric. Food chem.**: 4048-4054.
- Ferreira, V.; Jarauta, I.; López, R.; Cacho, J. (2003). Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extration nad gás chromatography-ion-trap mass spectrometry. **Journal of Chromatographi** 1010: 95-103.

- Fia, G.; Giovani, G.; Rosi, I. (2005). Study of β -glucosidase production by wine-related yeasts during alcoholic fermentation. A new rapid fluorimetric method to determine enzymatic activity. **Journal of Applied Microbiology**. 99: 509-517.
- Flanzy, C. (2003). **Enología: fundamentos científicos y tecnológicos**. 2 ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 783p.
- Fleet, H. G.(1993). **Wine microbiology and biotechnology**. 1 ed. Australia: Harwood academic publishers. 510p.
- Gallander, J.F., Cahoon, G.A. Beelman, R.B.(1988). Free amino acids in must of eight eastern grape varieties. **Am. J. Enol. Vitic.** 20:141-47.
- Gardner, J.M.; Poole, K.; Jiranek, V. (2002). Practical of relative assimilable nitrogen requirements of yeast: a preliminary study of fermentation performance na liberation of H₂S. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. 8: 175-179.
- Genovese, A.; Pionbino, P.; Lisanti M.T.; Moio, L. (2005a). Determination of furaneol (4-hydroxy-2,5-dimethyl-3-(2H)-furanone) in some wines from italian native grapes by Gas-chromatography-SIM Mass Spectrometry. **Annali di Chimica**. 95: 415-419.
- Genovese, A.; Dimaggio, R.; Lisanti, M.T.; Piombino, P.; Moio, L. (2005b). Aroma composition of red wines by different extraction methods and Gas Chromatography-SIM Mass spectrometry analysis. **Annali di Chimica**. 95: 383-394.
- Giovannini, E. (2005). **Produção de Uvas para Vinho, Suco e Mesa**. 2 ed. Porto Alegre: Editora Renascença. 365p.
- Guedes de Pinho, P. (1994). Caractérisation des vins de la région de vinhos verdes au Portugal. Reconnaissance chimique et sensoriale des vins de cépages blancs non *vitis vinifera*. **Thèse de doctorat en oenologie-ampélogie**, Université de Bordeaux II, Bordeaux, France.
- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. **J. Agric. Food chem.** :3027-3032.

- Hauck, T.; Bruhlmann, F.; Schwab, W. (2003). Formation of 4-Hydroxy-2,5-Dimethyl-3[2H]-Furanone by *Zygisaccharomyces rouxii*: Identification of an Intermediate. **Applied and Environmental Microbiology**: 3911-3918.
- Henschke, P.A.; Jiranek, V. (1993). **Yeasts-metabolism of nitrogen compounds**. In: Fleet, G.H. (ed.) **Wine Microbiology and Biotechnology**. Sydney: Harwood academic publishers. pp 77-164.
- Hoenicke, K.; Simat, T.J.; Steinhart, H.; Christoph, N.; Geßner, M.; Köhler, H. (2002). “untypical aging off-flavor” in wine: formation of 2-aminoacetophenone and evaluation of its influencing factors. **Analytica Chimica Acta**: 29-37.
- Hernández, L.F.; Espinosa, M.; Fernández-González, A.; Briones, A. (2003). β -Glucosidase activity in a *Saccharomyces cerevisiae* wine strain. **International Journal of Food Microbiology**. 80: 171-176.
- Hirvi, T.; Honkanen, E.; Pyysalo, T. (1980). Stability of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone and 2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone in aqueous buffer solutions. **Lebensm. Wiss. Technol.** 13: 324-325.
- Honkanen, E.; Pyysalo, T.; Hirvi, T.(1980). The aroma of Finnish wild raspberries, *Rubus idaeus*. **L. Z. Lebensm. Unters Forsch.** 180-182.
- Hunter, G.L.K.; Bucek, W.A.; Radford, T.(1974). Volatile components of canned Alphonso mango. **J. Food Sci.** 39: 900-903.
- The biosynthesis and regulation of biosynthesis of Concord
- Wang, J.; De Luca, V. (2005). Grape fruit esters, including ‘foxy’ methylanthranilate. **The Plant Journal**. 44:606-619.
- Kolor, M.G.; (1983). Identification of an important new flavor compound in Concord grape: ethyl 3-mercaptopropionate. **J. Agric. Food chem.**, 1125-1127.

- Kunkee, R.E.; Bisson, L.F.(1993). **Winemaking yeasts**. In: Rose, A.H. and Harrison, J.S. Academic Press. **The yeasts**. Vol.3. London: pp. 69-127.
- Lafon-Lafourcade, S. (1983). **Wine and Brandy, in Biotecnología**, vol 5, Rehm H.J. e Read G., Editors. Verlag Chemie, Weinheim.
- Larue, F., Lafon-Lafourcade S., Riberéau-Gayon P. (1980). **Applied and Environmental Microbiology**. 39: 808.
- Large, P.J. (1986). Degradation of organic nitrogen compounds by yeasts. **Yeast**. 2 : 1-34.
- Lee, S.; Lee, J.; Kim, H.; Kim, S.; Koh, K. (2006). Development of Korean red wines using *Vitis labrusca* varieties: instrumental and sensory characterization. **Food Chemistry**. 94: 385-393
- López, R.; Ortín, N.; Pérez-trujillo, J.P.; Cacho, J.; Ferreira, V. (2003). Impact odorants of different young white wines from the canary islands. **J. Agric. Food chem.**: 3419-3425.
- Miele, A.; Rizzon, L.A.; Zanotto, D.L. (1990). Free amino acids in brazilian grape juices. **Riv. Vitic. Enol.** 4 : 15-21.
- Moio, L.; Etievant, P.X. (1995). Ethyl anthranilate, ethyl cinnamate, 2,3-dihydrocinnamate, and methyl anthranilate: four important odorants identified in Pinot Noir wines of Burgundy **Am. J. Enol.Vitic.** V. 46, nº 3.
- Monteiro, F.F.; Bisson, L.F. (1991). Biological assay of nitrogen content of grape juice and prediction of sluggish fermentations. **Am. J. Enol. Vitic.** 42: 47-57.
- Mottram, D.S. (1989). Volatile compounds in Food and beverages. **Ed. Henk MAARSE**, 107-165.
- Moyer, J.C.; Mattick, L.R. (1976) Determination of methyl anthranilate in wines. **Am. J. Enol. Vitic.** 27: 134-135
- Moyer, J.C.; Miller, R.C.; Mattick, L.R. (1977). The effect os steam stripping of grape juice prior to fermentation. **Am. J .Enol. Vitic.** 28: 231-234
- 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.

- Nelson, R.; Acree, T.E.; Lee, C.Y.; Butts, R.M. (1977). Methyl anthranilate as an aroma constituents of american wine. **J. Food. Sci.** 42: 57-59.
- Nolte, L.; Mason, J.R.; Clark, L. (1993). Nonlethal rodent repellents: differences in chemical structure and efficacy from nonlethal bird repellents. **Journal of chemistry ecol.** : 2019-2127.
- Ohloff G. (1975). Les corps aromatiques derives de sucres. **Parfums, cosmétiques, arômes.** 2: 55-58.
- 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.
- Peynaud, E. (1984) **Enologia Practica. Conocimineto y Elaboración del Vino.** 2 ed. Madrid: ediciones Mundi-Prensa. 406p.
- 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.
- Rankine, B.C. (1989). **Manual Práctico de Enología.** Zaragoza: Editorial Acribia.
- Rapp, A. (1996). Volatile compounds in wines of new fungus resistant grapevine varieties compared to wines of *vitis vinifera* cultivars. **O.I.V. Oenologie**, 76^e assemblée générale de l'O.I.V., Paris.
- 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.
- Rapp, A.; Hastrich, H.; Engel, L.; Knipser, W. (1980). Caractérisation des cépages par les substances aromatiques des raisins. **Bull O.I.V.** 588 : 91-114.
- Riberéau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. (2003). **Tratado de Enologia. Tomo 1. Microbiología del vino. Vinificaciones.** 1 ed. Buenos Aires: Hemisferio Sur. 655p.
- Rizzon, L.A.; Miele, A.; Meneguzzo, J.(2000). Avaliação da CV. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** 20: 115-121.

- 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.
- Rocha, S.M.; Coutinho, P.; Delgadillo, I.; Cardoso, A.D.; Coimbra, M.A. (2005). Effect of enzymatic aroma release on the volatile compounds of white wines presenting different roma potentials. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 85: 199-205.
- Roscher, R.; Herderich, M.; Steffen, J.; Schreier, P.; Schwab, W. (1996). 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone 6'o-malonyl- β -D-glucopyranoside in strawberry fruits. **Phytochemistry**. 43: 155-159.
- Rodin, T.O.; Himel C. M.; Silverstein M.; Leeper, R.; Gortner, W. (1965). Volatile flavor and aroma components of pineapple. I. Isolation and tentative identification of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone. **J. Food. Sci.** 30 : 280-285.
- Rosier, J.P. (1992). Iterpretation des caracteres analytiques et sensoriels de vins blancs de la region des graves en fonction de certains facteurs culturaux de la vigne. **Thèse de doctorat en oenologie-ampélogie**. Université de Bordeaux II, Bordeaux, France.
- Sablayrolles, J.M.; Barre, P. (1993). Kinetics of alcoholic fermentation under aniso termal enological conditions. Influence of temperature evolution on the instantaneous rate of fermentation. **Am. J. Enol. Vitic.** 44: 127-133.
- Schmitt, T.M.; Ziegler, R.J.; Muzher, E.S.; Doyle, R.J.; Freers, J.L. (1986). Analisis of anthranilic acid by liquid chromatography. **Talanta**. 33: 657-660.
- Shaulis, N.J.; Robinson, W.B. (1953). The effect of season, pruning severity, and trellising on some chemical characteristics of concord and fredonia grape juice. **Proc. Am. Hortic. Soc.** 62: 214-220.
- Shinohara, T.L. (1984). L'importance des substances volatiles de vin. Formation et effects sur qualité. **Bulletin de l' O. I. V.** 57 : 607-618.

- Swiegers, J.H.; Bartowsky, E.J.; Henschke P.A.; Pretorius, I.S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavor. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. 11: 139-173.
- Suárez Lepe, J.A.; Íñigo Leal, B. (2004). **Microbiología Enológica Fundamentos de Vinificación**. 3 ed. Madrid: Mundi-Prensa. 716p.
- Tatum, J.H.; Nagy, S.; Berry, R.E. (1975). Degradation products formed in canned single-strength orange juice during storage. **J. Food. Sci.** 40: 707-709.
- Togores, J.H. (2003). Tratado de Enología. 1 ed. Madrid: Mundi-prensa. 1423p.
- Tompson, R.H.; Boison, J. (1987) An investigation of the volatile flavor composition of *vitis labrusca* grape must and wines. I. Methyl anthranilate – its role in the total aroma picture of *labrusca* varieties. **Canadian Journal of Spectroscopy**. 32: 90-94.
- Torrea, D.; Fraile, P.; Garde, T.; Ancín, C. (2003). Production of volatile compounds in the fermentation of chardonnay musts inoculated with different nitrogen demands. **Food Control**. 14 : 565-571.
- 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 oenologie-ampélogie**. Université de Bordeaux II, Bordeaux, France.
- Vilanova, M. ; Masneuf-Pomarede, I. (2005). Effect of three *Saccharomyces cerevisiae* strains on the volatile composition of Albarino wines. **Italian Journal of Food Science**. 17: 221-227.
- Yarrow, D., (1998): **Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts**. In: Kurtzman, C. P. And J. W. Fell, (Elsevier) **The Yeast, a Taxonomic Study**. Vol. 11. Amsterdam. pp 79-80.

FRANCESCO - RUSSALEN@EUROPE.PALL.COM

DR. FRANCESCO
RUSSALEN

ACTIBIOL SPECIAL

COMPLEMENTO NUTRITIVO

ACTIBIOL SPECIAL

As numerosas experiências conduzidas nos laboratórios da Perdomini permitiram identificar no produto ACTIBIOL SPECIAL um nutriente que aporta fatores nutricionais indispensáveis às culturas biológicas.

ACTIBIOL SPECIAL é um alimento particularmente adaptado para a ativação da biomassa, graças ao elevado teor de nitrogênio aminoiácido, vitaminas do grupo B e oligoelementos. O uso de ACTIBIOL SPECIAL

diretamente acrescentado a massa a inseminar, em fase de ativação ou aclimação, comporta notáveis vantagens, proporcionando:

- Facilidade e condição do início fermentativo, sobretudo nos meses carentes de fatores nutritivos,
- Fermentações regulares e seguras,
- Finalização das fermentações com rendimentos ótimos.

DOSES

de 0,5 a 2 g/hl.

MODALIDADE DE USO

Dissolver em água (relação 1:10) e misturar à massa a fermentar ou refermentar.

CONSERVAÇÃO

Fechado na embalagem original e em ambiente seco, o produto mantém suas características originais por mais de um ano.

EMBALAGEM

Pacotes de 500 g

COMPOSIÇÃO

Extrato seco: 94 - 98 %

Nitrogênio total: 10 - 11,8 %

Nitrogênio amínico: 4,8 - 6,3 %

Nitrogênio protéico (N x 6,25): 62,5 - 73,7 %

pH: 6,8 - 7,2

Tiamina: 100 - 120 mg/kg

Riboflavina: 60 - 90 mg/kg

Piridoxina: 60 - 80 mg/kg

Niacina: 900 - 1100 mg/kg

Cianocobalamina: 5 - 15 µg/kg

Pantotenato de Ca⁺⁺:

120 - 160 mg/kg

Inositol: 900 - 1600 mg/kg

Composição média em nitrogênio assimilável por 100 gramas de proteínas:

Arginina: 5,1 %

Istidina: 2,1 %

Tirosina: 2,4 %

Triptofano: 1,3 %

Fenilalanina: 3,7 %

Cisteína: 0,9 %

Metionina: 1,4 %

Serina: 4,6 %

Treonina: 4,3 %

Leucina: 7,6 %

Isoleucina: 5,5 %

Valina: 5,9 %

Ac. glutâmico: 16,3 %

Ac. aspártico: 9,9 %

Glicina: 4,8 %

Alanina: 8,8 %

Lisina: 8 %



VÊNETO MERCANTIL IMPORTADORA LTDA.

MATRIZ: (54) 292 1200 - FLORES DA CUNHA - RS

E-mail: veneto@venetomercantil.com.br

FILIAL: (54) 453 1200 - BENTO GONÇALVES - RS

E-mail: venetobg@venetomercantil.com.br

Home Page: www.venetomercantil.com.br

maurivin[®]

AWRI 796

PRODUCTO

Levadura de vino pura seca activa, seleccionada por sus características neutras.

TIPO

Saccharomyces cerevisiae

ORIGEN

The Australian Wine Research Institute

CARACTERISTICAS DE FERMENTACION

NIVEL DE FERMENTACION

Fermentador de tipo medio en temperaturas cálidas, que fermenta constantemente y que apenas necesita enfriamiento para efectuar su control de fermentación.

TOLERANCIA AL ALCOHOL

Tolera bien el alcohol.

FLOCULACION

Una cepa no floculante que tiene excelentes propiedades de sedimentación al final de la fermentación.

CONTRIBUCION A LA FERMENTACION

Esta cepa produce un bajo nivel de componentes aromáticos y tiende a la neutralidad.

UTILIZACION

Levadura de uso general recomendada para la producción de vinos tintos y blancos y especialmente para vinos que requieren una ligera contribución aromática. Esta cepa muestra sensibilidad hacia el anhídrido sulfuroso en concentraciones que exceden los 15 mg/litro cuando se asocia con un bajo pH

Anexo 2b:

maurivin[®]

MAURIVIN PDM

PRODUCTO

Una levadura de vino pura seca de alta actividad, seleccionada por su versatilidad y alta tolerancia al alcohol.

TIPO

Saccharomyces cerevisias var. bayanus

CARACTERISTICAS DE FERMENTACION

NIVEL DE FERMENTACION

Fermentador muy activo controlado mediante enfriamiento.

TIPO DE TEMPERATURA

Esta cepa fermentará bien a bajas temperaturas, mejorando con temperaturas de climatización adecuadas.

CARACTERISTICAS SO₂

El anhídrido sulfuroso se produce en baja cantidad. Tolera niveles normales de SO₂ en mostos.

PRODUCCION DE VA

Se observa una baja producción de VA.

TOLERANCIA AL ALCOHOL

Esta levadura muestra una tolerancia al alcohol excelente y está indicada para la producción de vinos de mesa de alta graduación y espumosos.

FLOCULACION

Una cepa de sedimentación con excelentes propiedades de adaptación en el proceso final de la fermentación.

CONTRIBUCION A LA FERMENTACION

Esta cepa no añade ninguna característica aromática y está considerada como un fermentador neutro.

UTILIZACION

Levadura de uso general recomendada para la producción de vinos tintos, blancos y espumosos.

Anexo 2C:

BLASTOSEL FR 95

LEVEDURA SECA ATIVA

BLASTOSEL FR 95

Cepa de *Saccharomyces cerevisiae* isolada e selecionada no Vale de Laloira, na França.

Cepa aromática com elevada produção de ésteres

BLASTOSEL FR 95 foi selecionada predisposição para fermentar a baixas temperaturas, geralmente entre os 16 e 20 °C, produzindo notáveis quantidades de ésteres etílicos sem produzir acidez volátil.

Como todas as cepas aromáticas, BLASTOSEL FR 95 expressa da melhor maneira sua própria aptidão para a formação de ésteres em mostos que tenham um bom aporte de aminoácidos.

BLASTOSEL FR 95 é a cepa mais indicada para a elaboração de vinhos brancos frescos para consumi-los jovens. Os vinhos obtidos com o emprego desta cepa se caracterizam por aromas intensos com caráter frutado. BLASTOSEL FR 95 resiste a concentrações de SO₂ elevadas. Adapta-se imediatamente ao meio de fermentação e tolera graduações alcoólicas de até 13°GL. Essas características, junto com a forte criofilia, fazem com que seja uma ótima levedura para a refermentação e para a elaboração de vinhos

espumantes.

Vinificação de uvas tintas

As características fermentativas de BLASTOSEL FR 95 fazem com que essa levedura possa ser utilizada com bons resultados também na elaboração de vinhos tintos de alta qualidade, nos quais exalta a expressão aromática conferindo tipicidade e finura.

Características tecnológicas

Aspecto: vermicular

Odor: característico da levedura

Concentração: >20 mld. Células vivas/grama.

Classificação: *Saccharomyces cerevisiae*

Poder alcoógeno: 15° GL

Rendimento de fermentação: 16,5 gramas de açúcar produzem 1° GL

Temperatura ótima: 12 – 30 °C

Resistência ao SO₂: muito elevada

Produção de SO₂: muito baixa

Produção de acidez volátil: muito baixa

Produção de H₂S: insignificante

DOSE DE EMPREGO

15–25 g/hl em condições normais.

30–40 g/hl em casos difíceis ou para reativar fermentações interrompidas.

MODO DE USAR

Reidratar a levedura em um recipiente adequado com 10 volumes de água à temperatura de aproximadamente 40°C, misturar bem e esperar que a hidratação seja completa (max. 30 min.) Misturar novamente e agregar a suspensão à massa para fermentar.

PROTOCOLO DE ACLIMAÇÃO PARA A TOMADA DE ESPUMA

Para a tomada de espuma aconselha-se aclimatar a levedura da seguinte forma (para 100 hl):

Reidratação: reidratar 2 Kg de levedura em 20 l de água. (20 min.).

Ativação: Agregar a biomassa a 40 l de água + 30 l de vinho + 10 Kg de açúcar + 200 g de Actibiol (esperar 12 horas).

Aclimação: Agregar a massa a 100 l de água + 300 l de vinho + 25 kg de açúcar + 250 g de Actibiol.

Inoculação: Esperar 48 horas e incorporar a massa ao vinho.

ADVERTÊNCIAS

Não reidratar em mosto ou em água fria e não superar o tempo prescrito (30 min). No caso em que seja necessário prorrogar a inoculação, se aconselha adicionar à suspensão aproximadamente 20% de mosto (em qualquer caso, não esperar mais de uma hora). Uma vez aberto, conservar na embalagem original, à temperatura de 4 °C.

COMPOSIÇÃO

Saccharomyces cerevisiae.

EMBALAGEM

Pacotes de 500 g a vácuo.

Perdomini

PLANILHA DE DEGUSTAÇÃO EXPERIMENTO DO VINHO BORDÔ, TESE DE MESTRADO

OR: _____ DATA: ____ / ____ / ____ AMOSTRA: _____

ITEM DE MESA BORDÔ	MUITO + INTENSO	BOA + INTENSIDADE	MÉDIA + INTENSIDADE	POUCO + INTENSO	NULA + IMPERCEPTÍVEL	OBSERVAÇÕES
INTENSIDADE DE COR						
FOXADO						
SULFIDRICO H ₂ S						
FRUTAS VERMELHAS						
CARACTERÍSTICA VARIETAL						
ACIDEZ VOLÁTIL						
ACIDEZ						
CARACTERÍSTICA VARIETAL						
QUALIDADE +						
PERSISTÊNCIA +						
DIA DA AMOSTRA (GLOBAL EM PONTOS)	90 a 95	85 a 90	80 a 85	75 a 80	Abaixo de 75	

ASSINATURA

Anexo 4:

TABELA 1: Influência da cepa de levedura na do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*”

Variáveis	LEVEDURA										Média	Desvio P.
	Benda II		AWRI 796		FR 95		PDM		Montrachet			
Teor alcoólico %	9,95	a	10,02	a	10,41	a	10,04	a	10,34	a	10,15	0,21
Açúcares redutores (g/L)	1,66	a	1,81	b	1,74	ab	1,80	ab	1,79	ab	1,76	0,06
pH	3,44	ab	3,41	ab	3,49	b	3,40	a	3,42	ab	3,43	0,03
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,44	a	7,73	b	7,23	a	7,74	b	7,33	a	7,49	0,23
Acidez volátil (g/L ac.Aceti.)	0,15	a	0,23	b	0,16	a	0,16	a	0,17	ab	0,17	0,03
Furaneol (mg/L)	15,38	b	11,92	a	11,50	a	12,06	ab	9,14	a	12,00	2,23
O-aminoacetofenona (µg/L)	17,14	b	12,46	a	15,43	ab	14,76	ab	14,70	ab	14,90	1,69
Antranilato de metila (µg/L)	249,84	a	184,92	a	216,94	a	212,46	a	235,03	a	219,84	24,56
Soma dos comp. Fox. µg/L	15644,77		12119,60		11732,38		12282,77		9394,18		12234,74	2234,11
Etanal (mg/L)	9,11	a	31,88	c	23,95	bc	26,72	bc	20,66	b	22,46	8,53
Acetato de etila (mg/L)	55,41	bc	61,36	c	49,97	ab	44,71	a	52,38	abc	52,76	6,20
Metanol (mg/L)	274,44	a	298,26	b	307,55	bc	308,98	bc	321,20	c	302,09	17,48
1-propanol (mg/L)	32,44	a	48,60	b	28,96	a	46,57	b	26,26	a	36,57	10,32
2-metil-propanol (mg/L)	65,21	bc	60,83	b	69,08	c	53,02	a	66,18	bc	62,86	6,25
2-metil-butanol (mg/L)	35,92	a	36,38	a	51,33	b	34,04	a	48,18	b	41,17	7,96
3-metil-butanol (mg/L)	136,37	ab	120,74	a	184,91	c	145,52	b	172,70	c	152,05	26,34
Soma Isoamílicos (mg/L)	172,29	a	157,13	a	236,24	b	179,56	a	220,88	b	193,22	33,70
Total de álcoois sup. (mg/L)	269,93	a	266,56	a	334,28	b	279,14	a	313,33	b	292,65	29,75
Butirato de etila (mg/L)	6,69	ab	6,43	ab	8,74	c	5,54	a	7,56	bc	6,99	1,21
Acetato de isoamila (mg/L)	0,51	ab	0,37	a	0,84	bc	0,37	a	1,11	c	0,64	0,32
Hexanoato de etila (mg/L)	0,87	b	0,83	b	0,58	a	0,90	b	0,66	a	0,77	0,14
Hexanol (mg/L)	0,77	a	0,78	a	0,74	a	0,76	a	0,75	a	0,76	0,02
Octanoato de etila (mg/L)	0,90	c	0,83	bc	0,62	a	0,97	c	0,69	ab	0,80	0,15
Ácido isobutírico (mg/L)	3,06	b	1,81	a	3,88	c	2,39	a	2,47	ab	2,72	0,79
Ácido butírico (mg/L)	1,56	ab	3,27	bc	1,20	a	3,86	c	0,96	a	2,17	1,31
Decanoato de etila (mg/L)	0,28	ab	0,33	ab	0,21	a	0,39	b	0,21	a	0,28	0,08
Ácido isovalérico (mg/L)	1,35	b	0,77	a	2,07	c	1,42	b	1,47	b	1,41	0,46
Dietil succinato (mg/L)	1,99	b	2,77	c	1,42	a	2,24	b	2,21	b	2,12	0,49
Ácido hexanóico (mg/L)	4,38	b	4,00	b	2,94	a	4,34	b	3,17	a	3,76	0,67
Dodecanoato de etila (mg/L)	0,25	b	0,09	a	0,28	b	0,20	ab	0,26	b	0,21	0,08
2-feniletanol (mg/L)	77,33	a	73,70	a	126,53	b	85,58	a	116,74	b	95,98	24,07
Ácido octanóico (mg/L)	4,97	b	4,30	b	3,39	a	4,78	b	3,58	a	4,20	0,70
Ácido decanóico (mg/L)	1,14	c	0,94	ab	0,83	a	1,10	bc	0,85	a	0,97	0,14
Ácido láurico (mg/L)	0,18	b	0,16	ab	0,11	a	0,16	ab	0,11	a	0,15	0,03
Soma dos ésteres (mg/L)	67,67	b	73,80	b	63,38	ab	56,08	a	65,81	ab	65,35	6,46
Total de ac. graxos (mg/L)	10,33	bc	10,18	bc	8,98	ab	11,84	c	7,56	a	9,78	1,61
Hexanoato de etila (mg/L)	0,87	b	0,83	b	0,58	a	0,90	b	0,66	a	0,77	0,14
Octanoato de etila (mg/L)	0,90	c	0,83	bc	0,62	a	0,97	c	0,69	ab	0,80	0,15
Decanoato de etila (mg/L)	0,28	ab	0,33	ab	0,21	a	0,39	b	0,21	a	0,28	0,08
Dodecanoato de etila (mg/L)	0,25	b	0,09	a	0,28	b	0,20	ab	0,26	b	0,21	0,08
Soma dos ésteres etílicos mg/L	2,31		2,09		1,68		2,45		1,81		2,07	0,32
Ácido hexanóico (mg/L)	4,38	b	4,00	b	2,94	a	4,34	b	3,17	a	3,76	0,67
Ácido octanóico (mg/L)	4,97	b	4,30	b	3,39	a	4,78	b	3,58	a	4,20	0,70
Ácido decanóico (mg/L)	1,14	c	0,94	ab	0,83	a	1,10	bc	0,85	a	0,97	0,14
Ácido láurico (mg/L)	0,18	b	0,16	ab	0,11	a	0,16	ab	0,11	a	0,15	0,03
Soma ácidos graxos livres	10,62		9,41		7,22		10,32		7,21		9,09	1,54

Anexo 5:

TABELA 2: Influência do nutriente ativador de fermentação "Actibiol Special" na composição química do vinho Tinto de mesa Bordô " <i>Vitis labrusca</i> "								
	Dose de ativador de fermentação						Média	D. P.
Variáveis	0g/HL		2 g/HL		4 g/HL			
Teor alcoólico %	10,00	a	10,17	a	10,30	a	10,15	0,15
Açúcares redutores g/L	1,70	a	1,78	ab	1,80	b	1,76	0,05
pH	3,42	a	3,45	a	3,42	a	3,43	0,01
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,54	a	7,43	a	7,51	a	7,49	0,05
Acidez volátil (g/L ac.Aceti.)	0,19	a	0,18	a	0,15	a	0,17	0,02
Furaneol (mg/L)	11,32	a	12,28	a	12,40	a	12,00	0,59
O-aminoacetofenona (µg/L)	13,72	a	15,69	a	15,29	a	14,90	1,04
Antranilato de metila (µg/L)	201,55	a	221,53	a	236,43	a	219,84	17,50
Etanal (mg/L)	20,89	a	23,59	a	22,92	a	22,46	1,41
Acetato de etila (mg/L)	53,95	a	52,07	a	52,27	a	52,76	1,03
Metanol (mg/L)	298,82	a	303,85	a	303,59	a	302,09	2,83
1-propanol (mg/L)	34,44	a	36,88	a	38,38	a	36,57	1,99
2-metil-propanol (mg/L)	62,94	a	62,25	a	63,39	a	62,86	0,57
2-metil-butanol (mg/L)	39,46	a	41,23	a	42,82	a	41,17	1,68
3-metil-butanol (mg/L)	146,87	a	151,43	a	157,86	a	152,05	5,52
Soma Isoamílicos (mg/L)	186,33	a	192,66	a	200,68	a	193,22	7,19
Total de álcoois sup. (mg/L)	283,70	a	291,79	a	302,45	a	292,65	9,40
Butirato de etila (mg/L)	7,04	a	6,76	a	7,17	a	6,99	0,21
Acetato de isoamila (mg/L)	0,54	a	0,55	a	0,83	a	0,64	0,16
Hexanoato de etila (mg/L)	0,71	a	0,77	a	0,83	a	0,77	0,06
Hexanol (mg/L)	0,71	a	0,77	ab	0,80	b	0,76	0,05
Octanoato de etila (mg/L)	0,73	a	0,83	a	0,84	a	0,80	0,06
Ácido isobutírico (mg/L)	2,68	a	2,59	a	2,91	a	2,72	0,16
Ácido butírico (mg/L)	2,85	a	1,92	a	1,75	a	2,17	0,59
Decanoato de etila (mg/L)	0,24	a	0,33	a	0,29	a	0,28	0,05
Ácido isovalérico (mg/L)	1,29	a	1,42	a	1,54	a	1,41	0,12
Dietil succinato (mg/L)	2,04	a	2,05	a	2,29	a	2,12	0,14
Ácido hexanóico (mg/L)	3,54	a	3,77	a	3,99	a	3,76	0,22
Dodecanoato de etila (mg/L)	0,19	a	0,25	a	0,20	a	0,21	0,03
2-feniletanol (mg/L)	94,14	a	94,88	a	98,91	a	95,98	2,57
Ácido octanóico (mg/L)	3,95	a	4,24	a	4,42	a	4,20	0,24
Ácido decanóico (mg/L)	0,92	a	0,99	a	1,01	a	0,97	0,05
Ácido láurico (mg/L)	0,14	a	0,16	a	0,14	a	0,15	0,01
Soma comp. fixados (µg/L)	66,14	a	64,39	a	65,52	a	65,35	0,89

Anexo 6:

TABELA 2: Influência do nutriente ativador de fermentação na composição química do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*” fermentado com Benda II

Variáveis	Dose de ativador de fermentação						Média	D. P.
	0g/HL		2 g/HL		4 g/HL			
Teor alcoólico %	10,10	a	9,87	a	9,89	a	9,95	0,13
Açúcares redutores g/L	1,60	a	1,70	a	1,67	a	1,66	0,05
pH	3,47	a	3,43	a	3,41	a	3,44	0,03
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,41	a	7,44	a	7,47	a	7,44	0,03
Acidez volátil (g/L ac. Aceti.)	0,16	a	0,15	a	0,15	a	0,15	0,01
Furaneol (mg/L)	13,77	a	15,47	a	16,90	a	15,38	1,57
O-aminoacetofenona (µg/L)	15,30	a	18,97	a	17,17	a	17,14	1,83
Antranilato de metila (µg/L)	285,57	a	231,87	a	232,10	a	249,84	30,94
Etanal (mg/L)	8,52	a	9,22	a	9,58	a	9,11	0,54
Acetato de etila (mg/L)	58,95	a	57,17	a	50,10	a	55,41	4,68
Metanol (mg/L)	269,53	a	277,77	a	276,02	a	274,44	4,34
1-propanol (mg/L)	33,50	a	33,08	a	30,74	a	32,44	1,49
2-metil-propanol (mg/L)	65,54	a	65,11	a	64,97	a	65,21	0,30
2-metil-butanol (mg/L)	34,81	a	34,22	a	38,72	a	35,92	2,44
3-metil-butanol (mg/L)	132,09	a	129,65	a	147,39	a	136,37	9,62
Soma Isoamílicos (mg/L)	166,90	a	163,87	a	186,10	a	172,29	12,06
Total de álcoois sup. (mg/L)	265,93	a	262,06	a	281,81	a	269,93	10,47
Butirato de etila (mg/L)	6,87	a	7,02	a	6,17	a	6,69	0,45
Acetato de isoamila (mg/L)	0,62	a	0,44	a	0,47	a	0,51	0,09
Hexanoato de etila (mg/L)	0,90	a	0,86	a	0,87	a	0,87	0,02
Hexanol (mg/L)	0,78	a	0,79	a	0,72	a	0,77	0,04
Octanoato de etila (mg/L)	0,93	a	0,89	a	0,89	a	0,90	0,02
Ácido isobutírico (mg/L)	3,10	a	3,14	a	2,96	a	3,06	0,10
Ácido butírico (mg/L)	1,64	a	1,59	a	1,47	a	1,56	0,09
Decanoato de etila (mg/L)	0,30	a	0,28	a	0,26	a	0,28	0,02
Ácido isovalérico (mg/L)	1,34	a	1,29	a	1,42	a	1,35	0,07
Diethyl succinato (mg/L)	2,09	a	2,04	a	1,84	a	1,99	0,13
Ácido hexanóico (mg/L)	4,53	a	4,51	a	4,10	a	4,38	0,24
Dodecanoato de etila (mg/L)	0,25	a	0,24	a	0,25	a	0,25	0,01

TABELA 2: Influência do nutriente ativador de fermentação na composição química do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*” fermentado com AWRI 796

Variáveis	Dose de ativador de fermentação						Média	D. P.
	0g/HL		2 g/HL		4 g/HL			
Teor alcoólico %	10,14	a	10,09	a	9,84	a	10,02	0,16
Açúcares redutores g/L	1,73	a	1,80	a	1,90	a	1,81	0,08
pH	3,40	a	3,43	a	3,39	a	3,41	0,02
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,79	a	7,68	a	7,71	a	7,73	0,06
Acidez volátil (g/L ac. Aceti.)	0,22	a	0,27	a	0,20	a	0,23	0,04
Furaneol (mg/L)	9,00	a	12,13	ab	14,63	b	11,92	2,82
O-aminoacetofenona (µg/L)	12,23	a	13,17	a	11,97	a	12,46	0,63
Antranilato de metila (µg/L)	192,17	a	212,90	a	149,70	a	184,92	32,22

Anexo 8:

TABELA 2: Influência do nutriente ativador de fermentação na composição química do vinho Tinto de mesa Bordô “ <i>Vitis labrusca</i> ” fermentado com FR 95								
Variáveis	Dose de ativador de fermentação						Média	D. P.
	0g/HL		2 g/HL		4 g/HL			
Teor alcoólico %	10,30	a	10,50	a	10,45	a	10,41	0,10
Açúcares redutores g/L	1,77	a	1,77	a	1,70	a	1,74	0,04
pH	3,51	a	3,50	a	3,45	a	3,49	0,03
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,14	a	7,22	a	7,32	a	7,23	0,09
Acidez volátil (g/L ac.Aceti.)	0,14	a	0,18	a	0,15	a	0,16	0,02
Furaneol (mg/L)	12,33	a	11,33	a	10,83	a	11,50	0,76
O-aminoacetofenona (µg/L)	15,50	a	15,50	a	15,30	a	15,43	0,12
Antranilato de metila (µg/L)	216,87	a	208,77	a	225,20	a	216,94	8,22
Etanal (mg/L)	24,26	a	21,95	a	25,63	a	23,95	1,86
Acetato de etila (mg/L)	43,99	a	53,49	a	52,42	a	49,97	5,20
Metanol (mg/L)	305,20	a	314,27	a	303,18	a	307,55	5,91
1-propanol (mg/L)	29,01	a	30,81	a	27,06	a	28,96	1,88
2-metil-propanol (mg/L)	66,75	a	68,55	a	71,95	a	69,08	2,64
2-metil-butanol (mg/L)	47,98	a	49,45	ab	56,56	b	51,33	4,59
3-metil-butanol (mg/L)	176,54	a	179,20	ab	199,00	b	184,91	12,27
Soma Isoamilicos (mg/L)	224,52	a	228,65	ab	255,56	b	236,24	16,85

Anexo 9:

TABELA 2: Influência do nutriente ativador de fermentação na composição química do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*” fermentado com PDM

Variáveis	Dose de ativador de fermentação						Média	D. P.
	0g/HL		2 g/HL		4 g/HL			
Teor alcoólico %	9,61	a	10,20	b	10,32	b	10,04	0,38
Açúcares redutores g/L	1,70	a	1,83	a	1,87	a	1,80	0,09
pH	3,38	a	3,42	a	3,40	a	3,40	0,02
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,85	b	7,63	a	7,74	ab	7,74	0,11
Acidez volátil (g/L ac. Aceti.)	0,20	a	0,17	a	0,10	a	0,16	0,05
Furaneol (mg/L)	12,80	a	12,70	a	10,67	a	12,06	1,20
O-aminoacetofenona (µg/L)	12,93	a	17,17	a	14,17	a	14,76	2,18
Antranilato de metila (µg/L)	126,80	a	243,63	b	266,93	b	212,46	75,09
Etanal (mg/L)	24,05	a	29,88	a	26,23	a	26,72	2,95
Acetato de etila (mg/L)	42,63	a	43,09	a	48,42	a	44,71	3,22
Metanol (mg/L)	300,17	a	306,55	ab	320,23	b	308,98	10,25
1-propanol (mg/L)	39,98	a	45,31	ab	54,41	b	46,57	7,29
2-metil-propanol (mg/L)	53,64	a	50,59	a	54,82	a	53,02	2,18
2-metil-butanol (mg/L)	32,42	a	35,03	a	34,66	a	34,04	1,42
3-metil-butanol (mg/L)	144,92	a	147,44	a	144,21	a	145,52	1,70
Soma Isoamílicos (mg/L)	177,33	a	182,47	a	178,87	a	179,56	2,64
Total de álcoois sup. (mg/L)	270,95	a	278,38	a	288,09	a	279,14	8,60
Butirato de etila (mg/L)	6,25	a	5,29	a	5,07	a	5,54	0,63
Acetato de isoamila (mg/L)	0,35	a	0,28	a	0,48	a	0,37	0,10
Hexanoato de etila (mg/L)	0,78	a	0,90	ab	1,02	b	0,90	0,12
Hexanol (mg/L)	0,62	a	0,77	ab	0,90	b	0,76	0,14
Octanoato de etila (mg/L)	0,82	a	1,04	a	1,04	a	0,97	0,13
Ácido isobutírico (mg/L)	2,46	a	2,31	a	2,40	a	2,39	0,08
Ácido butírico (mg/L)	6,36	a	3,40	a	1,84	a	3,86	2,30
Decanoato de etila (mg/L)	0,25	a	0,53	a	0,38	a	0,39	0,14
Ácido isovalérico (mg/L)	1,39	a	1,49	a	1,37	a	1,42	0,06
Dietil succinato (mg/L)	1,91	a	2,14	b	2,68	b	2,24	0,39
Ácido hexanóico (mg/L)	3,88	a	4,31	a	4,81	a	4,34	0,46
Dodecanoato de etila (mg/L)	0,17	a	0,24	a	0,19	a	0,20	0,04
2-feniletanol (mg/L)	90,27	a	88,55	a	77,92	a	85,58	6,69
Ácido octanóico (mg/L)	4,27	a	4,83	a	5,24	a	4,78	0,48
Ácido decanóico (mg/L)	0,96	a	1,13	a	1,21	a	1,10	0,13
Ácido láurico (mg/L)	0,13	a	0,20	a	0,14	a	0,16	0,04

Anexo 10:

TABELA 2: Influência do nutriente ativador de fermentação na composição química do vinho Tinto de mesa Bordô “*Vitis labrusca*” fermentado com Montrachet

Variáveis	Dose de ativador de fermentação						Média	D. P.
	0g/HL		2 g/HL		4 g/HL			
Teor alcoólico %	9,85	a	10,18	a	10,98	a	10,34	0,58
Açúcares redutores g/L	1,70	a	1,80	a	1,87	a	1,79	0,08
pH	3,36	a	3,45	a	3,45	a	3,42	0,05
Acidez total (g/L ac. Tart.)	7,49	a	7,20	a	7,30	a	7,33	0,15
Acidez volátil (g/L ac. Aceti.)	0,21	a	0,13	a	0,16	a	0,17	0,04
Furaneol (mg/L)	8,70	a	9,77	a	8,97	a	9,14	0,56
O-aminoacetofenona (µg/L)	12,63	a	13,63	ab	17,83	b	14,70	2,76
Antranilato de metila (µg/L)	186,37	a	210,50	a	308,23	a	235,03	64,53
Etanal (mg/L)	20,23	a	21,33	a	20,42	a	20,66	0,59
Acetato de etila (mg/L)	55,34	a	46,83	a	54,95	a	52,38	4,81
Metanol (mg/L)	316,99	a	323,54	a	323,09	a	321,20	3,66
1-propanol (mg/L)	20,47	a	30,26	a	28,06	a	26,26	5,14
2-metil-propanol (mg/L)	65,45	a	66,68	a	66,43	a	66,18	0,65
2-metil-butanol (mg/L)	43,85	a	50,60	a	50,08	a	48,18	3,75
3-metil-butanol (mg/L)	157,28	a	172,65	a	188,18	a	172,70	15,45
Soma Isoamílicos (mg/L)	201,14	a	223,24	a	238,27	a	220,88	18,68
Total de álcoois sup. (mg/L)	287,05	a	320,18	a	332,76	a	313,33	23,61
Butirato de etila (mg/L)	7,18	a	7,83	a	7,66	a	7,56	0,34
Acetato de isoamila (mg/L)	0,74	a	0,99	a	1,59	a	1,11	0,44
Hexanoato de etila (mg/L)	0,55	a	0,71	a	0,71	a	0,66	0,09
Hexanol (mg/L)	0,72	a	0,78	a	0,76	a	0,75	0,03
Octanoato de etila (mg/L)	0,57	a	0,75	a	0,75	a	0,69	0,10
Ácido isobutírico (mg/L)	2,36	a	2,33	a	2,73	a	2,47	0,23
Ácido butírico (mg/L)	1,14	a	0,90	a	0,83	a	0,96	0,16
Decanoato de etila (mg/L)	0,18	a	0,23	a	0,23	a	0,21	0,03
Ácido isovalérico (mg/L)	1,08	a	1,50	b	1,84	c	1,47	0,38
Dietil succinato (mg/L)	1,82	a	2,19	ab	2,61	b	2,21	0,40
Ácido hexanóico (mg/L)	2,96	a	3,35	a	3,19	a	3,17	0,20
Dodecanoato de etila (mg/L)	0,21	a	0,31	a	0,24	a	0,26	0,05
2-feniletanol (mg/L)	112,49	a	112,71	a	125,02	a	116,74	7,17
Ácido octanóico (mg/L)	3,22	a	3,86	a	3,66	a	3,58	0,33
Ácido decanóico (mg/L)	0,78	a	0,92	a	0,86	a	0,85	0,07
Ácido láurico (mg/L)	0,12	a	0,11	a	0,10	a	0,11	0,01
Soma comp. foxados (µg/L)	8899,00	a	9990,80	a	9292,73	a	9394,18	552,92
Soma dos ésteres etílicos (mg/L)	1,51	a	1,99	a	1,93	a	1,81	0,26
Soma dos ácidos graxos livres (mg/L)	7,08	a	8,25	a	7,80	a	7,71	0,59

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)