

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

LORENA DOS SANTOS QUINCOZES

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES LEVEDURAS NA ELABORAÇÃO DE VINHOS DA
cv. RIESLING ITÁLICO**

Dom Pedrito

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

LORENA DOS SANTOS QUINCOZES

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES LEVEDURAS NA ELABORAÇÃO DE VINHOS DA
cv. RIESLING ITÁLICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Enologia da Universidade
Federal do Pampa, como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em Enologia.

Orientador: Rafael Lizandro Schumacher

Dom Pedrito

2018

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

Q7 Quincozes, Lorena dos Santos
 INFLUÊNCIA DE DIFERENTES LEVEDURAS NA ELABORAÇÃO DE VINHOS
DA cv. RIESLING ITÁLICO / Lorena dos Santos Quincozes.
 39 p.

 Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, ENOLOGIA, 2018.
 "Orientação: Rafael Lizandro Shumacher".

 1. Leveduras . 2. Vinhos brancos . 3. Complexidade
aromática. I. Título.

LORENA DOS SANTOS QUINCOZES

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES LEVEDURAS NA ELABORAÇÃO DE VINHOS DA
cv. RIESLING ITÁLICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Enologia da
Universidade Federal do Pampa, como requisito
parcial para obtenção do Título de Bacharel em
Enologia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 30 de Novembro de 2018

Banca examinadora:



Prof. Dr. Rafael Lizandro Schumacher

Orientador

UNIPAMPA



Prof. Dr. Marcos Gabbardo

UNIPAMPA



Prof. Msc. Ângela Marcon

UNIPAMPA

“Dedico esse trabalho, com muito amor e gratidão, à minha mãe Orfela Quincozes”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela vida. Agradeço por ter me dado forças para alcançar os objetivos que sempre almejei, além de coragem e sabedoria para continuar.

Agradeço também aos meus pais Almiro de Quincozes (*in memoriam*), Orfela Ricci dos Santos Quincozes, pelo dom da vida; a meus irmãos, que com muito carinho e apoio não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

A minha madrinha Ione Moreira e sua família que esteve sempre do meu lado me incentivando e dando forças.

A todos os colegas de curso, mas em especial as minhas amigas do coração: Alice, Francieli, Gabrieli, Ingrid, Patrícia B, Laura, Patrícia. S, Denise Prates, Joselem e Jean.

Que nossa amizade se fortaleça cada vez mais, muita luz à todos!

Ao meu Orientador Rafael Schumacher, pela paciência, amizade, e pelas trocas de conhecimento.

Agradeço o ensinamento recebido de todos os professores e técnicos do curso.

Aos funcionários da Universidade federal do Pampa (Unipampa).

Agradeço em destaque aos professores Marcos Gabbardo e Ângela Marcon e aos técnicos Daniel e Wellynthon Cunha, que muito me auxiliaram na realização desse trabalho.

À vinícola Aurora.

Á todos vocês o meu sincero, MUITO OBRIGADA!

“Mesmo quando tudo parece desabar cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri no caminho incerto da vida, que o mais importante é decidir”

Cora Coralina

RESUMO

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES LEVEDURAS NA ELABORAÇÃO DE VINHOS DA cv. RIESLING ITÁLICO

Lorena Quincozes¹

Patrícia Santos¹

Laura Vieira¹

Ângela Marcon¹

Marcos Gabbardo¹

Daniel Pazinni¹

Wellynthon Cunha¹

Vagner Costa¹

Leticia Zigiotto¹

Rafael Schumacher¹

A complexidade aromática dos vinhos em geral, e dos vinhos brancos em particular, é o que de essencial se busca para satisfazer um consumidor cada vez mais exigente. Entre as técnicas mais utilizadas para atingir esse propósito está a adição de leveduras de diversos gêneros, proporcionando, desta forma, uma gama de características aromáticas que são acentuadas nos mesmos. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o uso de diferentes cepas de leveduras em vinhos brancos da variedade Riesling Itálico, elaborados a partir de uvas cultivadas na região da Serra Gaúcha, no estado do Rio Grande do Sul. Foram recebidos na vinícola experimental da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito (RS), 100 litros de mosto já sulfitado com 72 mg.L^{-1} de SO_2 , que foram fracionados em 5 tratamentos, cada um deles com 3 repetições. As leveduras, distribuídas aleatoriamente, foram inoculadas nos tratamentos, sendo três leveduras do gênero *Saccharomyces* com diferentes propósitos: no Tratamento 1 (T1) *Saccharomyces cerevisiae* formadora de tiois; no Tratamento 2 (T2) *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*, formadora de ésteres, e no Tratamento 3 (T3), uma *Saccharomyces bayanus*. Além disso, foram inoculadas duas leveduras não-*Saccharomyces*, das quais esperava-se uma contribuição significativa na produção de ésteres frutados, grande pureza e baixa produção de acidez volátil, sendo elas, *Torulaspora delbruecki* no Tratamento 4 (T4) e *Metschnikowa pulcherrima* no Tratamento 5 (T5). Toda a fermentação alcoólica foi conduzida sob controle de temperatura a $15 \text{ }^\circ\text{C}$. A qualidade do mosto, levando em conta os

teores de açúcares totais ($167,6 \text{ g.L}^{-1}$), acidez total (81 meq.L^{-1}) e pH (3,5), estavam dentro dos padrões considerados normais para uvas da variedade Riesling cultivadas na região da Serra Gaúcha. No entanto, para melhorar a qualidade dos vinhos, todos os tratamentos foram chaptalizados, com a adição de 18 g.L^{-1} de açúcar. Com base nos resultados, foi possível observar que não houve diferenças significativas entre os tratamentos no que diz respeito às variáveis pH, acidez total e grau alcoólico. No entanto, com relação ao rendimento de fermentação, o T3 foi o tratamento que obteve melhor desempenho, chegando a densidade ideal (abaixo de 1.000 g.cm^3) no decorrer de 6 a 7 dias, seguido dos tratamentos T1 e T5 (7 a 8 dias), sendo que os tratamentos T2 e T4, os que tiveram menor desempenho (9 a 10 dias). O tratamento T4, também foi o que apresentou uma maior quantidade de açúcares residuais, o que comprova a menor atividade desta levedura em meios mais alcoólicos. Todas as leveduras utilizadas têm como característica a baixa produção de acidez volátil, porém, a que apresentou menor concentração foi a *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*, utilizada no tratamento T2 ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$), sendo que os demais tratamentos apresentaram maiores concentrações ($0,4$ a $0,5 \text{ g.L}^{-1}$), embora ainda estejam dentro dos parâmetros considerados ideais para obtenção de vinhos brancos de qualidade. O T2 também foi o tratamento que apresentou menores concentrações de glicerol ($5,1 \text{ g.L}^{-1}$). Este composto é formado principalmente pela fermentação gliceropirúvica através do metabolismo das leveduras no início da fermentação alcoólica, geralmente sendo produzido pelos primeiros 50 gramas de açúcares fermentados, o que pode indicar uma maior atividade dessa levedura neste período da fermentação. Com relação aos compostos voláteis e as análises sensoriais, o tratamento T1 foi o que obteve melhores resultados, com aspectos muito similares ao tratamento T5, onde ambos apresentaram uma melhor intensidade de aroma, maiores notas florais, de frutas cítricas e de polpa branca, além de uma melhor qualidade gustativa e uma maior impressão global. De uma maneira geral, podemos afirmar que todas as leveduras utilizadas apresentam potencial para produção de vinhos brancos de qualidade, pois tiveram bons rendimentos de fermentação, produção satisfatória de álcool e glicerol, além de baixa produção de acidez volátil.

Palavras-Chave: Leveduras; Vinhos brancos; complexidade aromática.

ABSTRACT

The aromatic complexity of wine in general, and white wine in particular, is what is essential to satisfy an increasingly demanding consumer. Among the most used techniques to achieve this purpose is the addition of yeasts of different genres, thus providing a range of aromatic characteristics that are accentuated in it. In this sense, the objective of this work was to evaluate the use of different strains of yeasts in white wines of Riesling Italic variety, made from grapes grown in the Serra Gaúcha region, in the state of Rio Grande do Sul. To carry out the study, 100 liters of must already sulfited with 72 mg.L^{-1} of SO_2 were received in the experimental winery of the Federal University of Pampa, Campus Dom Pedrito (RS), each of them fractionated in 5 treatments with 3 replicates. The yeasts, randomly distributed, were inoculated in the treatments, being three yeasts of the genus *Saccharomyces* with different purposes: in Treatment 1 (T1) *Saccharomyces cerevisiae* of thiols; in Treatment 2 (T2) *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae* ester-forming, and in Treatment 3 (T3), a *Saccharomyces bayanus*. In addition, two non-*Saccharomyces* yeasts were inoculated, from which a significant contribution was expected in the production of fruity esters, high purity and low production of volatile acidity, being *Torulaspora delbrueckii* Treatment 4 (T4) and *Metschnikowa pulcherrima* in the Treatment 5 (T5). All alcoholic fermentation was conducted under temperature control at 15°C . The quality of the must, taking into account the total sugars (167.6 g.L^{-1}), total acidity (81 meq.L^{-1}) and pH (3,5), were within normal standards for grapes of the Riesling variety cultivated in the region of the Serra Gaúcha. However, to improve the quality of the wines, all treatments were chaptalized, with the addition of 18 g.L^{-1} of sugar. Based on the results, it was possible to observe that there were no significant differences between the treatments in relation to the variables pH, total acidity and alcoholic degree. However, with respect to the fermentation yield, T3 was the treatment that obtained the best performance, reaching the ideal density (below 1.000 g.cm^{-3}) in the course of 6 to 7 days, followed by treatments T1 and T5 (7 to 8 days), with treatments T2 and T4, which had the lowest performance (9 to 10 days). The T4 treatment was also the one that presented a higher amount of residual sugars, which proves the less activity of this yeast in more alcoholic means. All the yeasts used have a low production of volatile acidity, but the lowest concentration was *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*, used in treatment T2 (0.1 g.L^{-1}), and the other treatments presented higher concentrations (0.4 to 0.5 g.L^{-1}), although it is still within the parameters considered ideal for obtaining quality white wines. T2 was also the treatment with lower concentrations of glycerol (5.1 g.L^{-1}). This compound is mainly formed

by glycerirubic fermentation through the metabolism of yeasts at the beginning of alcoholic fermentation, usually being produced by the first 50 grams of fermented sugars, which may indicate a greater activity of this yeast in this fermentation period. In relation to volatile compounds and sensorial analyzes, T1 treatment was the one that obtained the best results, with very similar aspects to the T5 treatment, where they presented a better flavor intensity, higher floral notes, citrus fruits and white pulp, besides a better gustatory quality and a greater overall impression. In general, we can say that all the yeasts used have the potential to produce quality white wines, since they had good fermentation yields, satisfactory production of alcohol and glycerol, and low production of volatile acidity.

Keywords: yeasts; white wine; aromatic complexity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gráfico do acompanhamento da densidade durante a fermentação do mosto Riesling Itálico por diferentes leveduras.....	22
Figura 2: Representação gráfica da análise sensorial dos vinhos dos distintos tratamentos.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Distribuição dos tratamentos com leveduras do gênero <i>Saccharomyces</i> e não- <i>Saccharomyces</i>	19
Tabela 2– Parâmetros físico-químicos do mosto utilizado no processo de vinificação.....	21
Tabela 3- Parâmetros físico-químicos do mosto utilizado no processo de vinificação.....	24
Tabela 4- Concentração de compostos aromáticos ($\mu\text{g.L}^{-1}$)* encontrados nos vinhos fermentados com os diferentes tipos de leveduras.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FTIR - Infravermelho com Transformada de Fourier

g.L^{-1} - gramas por litro

g.hL^{-1} - gramas por hectolitro

meq.L^{-1} - milequivalente por litro

° Brix - graus Brix

° C - Graus Celsius

pH – Potencial Hidrogeniônico

SO_2 - dióxido de enxofre ou anidrido sulfuroso

vol/vol - volume por volume

v.v^{-1} - volume por volume

% - porcentagem

g.cm^3 - gramas por centímetros cúbicos

L – litro

cm – centímetro

mg.L^{-1} - miligrama por litro

$\mu\text{g.L}^{-1}$ - microgramas por litro

Hat – ácido tartárico

Hac – ácido acético

RS –Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
2.1 Mosto.....	18
2.2 Tratamentos.....	19
2.3. Análises convencionais.....	20
2.4 Análises compostos voláteis.....	20
2.5. Análise sensorial.....	20
2.6. Tratamento estatístico dos dados.....	21
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
3.1. Características do mosto utilizado.....	21
3.2. Efeito do tratamento com diferentes leveduras no rendimento da fermentação alcoólica dos vinhos.....	22
3.3. Efeito da inoculação com diferentes leveduras nos parâmetros convencionais dos vinhos.....	23
3.4. Efeito dos tratamentos com diferentes leveduras na composição volátil dos vinhos....	26
3.5. Análise sensorial descritiva.....	31
4 CONCLUSÕES.....	32
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do vinho é dependente tanto das condições do mosto das uvas, quanto das evoluções dos microrganismos durante os processos de vinificação (CSOMA et al, 2010). A composição química destes vinhos e suas características sensoriais são fortemente condicionadas pelos componentes liberados pelas leveduras durante o processo fermentativo.

Assim, a variabilidade genética e fisiológica das leveduras enológicas é determinante para as propriedades tecnológicas e sensoriais dos vinhos (SWIEGERS et al, 2007). A principal função das leveduras enológicas é garantir a conversão rápida e completa de açúcar da uva em etanol, dióxido de carbono e metabólitos secundários, evitando a produção de defeitos (JIMÉNEZ-MARTÌ et al, 2011). Embora muitos compostos do vinho estejam relacionados diretamente às uvas, parte essencial das características olfativas e gustativas do vinho é alcançada durante o processo de fermentação alcoólica (ILIEVA et al, 2015). É amplamente conhecido que a diversidade de leveduras autóctones, através de seus mecanismos bioquímicos e metabólicos, exerce um papel central no desenvolvimento das características químicas e sensoriais dos vinhos, originando produtos com qualidade diferenciada, de gostos e aromas peculiares (FLEET, 2003; LOIRA et al, 2015; MEDINA et al, 2013).

Há um interesse recente por parte da comunidade científica em buscar novas estratégias para promover a complexidade e as características distintivas dos vinhos, com propósito de aumentar o valor agregado. A realização de processos fermentativos e a inoculação controlada de diferentes espécies de leveduras convencionais (Gênero *Saccharomyces*) e não convencionais (não-*Saccharomyces*) é uma estratégia para explorar características enológicas que as leveduras poderão promover nos vinhos (FLEET, 2003; LOIRA et al, 2015; MEDINA et al, 2013). Nesse sentido, o emprego de leveduras não convencionais na fermentação alcoólica, torna-se cada vez mais popular, particularmente devido aos seus efeitos na composição, gosto, aroma e cor dos vinhos (MEDINA et al., 2013; VARELA et al., 2013)

A fermentação alcoólica engloba uma das principais fases da produção de vinho e geralmente é conduzida por leveduras pertencentes à espécie *Saccharomyces cerevisiae* e espécies intimamente relacionadas, como a espécie *Saccharomyces bayanus var. uvarum* (MARTINHO, 2008; LANÇA et al, 2017). Todavia, do ponto de vista enológico, mesmo estas leveduras sendo do mesmo gênero, espécies diferentes podem contribuir com

características enológicas diferenciadas. Uma comparação feita entre *S. bayanus var. uvarum* e *S. cerevisiae* revelaram que a primeira é mais criotolerante e produz quantidades menores de ácido acético

(CHEN et al, 2018; BELDA et al, 2015). Vinhos produzidos por cepas de *S. bayanus var. uvarum* têm maior intensidade aromática que os produzidos por *S. cerevisiae* (BREDA et al., 2015; SADOUDI et al., 2012). Especificamente, *S. bayanus var. uvarum* gera maiores quantidades de 2-feniletanol, 2-acetato de feniletilo e lactato de etilo (BELDA, 2015; CONTRERAS et al., 2014; KUTYNA et al., 2010). Em contraste, *S. bayanus var. uvarum* é menos comum e aparece principalmente em fermentações a baixas temperaturas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

Por outro lado, os gêneros de leveduras não-*Saccharomyces* dominam a fase inicial de processo de vinificação e podem persistir durante outros estádios da vinificação, sendo também responsáveis pela fermentação alcoólica, podendo afetar o produto final (CONTRERAS et al, 2015). Entre as espécies não-*Saccharomyces*, representativas no processo enológico, podem ser citadas as seguintes leveduras: *Torulaspota delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida zemplinina*, *Lachancea thermotoleranse*, *Hanseniaspora uvarum* (RODRÍGUEZ et al., 2010; COMITINI et al., 2011; MEDINA et al., 2012; SADOUDI et al., 2012; GOBBI et al, 2013).

Antigamente existia uma preocupação quanto ao uso de leveduras não-*Saccharomyces*, devido a que estas, diminuem o poder de fermentação, bem como possuem baixa tolerância ao etanol e as doses de anidrido sulfuroso, havendo a necessidade de conduzir o processo de fermentação alcoólica com inoculação simultânea ou sequencial de leveduras do gênero *Saccharomyces*. Entretanto, nos últimos anos, vários estudos vêm reavaliando o envolvimento de leveduras não-*Saccharomyces* durante a fermentação alcoólica e seu papel no impacto metabólico e na complexidade aromática do produto final (LEMA et al., 1996; EGLI et al., 1998; HENICK-KLING et al., 1998; ROJAS et al., 2001; ZOHRE E ERTEN, 2002; FLEET, 2003; JOLLY et al., 2003; DOMIZIO et al., 2007).

Neste sentido, alguns estudos desenvolvidos com a cepa de levedura *T. delbrueckii* na elaboração de vinhos, indicam uma baixa produção de ácido acético, redução da concentração de etanol e aumento de manoproteínas nos vinhos, causando um impacto notável em suas propriedades gustativas (AZZOLINI et al., 2015; BELY et al., 2008; BELDA et al., 2015). Além disso, essa levedura pode afetar o perfil geral de aroma dos vinhos, reforçando os

descritores de odor de frutas frescas e diminuindo a percepção de sabores vegetais (RAMIREZ et al., 2016; RENAULT et al., 2015). Por outro lado, alguns autores relatam que a levedura não-*Sacharomyces M. pulcherrima* possui uma considerável tolerância ao álcool, além de ser produtora de baixa acidez volátil, quando comparada com *S. cerevisiae* (COMITINI et al., 2011). Esta diminuição pode estar relacionada à interação levedura-levedura ou ao metabolismo do ácido acético (DOS SANTOS et al., 2003). Desde o ponto de vista sensorial, quando cepas de *M. pulcherrima* são inoculadas em monocultivo, promovem alta complexidade organoléptica nos vinhos, que é muito perceptível por parte dos consumidores. Entre suas características está o incremento de alcoóis superiores e de terpenos conferindo ao vinho aromas de frutas de tropicais e aromas florais (SADAUDI, et al., 2012). Já a inoculação desta levedura em cultivos simultâneos caracteriza-se por promover teores mais elevados de alcoóis superiores, ésteres etílicos, fenil-acetato, isoamil-acetato e terpenos, incrementando a complexidade e intensidade do perfil aromático dos vinhos (AEB, 2018).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o uso de diferentes cepas de leveduras em vinhos brancos da variedade Riesling Itália, elaborados a partir de uvas cultivadas na região da Serra Gaúcha e caracterizar suas propriedades físico-químicas, aromáticas e sensoriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Mosto

Os experimentos foram realizados a partir de 100 L de mosto da variedade Riesling Itália, previamente sulfitado (72 mg.L^{-1} de SO_2), oriundo da região da Serra Gaúcha (latitude 29°S , longitude 51°W , altitude 600-800 m). O mesmo foi acondicionado em um tanque de inox por 24 horas para a *débourbage* (processo de decantação de partículas sólidas do mosto). Após, realizou-se a etapa de *trasfega* e retiraram-se amostras do mosto para análises físico-químicas. Posteriormente, o nutriente GESFERM PLUS[®] (preparado enológico que incorpora nutrientes, incluindo vitaminas e fatores de crescimento aos mostos, ativando e regulando as fermentações) foi adicionado na dosagem de 25 g.hL^{-1} e a *chaptalização* foi realizada através da adição de 18 g.L^{-1} de sacarose, com o intuito de aumentar o volume de álcool em 1,0 %.

2.2 Tratamentos

Após a adição de nutrientes, o mosto foi fracionado em garrações de 14 L, distribuídos em cinco tratamentos, cada um com três repetições. Cada tratamento recebeu a adição de um tipo de levedura diferente. As leveduras foram distribuídas aleatoriamente e foram inoculadas na concentração de 30 g.hL⁻¹ por tratamento. Empregaram-se três leveduras do gênero *Saccharomyces* e duas leveduras do gênero não *Saccharomyces*, conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição dos tratamentos com leveduras do gênero *Saccharomyces* e não *Saccharomyces*.

Tratamentos	Tipos de Leveduras	Leveduras Comerciais
T1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	UOA MAXITHIOL [®]
T2	<i>Saccharomyces cerevisiae cerevisiae</i>	LALVIN ICV D47 [®]
T3	<i>Saccharomyces bayanus</i>	LALVIN QA23 [®]
T4	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	ZYMAFLORE [®] ALPHATD
T5	<i>Metschnikowa pulcherrima</i>	LEVULIA [®] PULCCHERRIMA

Fonte: Próprio autor (2018).

Todos os tratamentos passaram pelo processo de fermentação alcoólica realizada em temperatura controlada de 15°C por 10 dias. Durante esse período, foram realizadas diariamente medidas de temperatura e densidade, para acompanhamento da fermentação. No 3º e no 5º dia de fermentação foram adicionados 10 g.hL⁻¹ de ACTIMAX VIT[®] (ativante de fermentação que fornece aporte equilibrado de aminoácidos, vitaminas e minerais. Nutriente, para equilibrar o mosto em nitrogênio orgânico e bioelementos), em cada garrafão.

Transcorrida a etapa de fermentação, os garrações foram acondicionados em câmara fria a 8°C por 30 dias, para estabilização tartárica. No decorrer desse período, nas primeiras 24 h realizou-se uma decantação das borras grossas e imediata trasfega para garrações de 4,6 L, onde adicionaram-se 40 mg.L⁻¹ de SO₂, para evitar a fermentação malolática e 0,09 g.L⁻¹ de bentonite, para clarificação. No 12º dia realizou-se uma nova trasfega, para remoção do bentonite. Os garrações permaneceram em câmara fria para posterior envase e retirada das amostras para as determinações analíticas dos tratamentos.

2.3. Análises convencionais

As análises físico-químicas convencionais do mosto foram: sólidos solúveis totais (SST), expresso em °Brix, pH (potencial de hidrogênio), acidez total (meq.L⁻¹), ácido tartárico (g.L⁻¹), ácido málico (g.L⁻¹), ácido glucônico (g.L⁻¹) e açúcares redutores (g.L⁻¹). Nos vinhos foram avaliados os seguintes parâmetros: álcool (% v.v⁻¹), pH, acidez total (g.L⁻¹) e glicerol (g.L⁻¹), açúcares redutores (g.L⁻¹), ácido málico (g.L⁻¹), ácido láctico e acidez volátil (g.L⁻¹ de ácido acético). Para ambas avaliações utilizou-se o método da espectroscopia de infravermelho pela Transformada de Fourier (FTIR) com o uso do equipamento WineScan™ SO₂ (FOSS, Dinamarca) e do software FOSS integrator version 1.6.0 (FOSS, Dinamarca). O mosto foi coletado durante a prensagem da uva com auxílio de tubos falcon de 50 mL, o mesmo foi utilizado também para coletar amostras do vinho quando pronto.

2.4 Análises compostos voláteis

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

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

2.5. Análise sensorial

Todos os vinhos foram analisados por 17 avaliadores treinados. As amostras (50 ml) dos vinhos foram apresentadas em taças de vinho padrão (ISO 3591, 1997) sendo que foram avaliadas tanto as sensações olfativas como as gustativas, gerando termos sensoriais que

descreveram as sensações organolépticas percebidas. Finalmente, entre todas elas, sete atributos (aroma floral, aroma de frutas cítricas, aroma de frutas de polpa branca, intensidade aromática, qualidade olfativa, qualidade gustativa e impressão global) foram selecionados por consenso com a finalidade de descrever o aroma dos vinhos brancos. Posteriormente, os avaliadores usaram uma escala de 10 cm não estruturada para avaliar a intensidade de cada atributo, onde o extremo esquerdo da escala indica uma intensidade nula do descritor e, ao extremo direito, os valores máximos.

2.6. Tratamento estatístico dos dados

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e, na constatação de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelos testes de ANOVA e Tukey, a 5 % de significância, utilizando-se o software Sisvar 5.6.

3 Resultados e discussão

3.1. Características do mosto utilizado

A Tabela 2 apresenta os parâmetros referentes à qualidade do mosto utilizado no processo de vinificação. Com base nos resultados, podemos afirmar que quase todos os valores foram considerados normais para uva da variedade Riesling Itália cultivadas na região da Serra Gaúcha.

Tabela 2: Parâmetros físico-químicos do mosto utilizado no processo de vinificação.

Variáveis	Médias
Açúcares (g.L ⁻¹)	167,6
Sólidos solúveis totais (°Brix)	17,1
pH	3,5
Acidez total (meq.L ⁻¹)	81
Ácido tartárico (g.L ⁻¹)	5,1
Ácido málico (g.L ⁻¹)	4,0
Ácido glucônico (g.L ⁻¹)	1,4

Fonte: Próprio autor (2018).

O único parâmetro considerado um pouco acima dos valores ótimos foi do ácido glucônico. O ácido glucônico é um produto da oxidação da função aldeído da glicose e sua

presença em uvas e vinhos é diretamente relacionada com efeitos do fungo *Botrytis cinerea*, que por sua vez, é influenciado, dentre outros fatores, pelas condições climáticas, principalmente pelos altos índices de umidade (RIBÉREAU-GAYON et al, 2003). Apesar do teor de ácido glucônico encontrado neste trabalho ter sido superior a $1,0 \text{ g.L}^{-1}$, nenhuma interferência no processo de vinificação e na qualidade sensorial dos vinhos foi diagnosticada.

3.2. Efeito do tratamento com diferentes leveduras no rendimento da fermentação alcoólica dos vinhos

No Gráfico 1 são apresentados os rendimentos de fermentação alcoólica dos distintos tratamentos. Observou-se que o T3, inoculado com cepa *Saccharomyces bayanus*, foi o tratamento que obteve melhor desempenho, chegando à densidade ideal (abaixo de 1000 g.cm^{-3}) no decorrer de 6 a 7 dias, seguido dos tratamentos T1 (*Saccharomyces cerevisiae*) e T5 (*Metschnikowa pulcherrima*), após 7 a 8 dias, respectivamente. Os tratamentos T2 (*Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*) e T4 (*T. delbrueckii*), apresentaram desempenho mais lento (9 a 10 dias). Todavia, o comportamento inerente das respectivas leveduras, mesmo que tardio não impediu que as mesmas atingissem a graduação alcoólica desejada.

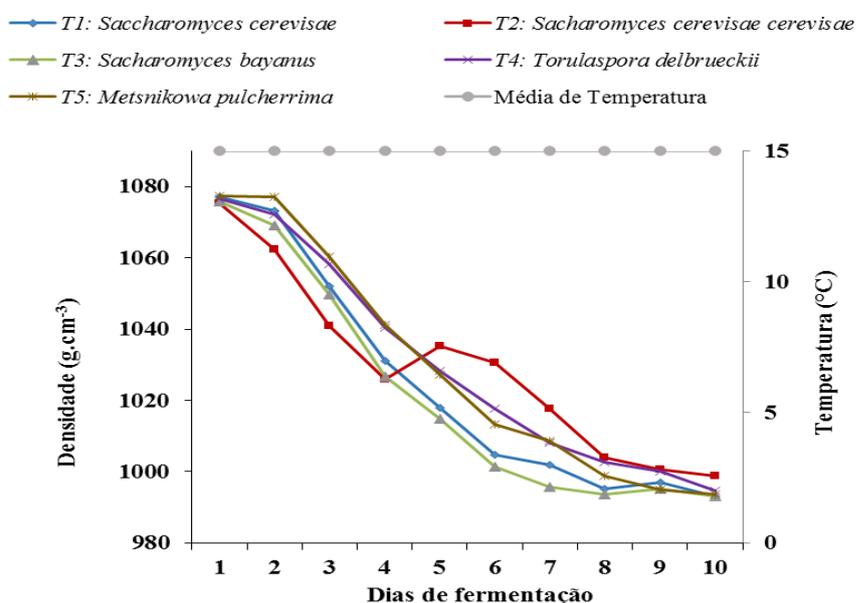


Figura 1: Acompanhamento da densidade durante a fermentação do mosto Riesling Itáliaico por diferentes leveduras.

O maior rendimento de fermentação para o T3 (*S. bayanus*) era esperado, visto que esta cepa de levedura tem como principal característica a rápida fermentação e boa tolerância

a maiores concentrações de álcool (MARTINHO, 2008). Outra levedura que obteve bom rendimento de fermentação foi a *Metschnikowa pulcherrima*. A literatura apresenta uma variabilidade de resultados sobre o rendimento de fermentações dessa levedura. Enquanto alguns autores encontraram bons resultados (LANÇA et al., 2017), outros sugerem que esta levedura possui uma cinética de fermentação baixa, além de baixa resistência ao anidrido sulfuroso (SO₂) e ao álcool (COMINITI et al., 2012; CHEN et al., 2018; CIANI et al., 2011).

Por outro lado, a levedura *T. delbrueckii* (T4), obteve um dos piores desempenhos, corroborando com os resultados encontrados em trabalhos anteriores, quando seu uso é indicado para fermentações simultâneas com cepas de leveduras *Saccharomyces* para obtenção de melhores rendimentos fermentativos (BELDA et al., 2015; BREDA et al., 2015).

3.3. Efeito da inoculação com diferentes leveduras nos parâmetros convencionais dos vinhos

Na Tabela 3 são apresentados os parâmetros físico-químicos, incluindo o teor alcoólico, dos vinhos produzidos com as distintas leveduras. O tratamento com a levedura *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae* (T2) apresentou o maior teor alcoólico. Convém salientar, que, embora exista diferença estatística significativa, a concentração de etanol produzido pela levedura *Metschnikowa pulcherrima* (T5) ficou muito próximo dos rendimentos obtidos pelas leveduras do gênero *Saccharomyces* (T1, T2, T3), que normalmente são empregadas para a produção de vinho, evidenciando que esta cepa de levedura possui potencial para ser empregada em sistema de monocultura para a produção de vinhos brancos. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por SADOUDI et al., (2012), porém, são diferentes dos reportados por COMITINI et al., (2011), ambos desenvolvidos em fermentações mistas com *Saccharomyces*. O teor alcoólico do vinho fermentado com *T. delbrueckii* (T4) foi o menor entre os tratamentos.

Vários autores argumentam sobre a utilidade desta levedura, não-*Saccharomyces*, na produção de menores concentrações de álcool nos vinhos, com reduções superiores a 1% no teor final de álcool (CONTRERAS et al., 2014; KUTYNA et al., 2010). Entretanto, no presente estudo, a redução dos níveis de etanol foi menor que 0,2 %, resultado semelhante ao encontrado por BREDA et al., (2015). De modo geral, observou-se que todos os tratamentos apresentaram resultados satisfatórios quanto a conversão de açúcar em etanol. A legislação brasileira estabelece para vinhos brancos finos de 8,6 a 14,5 % (v.v⁻¹) (Brasil, 2018), sendo

que todos os tratamentos enquadram-se nesta faixa. O álcool, além de estar relacionado diretamente com as qualidades organolépticas dos vinhos, possui ainda uma propriedade antisséptica que, juntamente com a acidez, pode prolongar a conservação e prevenir alterações indesejáveis nos vinhos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003).

Com relação aos teores de açúcares residuais, o T4 (*Torulaspora delbrueckii*) foi o que apresentou um maior valor. Este resultado pode estar relacionado com a menor produção de etanol por esta levedura, descrito anteriormente. Alguns autores relatam um menor poder fermentativo da *Torulaspora delbrueckii* em comparação com cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, principalmente nos estágios finais de fermentação, devido a alta demanda de nutrientes por parte destas leveduras (*Torulaspora delbrueckii*) (BELDA et al, 2015). Para melhorar o consumo de açúcar residual, essa levedura deveria ser inoculada em cultivos sequenciais com cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, todos os tratamentos estão de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira, que para os açúcares residuais, de vinhos brancos finos secos, é de no máximo, 4 g.L⁻¹ BRASIL (2018).

Tabela 3: Análise dos parâmetros convencionais nos vinhos provenientes dos distintos tratamentos com cepas de leveduras.

Análises	Tratamentos					CV (%)
	T1	T2	T3	T4	T5	
Álcool	10,63 ^b	10,69 ^a	10,54 ^c	10,49 ^d	10,61 ^b	0,35
Açúcar residual	1,02 ^{bc}	0,93 ^c	1,03 ^{bc}	3,50 ^a	1,11 ^b	7,93
Glicerol	6,01 ^c	5,09 ^d	6,34 ^a	6,24 ^b	5,99 ^c	1,23
pH	3,36 ^b	3,30 ^c	3,37 ^a	3,36 ^b	3,36 ^b	0,13
Ác. Málico	2,51 ^a	2,54 ^{ab}	2,57 ^a	2,38 ^c	2,57 ^a	1,56
Ác. Lático	0,10 ^b	0,01 ^c	0,12 ^b	0,34 ^a	0,10 ^b	30,23
Ac. Total	6,63 ^c	6,40 ^d	6,65 ^c	6,71 ^b	6,83 ^a	0,74
Ac. Volátil	0,40 ^c	0,10 ^d	0,40 ^c	0,42 ^b	0,50 ^a	4,86

Fonte: Próprio autor (2018). *Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa pelo Teste de Tukey a 5%. Álcool (% v.v⁻¹); Açúcar residual (g.L⁻¹), Glicerol (g.L⁻¹), Ácido málico (g.L⁻¹), Acidez total (g.L⁻¹ HA), Acidez volátil (g.L⁻¹HA). T1: *Saccharomyces cerevisiae*; T2: *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*; T3: *Saccharomyces bayanus*; T4: *Torulaspora delbrueckii*; T5: *Metschnikowia pulcherrima*.

A produção de glicerol é afetada pela concentração de açúcar, temperatura de fermentação, pH, linhagem de levedura e quantidade de oxigênio presente (MANFROI,

2006). O Tratamento com *S. bayanus* (T3) promoveu uma via altamente ativa de fermentação gliceropirúvica, evidenciado pelo maior teor de glicerol entre os tratamentos. Conforme a literatura, várias espécies de leveduras *Saccharomyces* podem produzir de 2 a 10 g.L⁻¹ de glicerol. Espécies criotolerantes como *S. bayanus* (*S. uvarum*) são as que produzem glicerol acima da média (MARTINHO, 2008). *Torulaspota delbrueckii* (T4) foi a cepa que promoveu o segundo maior teor de glicerol entre os tratamentos estudados, sendo que resultados semelhantes foram encontrados por COMITINI et al., (2011). O tratamento T2, que empregou a levedura *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*, apresentou a menor concentração de glicerol (5,1 g.L⁻¹). Acredita-se que, esta menor produção de glicerol no T2, tenha sido provocada por uma possível injúria da levedura, ocorrida no 5º dia de fermentação (Gráfico 1).

Conforme SWIEGERS et al., (2005), o glicerol está presente em vinhos secos e semi-doces em concentrações que variam de 5 a 14 g.L⁻¹. Embora a concentração de glicerol não tenha impacto direto nas características aromáticas do vinho, pode ter um efeito notável na doçura e sensação na boca, chamado “corpo do vinho” (SWIEGERS et al., 2005).

Os valores de pH encontrados em todos os tratamentos deste estudo manteve-se dentro da faixa considerada ótima para a produção de vinhos brancos de qualidade (3,0 – 3,8).

O conhecimento do pH nos vinhos é de extrema relevância, pois pode influenciar a estabilidade físico-química do vinho e a sua resistência a contaminações microbianas. O vinho torna-se mais suscetível a ataques quando o pH está acima de 3,5, exigindo o controle microbiológico do mesmo, pois a microbiota se desenvolve facilmente no meio (RIBÉREAU-GAYON, et al., 2003; DELANÖE et al., 2003).

A acidez total é um parâmetro fundamental para a qualidade do vinho. Na sua determinação são quantificados todos os tipos de ácidos presentes. O perfil de ácidos é decorrente da própria uva e também pode ser formado no decorrer da fermentação, em função das leveduras utilizadas e da maturação do vinho (COMINITI et al., 2011). Neste estudo, as maiores concentrações de acidez total foram encontradas nos tratamentos utilizando leveduras não-*Saccharomyces*. As maiores concentrações estão relacionadas à levedura *Metschnikowa pulcherrima* (T5) e a *Torulaspota delbrueckii* (T4), respectivamente. Estes resultados vão de encontro aos reportados por alguns autores. (COMINITI et al., 2011), apontam uma diminuição dos níveis de acidez total e do pH quando da utilização concomitante de leveduras do tipo *Metschnikowa pulcherrima* e *Saccharomyces cerevisiae* (BELDA et al., 2015), foi encontrada uma menor acidez total nos vinhos inoculados com leveduras do tipo *Torulaspota delbrueckii* em comparação com os vinhos fermentados com leveduras do gênero

Saccharomyces. Este efeito sobre a acidez total nos vinhos brancos pode ser tanto positivo quanto negativo, dependendo do tipo de produto que vai ser elaborado. Geralmente, maiores níveis de acidez são benéficas para os vinhos brancos secos, pois além de interferirem na cor e no aroma, conferem resistência aos processos de oxidação (RIZZON, 2011). Apesar das variações entre os tratamentos, todos os vinhos apresentaram teores de acidez total dentro dos padrões (máximo de 9,75 g.L⁻¹ de ácido tartárico) indicados para vinhos finos na legislação brasileira (BRASIL, 2018).

Os maiores níveis de acidez total no tratamento com *Metschnikowa pulcherrima* (T5) podem ser relacionados aos maiores teores de ácido málico encontrados nestes tratamentos (Tabela 2). No entanto, essa condição não é válida para o tratamento inoculado com *Torulaspota delbrueckii* (T4), que apesar de ter uma maior acidez, foi o tratamento que apresentou o maior consumo de ácido málico. Consumos maiores de ácido málico por parte desta levedura, em comparação aos gêneros *Saccharomyces*, também foram reportados por (PUERTAS et al., 2018; BELDA et al., 2015). Contudo, este consumo foi muito pequeno, pois as concentrações de ácido láctico mostram ausência da fermentação malolática, o que confirma que não houve contaminação por parte de bactérias do ácido láctico em nenhum dos tratamentos estudados.

As concentrações de acidez volátil nos vinhos foram similares para a maioria das leveduras utilizadas (0,4 a 0,5 g.L⁻¹). Apenas a cepa *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae* (T2), produziu níveis mais baixos (0,10 g.L⁻¹). A produção elevada de ácido acético por parte das leveduras do gênero não-*Saccharomyces* tem sido reportado como um dos entraves para a utilização destas cepas na fermentação alcoólica dos vinhos (BELDA et al., 2015). No entanto, estudos mais recentes, utilizando estas leveduras, demonstram produção de acidez volátil igual ou menor que as do gênero *Saccharomyces* (BELY et al., 2008; GOBBI et al., 2013; AZZOLINNI et al., 2015). O presente trabalho corrobora com estes resultados, onde as leveduras *Torulaspota delbrueckii* e *Metschnikowa pulcherrima* produziram níveis de acidez volátil parecidos com as leveduras do gênero *Saccharomyces*. Estes níveis provavelmente não afetam a qualidade sensorial dos vinhos e estão muito abaixo dos limites máximos permitidos por lei (Brasil, 2018).

3.4. Efeito dos tratamentos com diferentes leveduras na composição volátil dos vinhos

A tipologia aromática de um vinho é um dos principais fatores que determinam sua natureza e qualidade, além de influenciar particularmente em suas características

organolépticas e, portanto, desempenham um papel importante na preferência do consumidor (JIANG et al., 2013). O aroma do vinho apresenta um padrão químico extremamente complexo, tanto em termos quantitativos como qualitativos, já que uma grande quantidade de compostos voláteis tem sido identificados em suas diferentes famílias químicas, com uma ampla variação de concentrações, que vão desde certos mg.L^{-1} até alguns $\mu\text{g.L}^{-1}$. (XI et al., 2011).

Um total de 12 compostos aromáticos de diferentes famílias químicas (alcoóis C6, compostos benzênicos, ésteres e ácidos) foram encontrados nos vinhos analisados. A Tabela 4 mostra as concentrações dos compostos identificados e as diferenças estatísticas encontradas nos vinhos fermentados com diferentes tipos de leveduras, segundo o teste de Tukey a 5% de significância.

O composto volátil quantitativamente mais importante identificado nas amostras de vinhos foi o 2-feniletanol. As maiores concentrações deste composto foram encontradas nos tratamentos T1, *Saccharomyces cerevisiae*, e T2, *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*, sendo que as menores no Tratamento T3, *Saccharomyces bayanus* (Tabela 4). Já os gêneros não- *Saccharomyces* produziram quantidades intermediárias deste composto, sendo que o tratamento T5 *Metschnikowa pulcherrima*, produziu mais que o tratamento T4 *Torulaspora delbrueckii*, embora não existam diferenças significativas entre eles. Este composto é formado principalmente pelo metabolismo das leveduras durante a fermentação alcoólica e aporta aos vinhos aromas de rosas e mel (KATARINA et al., 2014). Possui um limiar de percepção olfativa de $10.000 \mu\text{g.L}^{-1}$, valores que são superados em todas as amostras de vinho analisadas.

Os ésteres são considerados como importantes contribuintes ao aroma dos vinhos devido a sua ocorrência como um dos principais grupos de compostos voláteis e devido o fato de apresentarem aromas frutados, similares aos que frequentemente se utilizam para descrever os vinhos (ETIEVANT, 1991). São classificados em ésteres acéticos e ésteres etílicos, de acordo com suas rotas de formação. Os primeiros são produzidos a partir da reação da Acetil-CoA com alcoóis superiores que se formam a partir da degradação de aminoácidos ou carboidratos. Os segundos são produzidos enzimaticamente pelas leveduras durante a fermentação e pela autólise da Acetil-CoA que se forma durante a síntese ou degradação dos ácidos graxos (PERESTRELO et al., 2006).

O éster mais abundante encontrado nos vinhos analisados foi o octanoato de etila, sendo que foram identificadas diferenças significativas entre as amostras (Tabela 4). Os

vinhos fermentados por leveduras do gênero *Sacharomyces* (T1, T2 e T3) apresentam maiores concentrações do que os que inoculados com leveduras do gênero não-*Sacharomyces*, *T. delbrueckii* (T4) e *M. pulcherrima* (T5). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por SADOUDI et al., (2012), que indicam uma menor concentração deste composto quando os vinhos são fermentados por cepas de leveduras não-*Sacharomyces*. Além disso, todos os tratamentos produziram concentrações muito acima do limiar de percepção olfativa deste composto, que é de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (KATARINA et al., 2014). Estas altas concentrações podem ser benéficas para a qualidade aromática dos vinhos, tendo em vista que os seus descritores aromáticos são de abacaxi, pêra e adocicado, considerados aromas agradáveis ao olfato (ARCARI et al., 2017; JIANG, ZHENG, 2010).

O segundo éster quantitativamente mais importante nos vinhos analisados foi o acetato de 2-feniletila, sendo que as maiores concentrações foram encontradas no tratamento *Saccharomyces cerevisiae* (T1) e no tratamento *Torulaspota delbrueckii* (T4), (258,00 e 243,00 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente). Resultados semelhantes são reportados por (SADOUDI et al., 2012), que indicam que a *Torulaspota delbrueckii* tem capacidade muito semelhante a *Saccharomyces cerevisiae* para produção deste composto, sendo que a cepa de levedura *M. pulcherrima*, produz quantidades significativamente menores. O acetato de 2-feniletila contribui ao aroma dos vinhos com notas florais, de rosas e mel e seu limiar de percepção olfativa é de 250,00 $\mu\text{g.L}^{-1}$, valor somente superado pelo tratamento T1.

Já o acetato de isoamila é um dos mais importantes ésteres encontrados nos vinhos principalmente pelo seu agradável impacto nas propriedades organolépticas. Suas características olfativas remetem a aromas de banana (ARACI et al., 2017, JIANG & ZHENG, 2010) e pêra (KATARINA et al., 2014), sendo sua origem a esterificação dos alcoóis isoamílicos. Neste estudo, o tratamento com *Sacharomyces cerevisiae* (T1) apresentou a maior concentração (26,00 $\mu\text{g.L}^{-1}$), novamente seguido pelo tratamento T4, *Torulaspota delbrueckii*, com (18,00 $\mu\text{g.L}^{-1}$), sendo que o tratamento com *Metschnikowa pulcherrima* (T5) um dos que apresentou menores concentrações. Estes resultados também estão de acordo com os reportados por SADOUDI et al., (2012). Segundo KATARINA et al., (2014) o limite de percepção para este composto é de 30,00 $\mu\text{g/L}$, sendo que nenhum dos vinhos analisados apresentou concentrações que atingissem este limite.

Outros ésteres como o acetato de hexila e o decanoato de isoamila não apresentaram diferenças significativas entre as concentrações dos vinhos analisados. Além disso, nenhuma das amostras superou o umbral de percepção olfativa destes compostos que é de 670,00 $\mu\text{g.L}^{-1}$

para o acetato de hexila e $200,00 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o decanoato de etila. O mesmo ocorre com o composto dietil succinato, que embora tenha havido diferenças significativas entre as amostras, o umbral de percepção olfativa deste composto é relativamente elevado, cerca de $500.000 \mu\text{g.L}^{-1}$, sendo que, provavelmente, estes compostos não interferem nas características organolépticas dos vinhos.

O hexanol é um composto da família dos alcoóis C_6 e é formado nos vinhos a partir de seus precursores, ácido linoleico e ácido linolênico, pela ação das lipoxigenases e álcool desidrogenase, seja durante o período de maturação das uvas, ou durante os processos prévios a fermentação alcoólica (KALUA, BOSS, 2009; DENNIS et al., 2012). Portanto, nenhuma interferência dos processos fermentativos na formação destes compostos foi identificada nos vinhos analisados, pois ambos os tratamentos não apresentam diferenças estatisticamente significativas nas suas concentrações (Tabela 4). No entanto, este composto aporta os vinhos aromas descritos como verde e herbáceo, que afetam negativamente a qualidade dos mesmos, desde que seu limiar de percepção olfativa seja superado. Todas as concentrações deste composto quantificadas nos vinhos analisados estão muito abaixo do seu limiar de percepção olfativa ($8.000 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Em relação aos ácidos, estes podem conferir frescor aos vinhos, contribuindo positivamente para sua qualidade e impressão global. No entanto, existe uma série de ácidos orgânicos voláteis que aparecem durante o processo de vinificação e que normalmente contribuem de forma negativa ao vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Neste estudo, foram detectados os ácidos isobutírico, decanóico e dodecanóico. No entanto, somente o ácido decanóico foi detectado em concentrações que ultrapassam seu limiar de percepção olfativa, sendo que os tratamentos com leveduras do gênero *Sacharomyces* os que maiores concentrações apresentam (Tabela 4). Este composto possui descritores aromáticos que remetem a notas de ranço e animal (ARCARI et al 2017), que frequentemente estão envolvidas em defeitos dos vinhos.

Tabela 4: Concentração de compostos aromáticos ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)* encontrados nos vinhos fermentados com os diferentes tipos de leveduras.

Compostos	T1	T2	T3	T4	T5	LO^{ss}	Descriptor aromático
2-Fenietanol	44.120,00 ^a	41.031,0 ^{ab}	31.905,00 ^c	33.450,00 ^c	36.395,0 ^{bc}	10.000	Rosa (1); (2) Mel (2)
Acetato de isoamila	26,00 ^a	17,0 ^{ab}	11,00 ^b	18,0 ^{ab}	12,00 ^b	30	Banana (3); Pera (1)
Acetato de hexila	62,00 ^a	59,00 ^a	58,00 ^a	58,00 ^a	58,00 ^a	670	Pera (1); Maçã (2)
Acetato de fenil etila	258,00 ^a	123,00 ^b	135,00 ^b	243,00 ^a	136,00 ^b	250	Rosas; Floral (1) Mel (2)
Octanoato de etila	1.043,00 ^a	1.071,00 ^a	1.066,00 ^a	809,00 ^b	748,00 ^b	2	Abacaxi (3); Pera (1)
Decanoato de etila	84,00 ^a	78,00 ^a	78,00 ^a	84,00 ^a	74,00 ^a	200	Uva (2); Floral (1)
Dodecanoato de etila	71,22 ^c	71,55 ^c	72,0 ^{bc}	74,00 ^a	76,00 ^a	350	Floral (1) creme doce(5)
Dietil succinato	1.105,00 ^b	1.286,00 ^a	596,00 ^d	558,00 ^d	823,00 ^c	500.000	Lavanda; Melão(4); Frutado (1)
Hexanol	6,00 ^a	5,00 ^a	1,00 ^a	6,00 ^a	5,00 ^a	8.000	Gramma (1); Herbáceo (4)
Ácido isobutírico	248,0 ^{ab}	178,00 ^b	210,0 ^{ab}	313,00 ^a	193,0 ^{ab}	200.000	Queijo (2)
Ácido decanóico	1.210,00 ^b	1.100,00 ^b	1.685,00 ^a	760,00 ^d	926,00 ^c	1.000	Ranço, animal (2)
Ácido dodecanóico	103,00 ^a	102,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a	1.000	Metal (5)

Fonte: Próprio autor (2018). *Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa pelo Teste de Tukey a 5 %. T1: *Saccharomyces cerevisiae*; T2: *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*; T3: *Saccharomyces bayanus*; T4: *Torulaspora delbrueckii*; T5: *Metschnikowa pulcherrima*. ^{ss}Limiar de percepção olfativa ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

(1) Katarína et al, 2014, (2) Arcari et al, 2017, (3) Jiang e Zheng,2010, (4) Lukic et al,2016, (5) Welke et al,2014(5)

3.5. Análise sensorial descritiva

Na Figura 2 estão demonstrados, em forma de gráfico teia de aranha, os resultados obtidos na análise sensorial descritiva quantitativa dos vinhos analisados. Em geral, todos os descritores sensoriais foram valorados com pontuações médias, sendo que não diferem muito entre um tratamento e outro.

O perfil aromático do tratamento T1 *Saccharomyces cerevisiae* foi o que teve melhor avaliação na intensidade de aroma e qualidade olfativa, bem como nos atributos florais, de frutas cítricas e de frutas de polpa branca. Estes resultados podem ser associados às maiores concentração de alguns compostos voláteis responsáveis por estes aromas, como é o caso do 2-feniletanol, do acetato de fenietila, e do octanoato de etila, encontrados em maiores quantidades neste tratamento (Tabela 4). Esta complexidade aromática também parece inibir a percepção de aromas defeituosos, como o caso das notas de ranço, particularmente atribuídas a uma maior concentração de ácido decanóico, encontrados neste tratamento e que não foram perceptíveis na análise sensorial, vide a uma maior qualidade olfativa (Figura 2).

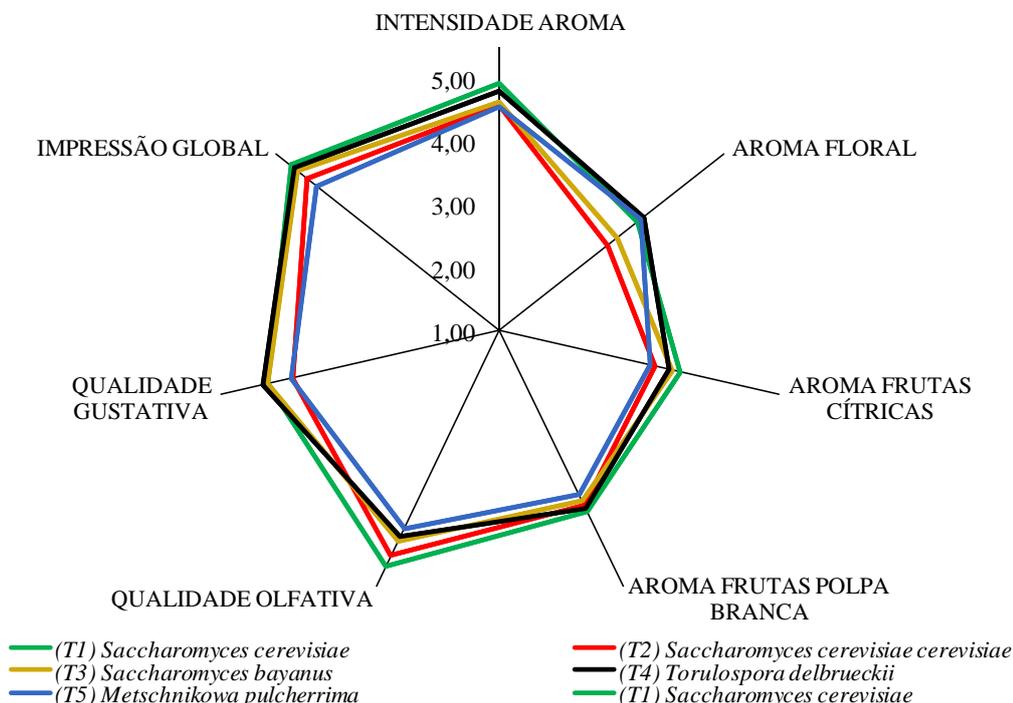


Figura 2: Representação gráfica da análise sensorial dos vinhos dos distintos tratamentos

Entre os vinhos tratados com leveduras não-*Saccharomyces*, o tratamento T4, *Torulaspota delbrueckii*, foi o que teve as melhores notas na avaliação sensorial, sendo muito parecido com o tratamento T1, descrito anteriormente. Os avaliadores indicaram uma boa intensidade de aroma, com notas de frutas de polpa branca e aromas florais, além de uma boa qualidade gustativa e ótima impressão global. Por outro lado, o tratamento T5, *Metschnikowa pulcherrima* foi o que teve o pior desempenho entre todos os vinhos, com baixa intensidade de aroma, representada por uma baixa sensação de descritores como frutas de polpa branca e frutas cítricas, além de baixa qualidade olfativa e baixa impressão global.

4 CONCLUSÕES

As leveduras do gênero não-*Saccharomyces* apresentam potencial para produção de vinhos brancos secos da variedade Riesling Itálico com qualidade semelhante aos produzidos por leveduras do tipo *Saccharomyces*, pois demonstram bons rendimentos de fermentação, produção satisfatória de álcool e glicerol, além de baixa produção de acidez volátil. Além disso, a análise de compostos voláteis mostrou que estas leveduras tem potencial de produção de aromas que contribuem para a qualidade organoléptica dos vinhos, bem como de não produzirem compostos que afetam negativamente a qualidade dos mesmos. No entanto, estudos mais detalhados, com alternância do uso das leveduras, sequenciais e concomitantes, devem ser testados.

O uso de diferentes leveduras contribuem para uma boa complexidade aromática, tanto leveduras *Sacharomyces* como não-*Saccharomyces*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSANDRO GENOVESE, LUIGI MOIO, RAFFAELE SACCHI, PAOLA PIOMBINO
Sip volume affects oral release of wine volatiles Food Research International 77 ,426–431(2015)

A.CONTRERAS, C. HIDALGO, P.A. HENSCHKE, P.J. CHAMBERS, C. CURTIN, C.VARELA, **Applied and Environmental Microbiology**. 5 1670–1678 (2014)

A. LANÇA, M. SILVA. **METABOLISM OF NON-CONVENTIONAL WINE YEASTS**. (2017) Dissertação de Mestrado, Universidade de Lisboa

AZZOLINI, M., TOSI, E., LORENZINI, M., FINATO, F., ZAPPAROLI, G., 2015. **Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspora delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae***. World J. Microbiol. Biotechnolgy. 31, 277–293

AEB, https://www.sud-et-bio.com/.../levulia%20pulcherrima_TS_FR_0240615-OENOLIA-France-0.pdf> Acesso em: 20/02/2018

BELY M., STOECKLE P., MASNEUF-POMARÈDE I., DUBOURDIEU D. (2008). **Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation**. Int. J. Food Microbiol.122, 312–320.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 14, de 08 de fevereiro de 2018. Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho e Derivados da Uva e do Vinho**, <http://www.agricultura.gov.br/...padroes...vinho-uva...derivados/INMAPA142018PIQVinho..> > Acesso em: 30/08/2018.

C. VARELA, F. SENGLER, M. SOLOMON, **Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*** Food Chem. 209 57–64 (2016)

D. DELANÖE, C. MAILLARD, D. MAISONDIEU. **El vino – del análisis a la elaboración.** Editora ACRIBIA, S. A. P. **13** 233 (2003).

DOMIZIO, P.; ROMANI, C.; COMITINI, F.; GOBBI, M.; LENCIONI, L.; MANNAZZU, I.; CIANI, M. **Potential spoilage non-Saccharomyces yeasts in mixed cultures with *Saccharomyces cerevisiae*.** Annals of Microbiology, Short communication, DOI 10.1007/s13213-010-0125-1, 2010.

DOS SANTOS, M.M., GOMBERT, A.K., CHRISTENSEN, B., OLSSON, L., NIELSEN, J., 2003. **Identification of in vivo enzyme activities in the cometabolism of glucose and acetate by *Saccharomyces cerevisiae* by using ¹³C-labeled substrates.** Eukaryotic Cell 2 (3), 599e608

DENNIS, E. G., KEYZERS. R.A., KALUA, C. M., MAFFEI, S. M., NICHOLSON, E. L., BOSS, P. K. (2012). **Grape contribution to wine aroma: production of hexyl acetate, acetyl acetate, and benzyl acetate during yeast fermentation is dependent upon precursors in the must.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 2638-2646.

ETIÉVANT, P. X. (1991). **Volatile compounds of food and beverages.** In H. Maarse (Ed.), Wine (pp. 483–546). New York: Marcel Dekker

D.R. KUTYNA, C. VARELA, P. HENSCHKE, P. CHAMBERS, G. STANLEY, *Trends food Sci. Technol.* **21** 293-302 (2010)

EGLI, C.M., EDIGER, W.D., MITRAKUL, C.M., HENICK-KLING, T., 1998. **Dynamics of indigenous and inoculated yeast populations and their effect on the sensory character of Riesling and chardonnay wines.** J. Appl. Microbiol. 85, 779e789

F. COMITINI, M. GOBBI, P. DOMIZIO, C. ROMANI, L. LENCIONI, I. MANNAZZU, M. CIANI, **Selected non-Saccharomyces wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*** Food Microbiol. **28** 873-882 (2011)

FLEET, G. H. **Yeast interactions and wine flavour.** International Journal of Food

Microbiology, n. 86, p. 11-22, 2003

FURDÍKOVA KATARÍNA, MAKYSOVA KATARÍNA, DUR CANSKA KATARÍNA, SPANIK IVAN, MALÍK FEDOR. **Influence of yeast strain on aromatic profile of Gewürztraminer wine** Food Science and Technology 59 256e262 (2014)

GOBBI, M. et al, *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: a strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. Food Microbiology. v.33, p.271–281, 2013.

H.CSOMA, N. ZAKANY, A. CAPECE, P. ROMANO, M. SIPICZKI, INT. j. Food Microbiol. 140, 239-248 (2010)

HENICK-KLING, T., EDINGER, W., DANIEL, P. AND MONK, P. (1998) **Selective effects of sulfur dioxide and yeast starter culture addition on indigenous yeast populations** **8 Journal of Applied Microbiology** © 2014 The Society for Applied Microbiology The antagonistic behaviour of *M. pulcherrima* L. Oro et al, . and sensory characteristics of wine. J Appl Microbiol 84, 865–876.

HONG, Y.A., PARK, H.D. **Role of non-Saccharomyces yeasts in Korean wines produced from Campbell Early grapes: potential use of Hanseniaspora uvarum as a starter culture.** Food Microbiol. 34 (1), 207-214, 2013

I. BELDA, E. NAVASCUÉS, D. MARQUINA, A. SANTOS, F. CALDERON, S. BENITO, Appl Microbiol Biotechnol. **99** 1911-1922 (2015)

IGOR LUKIC´, SANJA RADEKA , NIKOLA GROZAJ , MARIO STAVER , ĐORDANO PERŠURIC´ **Changes in physico-chemical and volatile aroma compound composition of Gewürztraminer wine as a result of late and ice harvest** Food Chemistry 196 (2016) 1048–1057.

ILIEVA, F. et al. **The impact of some wine-making practices on the quality of Vranec red wines from Macedonia produced by the newly-selected local strain “F-78”.** Food Chemistry, v.194, p.1123-1131, 2015.

J. SWIEGERS, E. BARTOWSKY, P. HENSCHKE, I. PRETORIUS, *AUST J. Grape Wine Res.* 11, 139–173 (2005)

J. SWIEGERS, I. PRETORIUS, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74, 954–960 (2007)

JIANG, B., & ZHANG, Z. (2010). **Volatile compounds of young wines from Cabernet Sauvignon, Cabernet Gernischet and Chardonnay varieties grown in the Loess Plateau Region of China.** *Molecules*, 15, 9184e9196.

JIANG, B., XI, Z., LUO, M., Z., Z. (2013). **Comparison on aroma compounds in Cabernet Sauvignon and Merlot wines from four wine grape-growing regions in China.** *Food Research International*, 51, 482-489.

JIMÉNEZ-MARTÍ, E., GOMAR-ALBA, M., PALACIOS, A., ORTIZ-JULIEN, A., DEL OLMO, M.L. (2011). **Towards an understanding of the adaptation of wine yeasts to must: relevance of the osmotic stress response.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89 (5), 1551-1561.

JOLLY, N. P.; AUGUSTYN, O. P. H.; PRETORIUS, I. S. **The use of *Candida pulcherrima* in combination with *Saccharomyces cerevisiae* for the production of Chenin blanc wine.** *South African Society for Enology & Viticulture*, v.24, p.63-69, 2003.

JULIANE ELISAWELKE , MAURO ZANUS , MARCELO LAZZAROTTO , CLÁUDIA ALCARAZ ZINI **Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine** *Food Research International* 59 (2014) 85–99

KALUA, C. M., BOSS, P. K. (2009). **Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3818-3830.

K. CHEN, C. ESCOTT, I. LOIRA, J. MANUEL, A. MORATA, W. TESFAYE, F. CALDERON, J. ANTONIO, S. HAN, S. BENITO, *Food Microbiol.* **69** 51-63 (2018)

L. A. RIZZON, A. MIELE, G. SCOPEL, R. Bras. Agrobiologia. **17** 273-276 (2011)

LEMA, C., GARCIA-JARES, C., ORRIOLS, I., ANGULO, L., 1996. **Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some compounds of Albarino wine aroma.** *Am. J. Enol. Vitic.* **47**, 206 e 216.

LOIRA, I., MORATA, A., COMUZZO, P., CALLEJO, M. J., GONZÁLEZ, C., CALDERÓN, F., SUÁREZ-LEPE, J. A. (2015). **Use of *Schizosaccharomyces pombe* and *Torulaspora delbrueckii* strains in mixed and sequential fermentations to improve red wine sensory quality.** *Food Research International*, **76**, 325–333.

M. MARTINHO. *Vinificações comparativas de vinhos tintos em Lagar, efeito de inoculação de leveduras e enzimas pectolíticas.* (2008). 131f. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia). Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal

M. SADOUDI, R. TOURDOT-MARÉCHAL, S. ROUSSEAU, D. STEYER, J.J. GALLARDO-CHACÓN, J. BALLESTER, S. VICHI, R. GUÉRIN-SCHNEIDER, J. CAIXACH, H. ALEXANDRE, *Food Microbiology*. **32** 243-253, 2012.

MEDINA, K. et, al. **Growth of non-*Saccharomyces* yeasts affects nutrient availability for *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation.** *International Journal of Food Microbiology*, v. **157**(2), p.245-250, 2012.

MEDINA, K.; BOIDO, E.; FARIÑA, L.; GIOIA, O.; GOMEZ, M. E.; BARQUET, M.; GAGGERO, C.; DELLACASSA, E.; CARRAU, F. **Increased flavour diversity of Chardonnay wines by spontaneous fermentation and co-fermentation with *Hanseniaspora vineae*.** *Food Chemistry*. v.141, n. 3, p. 2513 - 2521, 2013.

N. PIRASTU, M. KOOYMAN, M. TRAGLIA, A. ROBINO, S. WILLEMS, G. PISTIS, N. AMIN, C. SALA, L. KARSSSEN, C. DUIJN, D. TONIOLO, P. GASPARINI, *Eur. J. Hum.*

Genet. 23 1717-1722, 2015.

P. RIBÉREAU-GAYON, Y. GLORIES, A. MAUJEAN, D. DUBOURDIEU. **Tratado de Enología – Quím del Vino Estab y Tratam.** 2 554 (2003)

PERESTRELO, R., FERNANDES, A., ALBUQUERQUE, F. F., MARQUES, J. C., & CÂMARA, J. S. (2006). **Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine:** Identification of the main odorants compounds. *Analytica Chimica Acta*, 563, 154–164

RAMÍREZ, M., VELÁZQUEZ, R., MAQUEDA, M., ZAMORA, E., LÓPEZ-PIÑEIRO, A., HERNÁNDEZ, L.M. **Influence of new *Torulaspora delbrueckii* killer Kbarr yeasts on the malolactic fermentation and aroma compounds of red table wine.** *Int. J. Food Microbiol.* 238, 311–319, 2016.

RENAULT, P., COULON, J., DE REVEL, G., BARBE, J.-C., BELY, M. **Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii* /*S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement.** *Int. J. Food Microbiol.* 207, 40–48, 2015.

RODRÍGUEZ, M.E., LOPES, C.A., BARBAGELATA, R.J., BARDA, N.B., CABALLERO, A.C. **Influence 460 of *Candida pulcherrima* Patagonian strain on alcoholic fermentation behaviour and wine 461 aroma.** *International Journal of Food Microbiology.* 138, 19–25, 2010.

ROJAS, V., GIL, J.V., PINAGA, F. AND MANZANARES, P. **Studies on acetate ester production by non-*Saccharomyces* wine yeasts.** *International Journal of Food Microbiology.* 70, 283–289, 2001.

STEFANY GRUTZMANN ARCARI, VINICIUS CALIARI ,MARLA SGANZERL HELENA TEIXEIRA GODOY **Volatile composition of Merlot red wine and its contribution to the aroma: optimization and validation of analytical method** *Talanta* 174, 752–766, 2017

XI, Z., TAO, Y., ZHANG, L., LI, H. **Impact of cover crops in vineyard on the aroma compounds of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon wine.** Food Chemistry, 127, 516-522, 2011

V. BREDA, N. JOLLY, J. WYK, Int J Food Microbiol. 163, (2013).

WEBBER, V., DUTRA, V.S., SPINELLI, F.R., MARCON, A.R., CARNIELI, G.J. & VANDERLINDE, R. (2014) **Effect of glutathione addition in splarkling wine.** Food Chemistry, 159: 391 - 398.

ZOHRE, D. E.; ERTEN, H. **The influence of *Kloeckera apiculata* and *Candida pulcherrima* easts on wine fermentation.** Process Biochemistry, v.38, p.319-324, 2002.