

R  
252  
Ex: 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ANÁLISES  
FÍSICO-QUÍMICAS DO VINHO

MARCELO MANTOVANI



0.283.610-1

BU

R 252

N.Cham. R 252

Autor: Mantovani, Marcelo

Título: Composição química e análises fi



2836101

Ac. 183006

Ex.1 BSCCA

Ex.1 UFSC BSCCA

ção de 2002.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ANÁLISES  
FÍSICO-QUÍMICAS DO VINHO**

**MARCELO MANTOVANI**

Trabalho apresentado ao Curso de  
Agronomia, da Universidade Federal  
de Santa Catarina, como requisito  
parcial à obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Aparecido L. da Silva  
Supervisor: Dr. Luiz Antenor Rizzon

Florianópolis, março de 2002.

## IDENTIFICAÇÃO

### 1 – Identificação do estagiário:

Acadêmico: Marcelo Mantovani  
Curso: Agronomia/Universidade Federal de Santa Catarina  
Matricula: 9718626-0

### 2 – Identificação do Orientador:

Prof. Dr. Aparecido Lima da Silva  
Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Catarina

### 3 – Identificação do Supervisor

Eng. Agrônomo Dr. Luiz Antenor Rizzon  
Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - EMBRAPA

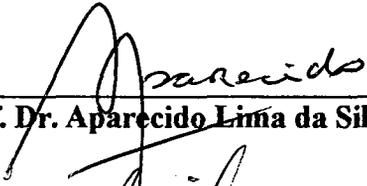
### 4 – Local de Realização do Estágio

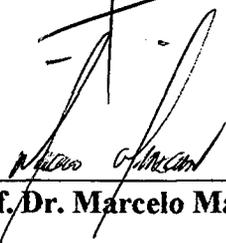
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA  
Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - CNPUV

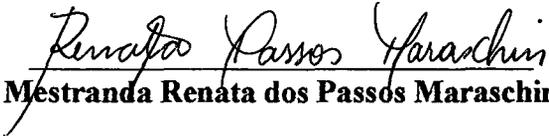
### 5 – Período de Estágio

20/01 a 21/02/2001.

### 6 – Comissão Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Aparecido Lima da Silva**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Marcelo Maraschin**

  
\_\_\_\_\_  
**Mestranda Renata dos Passos Maraschin**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pelo dom da vida, da felicidade e do amor.

Ao meu pai, João Mantovani e a minha mãe, Celestina Mantovani e aos meus demais familiares, por todo o esforço, companheirismo e o fundamental apoio durante esses anos.

Ao meu orientador, Prof. Aparecido Lima da Silva, pelo apoio e empenho durante o estágio.

Ao Prof. Marcelo Maraschin e a mestranda Renata dos Passos Maraschin, pela avaliação feita e pela amizade durante os anos de convivência.

Aos funcionários da EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, CNPUV - Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho, em especial ao Eng. Agr. Dr. Luiz Antenor Rizzon, e ao Dr. Alberto Miele, pela supervisão, amizade, ensinamentos e experiência passada. As técnicas de laboratório, Nilda Maria Gatto, Magda Beatris Gatto Salvador e Vânia Ambrosi Sganzerla, pelos ensinamentos, experiência e amizade.

A todos colegas e amigos por sua amizade incondicional.

Aos professores Maurício Sedrez dos Reis e Rubens Onofre Nodari pelo apoio e amizade nos momentos de decisão profissional.

A Aline, pela companhia e apoio nos momentos de engrandecimento pessoal.

E aos deuses Bacco e Dionísio pela alegria de nos oferecer esse líquido precioso. E, principalmente que este nunca falte.

Que sirva não apenas como bebida, mas como alimento e enriqueça o espírito, também agindo como fator cultural, humanizando e enriquecendo a vida, distinguindo o homem comum do homem realmente civilizado.

## ÍNDICE

<b>IDENTIFICAÇÃO.....</b>	<b>III</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>I - APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>II - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>III - CAPÍTULO 1: Composição Química do Vinho.....</b>	<b>3</b>
<b>1.- COMPOSTOS VOLÁTEIS DO VINHO.....</b>	<b>3</b>
1.1.- Compostos voláteis e aromáticos dos vinhos.....	3
1.2.- Características do aroma e do "bouquet".....	4
1.3.- ÁGUA.....	4
1.4.- ÁLCOOIS.....	5
1.4.1.- Etanol - (Álcool etílico).....	5
1.4.2.- Metanol - (Álcool metílico ou carbinol).....	5
1.5.- ÁLCOOIS SUPERIORES.....	6
1.5.1. Principais álcoois encontrados.....	9
1.5.1.1 - 1-Propanol.....	10
1.5.1.2.- 2-metil 1-propanol - (Álcool isobutílico).....	10
1.5.1.3. - 2-metil 1-butanol - (Álcool amílico ativo).....	10
1.5.1.4. - 3-metil 1-butanol - (Álcool isoamílico).....	11
1.5.1.5.- 2-fenil etanol.....	11
1.5.1.6. - 1 - hexanol.....	11
1.5.1.7. - 1-butanol.....	11
1.5.1.8. - 2-butanol.....	12
1.5.2.- Fatores que interferem na formação de álcoois superiores dos vinhos.....	12
1.5.2.1. Temperatura na fermentação.....	12
1.5.2.2. Aeração.....	12
1.5.2.3. Linhagem de levedura.....	12
1.5.3.- Biossíntese dos álcoois secundários.....	13
1.5.4.- Participação das sensações gustativas dos álcoois superiores.....	13
1.6.- ÁLCOOIS TERPÊNICOS.....	14
1.6.1.- Concentração nos vinhos.....	14
1.6.2.- Importância organoléptica.....	14
1.6.3.- Nível de percepção.....	15
1.6.4. - Linalol - (3,7-dimetil 1,6-octadieno, 3-ol).....	15
1.6.5. - Nerol - Citral - (cis-3,7 dimetil, 2,6 octadieno, 1-ol).....	16
1.6.6. - Geraniol - (tras-3,7dimetil, 2,6-octadieno, 1-ol).....	16
1.6.7. - $\alpha$ -terpeniol.....	16
1.6.8.- Evolução dos álcoois terpênicos na maturação da uva.....	16
1.6.9. - Teor de álcoois terpênicos nos vinhos.....	16
1.7. - POLIÁLCOOIS.....	17
1.7.1. - Glicerol (1,2,3,propanetriol).....	17
1.7.1.1.- A fermentação láctica do glicerol ou amargor.....	18
1.7.2. - 2,3-butanodiol - (butilenglicol).....	19
1.7.3.- Arabitol - (1,2,3,4,5 - pentanepentol).....	19
1.7.4.- Manitol.....	19
1.7.5.- Sorbitol.....	20
1.7.6.- Mesoinositol - (Inositol).....	20
1.7.7. - Eritritol - (Acetil-metil-carbinol).....	21
1.7.8.- Acetoína - (Acetil-metil-carbitol).....	21

1.7.9. - Diacetil .....	22
1.8. - ALDEÍDO .....	22
1.8.1. - Aldeído acético - (acetaldeído) - etanal .....	22
1.8.2. - Hidroximetilfurfural .....	22
1.9. - ÉSTERES .....	23
1.9.1. - Ésteres acetatos .....	24
1.9.1.1. - Acetato de etila - $C_4H_8O_2$ .....	24
1.9.2. - Ésteres etílicos .....	26
1.9.2.1. - Acetal .....	26
1.10. - ÁCIDOS .....	27
1.10.1. Ácidos voláteis .....	27
1.10.1.1. -Ácido acético .....	28
1.10.1.2. - Ácido fórmico .....	28
1.10.1.3. - Ácido propiônico .....	29
1.10.1.4. - Ácido butírico .....	29
1.10.1.5. - Ácido láctico .....	29
1.10.1.6. - Ácido isovalérico - 3 - metil butírico .....	30
1.10.1.7. - Ácido isobutírico .....	30
1.10.2. - Ácidos graxos livres .....	30
1.10.2.1. - Ácido hexanóico - Ácido capróico .....	31
<b>2. COMPOSTOS FIXOS DO VINHO .....</b>	<b>31</b>
2.1. - ÁCIDOS ORGÂNICOS .....	31
2.1.1. - Ácido L (+) tartárico - (Ácido 2,3 di-hidróxido succínico) .....	31
2.1.1. - Ácido málico .....	33
2.1.3. - Ácido cítrico .....	34
2.1.4. - Ácido succínico .....	36
2.1.5. - Ácido citramálico .....	36
2.1.6. - Ácido dimetil glicérico .....	36
2.1.7. - Ácido ascórbico - (E 300, Vitamina C) .....	36
2.1.8. - Ácido galacturônico - $C_6H_{10}O_7$ .....	36
2.1.9. - Ácido glicurônico - $C_6H_{10}O_7$ .....	36
2.1.10. - Ácido glicônico - $C_6H_{12}O_7$ .....	37
2.1.11. - Ácido mucico - $C_6H_{10}O_8$ .....	37
2.2. - COMPOSTOS FENÓLICOS .....	37
2.2.1. - Ácidos fenólicos .....	40
2.2.1.1. - Ácidos benzóicos .....	40
2.2.1.2. - Ácidos cinâmicos .....	40
2.3. - Flavonóides .....	41
2.4. - Antocianinas .....	41
2.6. - COR .....	45
2.7. - Importância dos Compostos Fenólicos na Saúde Humana .....	47
<b>3. - MINERAIS .....</b>	<b>49</b>
3.1. - Potássio - K .....	50
3.2. - Sódio - Na .....	50
3.3. - Cálcio- Ca .....	50
3.4. - Magnésio - Mg .....	51
3.5. - Manganês - Mn .....	51
3.6. - Ferro - Fe .....	51
3.7. - Cobre - Cu .....	52
3.8. - Zinco - Zn .....	53
3.9. - Lítio - Li .....	54
3.10. - Rubídio - Rb .....	54
3.11. - Chumbo - Pb .....	54
3.12. - Cádmio - Cd .....	55
3.13. - Cromo e níquel - Cr e Ni .....	55
3.14. - Arsênio - As .....	55
3.15. - Mercúrio - Hg .....	55
3.16. - Alumínio - Al .....	56

<b><i>IV - CAPÍTULO 2: Análises químico-físicas dos vinhos catarinenses.....</i></b>	<b><i>57</i></b>
<b>1. - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>2. - MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>58</b>
<b>3. - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>68</b>
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
<b><i>V. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....</i></b>	<b><i>73</i></b>
<b><i>ANEXOS.....</i></b>	<b><i>81</i></b>

## LISTA DE TABELA

Tabela 1: Teores de metanol e álcoois superiores nos vinhos brancos e tintos.....	9
Tabela 2: Quantidade média dos principais álcoois superiores nos vinhos e o referente precursor.....	9
Tabela 3: Índices referentes ao 1-propanol, com separação feita por cromatografia a gás.....	10
Tabela 4: Índices referentes ao 1-butanol, com separação feita por cromatografia a gás.....	11
Tabela 5: Nível de percepção dos álcoois terpênicos no vinho.....	15
Tabela 6: Teor de álcoois monoterpênicos em vinhos brancos aromáticos.....	16
Tabela 7: Teor de acetato de etila de alguns vinhos, com separação feita por cromatografia a gás.....	25
Tabela 8: Influência do período de envelhecimento do vinho da variedade Cabernet Sauvignon, no teor de acetato de etila.....	26
Tabela 9: Teor de ácidos voláteis observados em 138 vinhos brancos e 46 tintos alemães.....	27
Tabela 10: Principais tipos de compostos fenólicos presentes em vinhos de mesa jovem.....	39
Tabela 11: Compostos fenólicos presentes na uva e no vinho.....	40
Tabela 12: Mecanismos biológicos complementares que diminuem o risco de doenças cardiovasculares, devido ao consumo de vinho.....	48
Tabela 13 - Principais fenóis identificados em <i>Vitis vinifera</i> .....	49
Tabela 14. Percentagem de álcool em relação densidade da solução hidroalcoólica a 20°C.....	60
Tabela 15. Tabela de Ackermann para o cálculo do extrato seco (g/l), em vinhos secos.....	64
Tabela 16: Dados da análise dos vinhos branco da região Oeste de Santa Catarina, Fevereiro/2001, CNPUV-EMBRAPA-RS.....	68
Tabela 17: Dados da análise dos vinhos tinto da região Oeste de Santa Catarina, Fevereiro/2001, CNPUV-EMBRAPA-RS.....	68
Tabela 18: Limites analíticos estabelecidos pela legislação brasileira para vinhos de mesa.....	83

## I - APRESENTAÇÃO

Este trabalho resulta do estágio curricular da 9ª fase do curso de Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina, realizado no período de 20 janeiro a 22 fevereiro de 2001, no Centro Nacional de Uva e Vinho - EMBRAPA, nos laboratórios de Enoquímica e Instrumentação, no município de Bento Gonçalves - RS.

Durante o estágio, conseguimos colocar em prática uma vivência pré-profissional onde foram enfocadas a composição química do vinho e a sua importância para a análise e avaliação enológica; as análises de vinhos nos aspectos de avaliação, quantificação e classificação de vinhos produzidos na região da Serra Gaúcha; e análises físico-químicas nos mostos da safra 2001, bem como as análises feitas em vinhos do Oeste Catarinense para confirmação da qualidade.

O trabalho foi desenvolvido no sentido de discutir as análises necessárias para avaliar e garantir a boa qualidade dos vinhos, o conteúdo químico presente neste e a sua importância na saúde humana, principalmente em doenças coronárias.

Quanto à escolha na área de enologia, deu-se devido (a) ao grande interesse neste assunto, (b) ao crescente conhecimento dos efeitos benéficos do vinho na saúde, (c) o grande potencial mercadológico, (d) a decisão de quais ações devem ser desenvolvidas no setor, tendo em vista também a forte concorrência do mercado externo, (e) o grande potencial econômico, científico e medicinal que o vinho representa, onde as vinícolas do país tem sua principal fonte de renda e suas raízes histórico-culturais.

## A INSTITUIÇÃO

A EMBRAPA mantém desde 1975, em Bento Gonçalves - RS, o Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho onde concentram os trabalhos nas áreas de viticultura e enologia.

A missão da Instituição é: "Gerar e promover conhecimento e tecnologia para o desenvolvimento sustentado do complexo agro-industrial vitivinícola nacional, bem como de fruteiras de clima temperado da Região Sul, em benefício da sociedade".

Além de desenvolver pesquisas e tecnologias como: obtenção de material vegetativo livre de vírus, para elaboração de vinhos e derivados; lançamento de cultivares de uva de mesa ("Vênus", "Dª Zilá", etc.); identificação de viroses; recomendação de adubação, entre outras. A EMBRAPA possui diversos produtos e serviços que são colocados à disposição de seus clientes e cujo retorno financeiro obtido com a comercialização é reinvestido na pesquisa. Entre eles estão: produção de vinhos e derivados elaborados na cantina experimental; produção de mudas isentas de viroses; produção do fungo *Trichoderma viride* para uso no manejo integrado da podridão; análises laboratoriais, etc..

A EMBRAPA - CNPUV possui equipe técnica altamente qualificada, contando com pesquisadores das mais diversas áreas como entomologia, ecofisiologia, estatística experimental, enologia, fertilidade do solo, fitopatologia, entre outros, todos empenhados na busca de soluções tecnológicas efetivas.

## II - INTRODUÇÃO

A mais remota das informações sobre a existência da videira data de 7000 a.C. Com certeza não eram vinhedos como os de hoje, que o tempo encarregou-se das mudanças.

Não poderia existir vinho sem vasilhame, por isso fez-se necessário a cerâmica e a madeira para armazená-lo. Seu aroma enfeitiçou o mais forte dos mortais e faz com que nunca mais o homem conseguisse viver sem ele.

Talvez seja por isso que, quando os navegadores atravessaram o Oceano Atlântico no século XV e XVI rumo à América. No início da colonização a videira foi esquecida, pois havia interesse em plantar o que daria mais lucros à coroa. Mas com a vinda dos imigrantes italianos, deu-se o impulso necessário à sua plantação.

No passado, em países de clima quente, os vinhos eram consumidos ainda jovens, pois apresentavam problemas de conservação e, conseqüentemente, mostravam redução acentuada de qualidade. Com o advento da tecnologia e pesquisa, muitos problemas da vinificação foram superados, possibilitando a elaboração de vinhos com melhor qualidade.

Em enologia o conceito de qualidade pode assumir vários aspectos, de acordo com o modo com que o vinho é avaliado. Podemos aferir a qualidade organoléptica, nutricional, higiênica dos vinhos.

Os compostos químicos do vinho originam-se da uva, de outras partes do ráquis e das operações tecnológicas durante o processo de vinificação e de conservação dos vinhos.

A análise introduzida no estudo do vinho possibilitou conhecer melhor sua composição, permitindo detectar os elementos provenientes da uva, do mosto e do processo de vinificação. A composição química tornou-se uma ferramenta que veio auxiliar e garantir o trabalho do enólogo, permite acompanhar e compreender a evolução do vinho no processo de vinificação e no envelhecimento, fornecer laudos que comprovam a autenticidade do produto e descobrir possíveis fraudes.

A análise química é de grande utilidade prática, pois possibilita determinar a quantidade dos elementos que constituem o vinho; também fornece os elementos que permitem julgá-lo, principalmente no que se refere ao acréscimo de substâncias permitidas por lei. Além disso, é de um valor indiscutível para o estudo das características de uma cultivar, para verificar a influência e a ação de tratamentos enológicos na vinificação, além de outros trabalhos da cantina.

O vinho não possui uma composição química definida que forneça uma fórmula exata. Existem diferenças entre os vinhos produzidos em regiões distintas, com diferentes solos, clima, cultivar, tratos culturais e demais condições que se alteram de acordo com as regiões e que podem influenciar a sua composição. Em cada região os vinhos adquirem características especiais que permite caracterizá-los como um produto típico e autêntico do local.

A autenticidade do vinho elaborado em uma região, seguindo as mesmas técnicas de produção da uva e de vinificação, pode manter sua composição química característica pouco alterada durante as safras subseqüentes, facilitando a investigação de fraudes e o uso indevido do nome da região produtora quando comercializado.

O progresso da química, o melhor conhecimento dos componentes do vinho e a fiscalização das empresas produtoras, contribuiu para diminuir fraudes, bem como o uso indiscriminado de produtos enológicos para melhorar o aroma e o paladar. Assim, com determinadas análises, podemos detectar os elementos que faltam ou que estão em menores concentrações no vinho e os que estão em níveis elevados, analisar se o produto está de acordo com a legislação, e se a empresa fornece um produto de confiança que não acarrete problemas aos consumidores.

A análise da composição química do vinho pode detectar a presença de elementos com propriedades farmacológicas, podendo ser aferidos os seus compostos e valor nutricional, servindo de informações relevantes para o consumidor e para pesquisadores.

Neste trabalho, o capítulo nº 1, abordará os compostos químicos do vinho que podemos separar em dois grupos: compostos voláteis e compostos fixos. E o capítulo nº 2, serão apresentadas as análises físico-químicas dos vinhos originários do Oeste de Santa Catarina.

### III - CAPÍTULO 1: Composição Química do Vinho

#### 1.- COMPOSTOS VOLÁTEIS DO VINHO

As características aromáticas e do "bouquet" dos vinhos são decorrentes da presença de compostos voláteis, entre eles: álcoois, aldeídos, ésteres, ácidos voláteis, álcool terpênicos, poliálcoois e ácidos graxos livres (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

Os compostos investigados, com exceção feita ao metanol, são considerados como produtos secundários da fermentação alcoólica e contribuem para a qualidade dos vinhos, especialmente os brancos e rosados, que geralmente são comercializados no mesmo ano da sua elaboração (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

As análises dos compostos voláteis e do glicerol normalmente são efetuadas através da cromatografia gasosa.

Os compostos voláteis do vinho são responsáveis pelas características aromáticas dos mesmos e representam mais de 95% do seu volume. Os demais compostos voláteis representam aproximadamente 1% do peso do álcool, ou seja, entre 1,0 g/L a 2,0 g/L e são constituídos por um grande número de componentes de diferentes funções químicas e com diversos graus de volatilidade (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

#### 1.1.- COMPOSTOS VOLÁTEIS E AROMÁTICOS DOS VINHOS

Com relação ao aroma dos vinhos jovens, deve-se distinguir, de uma parte, as características da uva, que são específicas da cultivar, essência aromática de composição complexa, na qual intervêm os derivados terpênicos. De outra parte, o aroma proveniente das leveduras no decorrer da fermentação, devido, sobretudo à formação dos álcoois superiores e ésteres. O desenvolvimento do "bouquet" no decorrer do envelhecimento resulta de uma transformação dos constituintes do aroma dos vinhos jovens. Essas transformações são do tipo oxidativo em certos vinhos, como o Madeira e o Jerez. No entanto, fenômenos de redução apresentam uma participação importante no aroma dos vinhos de mesa finos. A existência, nos vinhos envelhecidos, de substâncias oxidoreduzoras apresenta um caráter aromático na forma reduzida, exclusivamente. Além disso, é provável que o vinho contenha heterosídeos não aromáticos, onde a hidrólise lenta durante o envelhecimento libera os agliconas dotados de perfume.

A constituição química do aroma e do "bouquet" do vinho é certamente de uma grande complexidade, que é bem mais conhecida com o desenvolvimento de métodos analíticos cada vez mais sensíveis.

Foi por volta de 1960, com o desenvolvimento da cromatografia gasosa, que foi observado um desenvolvimento considerável das pesquisas neste campo, pois um grande

número de componentes foi identificado. No que se refere aos ésteres, pode-se imaginar todas as combinações possíveis entre os diferentes álcoois e os diferentes ácidos, considerando também os ácidos orgânicos fixos. Os ésteres do álcool etílico são mais importantes.

Entretanto, muito ainda resta a fazer e pode-se afirmar que a cromatografia em fase gasosa, aplicada a enologia, trouxe até o momento mais problemas em relação àqueles que resolveu. Na verdade, as substâncias identificadas são essencialmente produtos da fermentação e, por consequência, se encontram em todos os vinhos. E, não foi possível colocar em evidência as diferenças características entre os produtos. Duas explicações são possíveis:

- Existem substâncias atualmente desconhecidas, a baixa concentração, mas que apresentam poder aromático elevado, que atribuem a cada vinho suas características próprias. Em particular se observa, na saída do cromatograma, a passagem de substâncias voláteis com aroma variado e não registrado pelos detectores clássicos;
- As diferenças provenientes de variações na concentração das mesmas substâncias.

Na realidade, a cromatografia em fase gasosa motivou pesquisas novas na área analítica, no entanto os resultados obtidos ainda são parciais, e numerosos métodos químicos de análise, relativamente antigos, ainda são válidos.

## 1.2.- CARACTERÍSTICAS DO AROMA E DO "BOUQUET"

O perfume, o aroma e o "bouquet" são aromas agradáveis liberados pelo vinho, mais ou menos fino, mais ou menos desenvolvido, que depende da sua origem, da sua idade, do seu estado de conservação. Constitui um dos caracteres que distingue os grandes vinhos finos. Deve-se distinguir entre aroma e "bouquet".

Certos vinhos brancos só possuem aroma enquanto os vinhos tintos "bouquet". É certo quando se considera que os vinhos brancos são bebidos jovens e os tintos bebidos envelhecidos; no entanto, isso não é correto para todos os vinhos.

Alguns autores consideram "bouquet" o aroma percebido através da olfatação direta enquanto o aroma seria a sensação percebida por via retronal, quando o vinho está na boca. Aroma seria sempre sinônimo de aroma de boca. Esta definição não corresponde ao sentido habitual dado ao aroma: princípio odorante que é liberado, por diferentes substâncias de origem vegetal ou animal, e que pode, portanto ser respirado.

Por isso o aroma do vinho deve designar o princípio odorante do vinho jovem; o "bouquet" é adquirido no envelhecimento e não se desenvolve com o tempo.

## 1.3.- ÁGUA

É o constituinte principal com cerca de 85% a 90% do volume do vinho. Normalmente a água não influencia no gosto, exceto quando em quantidades superiores a 90%; neste caso o vinho apresenta-se aguado e com suspeita de fraude (BOSSI, 1995).

A água serve como solvente de ácidos, açúcares, substâncias minerais e demais substâncias encontradas no vinho. A água interfere no valor da densidade e na solubilização dos demais compostos (BOSSI, 1995).

A água do vinho provém da absorção das raízes da videira, é acumulada na polpa de uva, depois passando para o mosto e posteriormente para o vinho. Trata-se, portanto, de água com alta concentração de enzimas. Um vinho com excessiva proporção de água é difícil de conservar, pois facilmente deteriora-se.

#### 1.4.- ÁLCOOIS

O álcool é formado pelas leveduras durante a fermentação alcoólica. É um dos elementos essenciais do vinho, constituindo, em valores médios, cerca de 10% a 13% do seu volume, ou de 80 g/L a 104 g/L em peso, nos vinhos de mesa (CARLES, 1972).

O grau alcoólico corresponde ao número de litros de álcool etílico em 100 litros de vinho. A medida deve ser efetuada a 20°C. Para transformar o álcool de volume para peso deve-se multiplicar o valor por 0,79423, pois, um litro de álcool pesa 0,7943 kg. Na prática, é adotado o fator oito. Para a sua aferição faz-se a destilação do vinho previamente alcalinizado e posteriormente mede-se o grau alcoólico por densimetria (RIZZON, 1991).

##### 1.4.1.- Etanol - (Álcool etílico) - CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>OH

O etanol é o álcool quantitativamente em maior proporção no vinho, originado pela ação de leveduras sobre o açúcar da uva durante o processo fermentativo.

O álcool etílico contribui com a dissolução de outros componentes do vinho, no entanto, insolubiliza o tartarato ácido de potássio (bitartarato de potássio) que se deposita nas paredes e no fundo dos recipientes na forma de cremor de tártaro.

O álcool, além de ser um agente que apresenta efeito anti-séptico sobre a flora microbiana, interfere no aspecto organoléptico do vinho com o gosto doce que apresenta.

Em princípio, 100 g de açúcar originam 48 g de álcool etílico com densidade igual a 0,7982 e um volume correspondente a 61 mL. Para obter 1 litro de álcool seriam necessários  $(100 \times 1000) / 61$ , ou seja, 1640 g de açúcar.

Podemos dizer que 1640 g de açúcar por hectolitro de mosto dará 1 grau de álcool. O grau alcoólico representa o número de litros de álcool puro contido em 100 L de vinho. A concentração de 16,4 g/L corresponde a 1 grau alcoólico.

Assim, conhecido à quantidade de açúcar de um mosto (por densimetria ou refratometria), será suficiente dividir este número por 16,4 para conhecer o grau alcoólico do vinho feito.

A quantidade de açúcar necessária para produzir 1 grau de álcool varia com a espécie de levedura e as condições de fermentação. Algumas leveduras necessitam de 17 g de açúcar para produzir 1 grau alcoólico, sendo que outras chegam a necessitar de 19 g a 22 g de açúcar por grau alcoólico.

A fermentação que se faz com aeração exagerada, o rendimento em álcool diminui, pois a levedura em meio aeróbico transforma parte do açúcar em dióxido de carbono e água.

O etanol é determinado por cromatografia gasosa (ANEXO 1, Figura 1), com detector de ionização de chama, coluna empacotada (clássica) (RIZZON, 1991).

#### 1.4.2.- Metanol - (Álcool metílico ou carbinol) - CH<sub>3</sub>OH

O teor de metanol está relacionado principalmente com o tempo de maceração da parte sólida e da porção líquida da uva. Sua determinação se faz importante em função da toxicidade que este apresenta (RIZZON, 1985)

O álcool metílico é encontrado nos vinhos em proporções variáveis. Ele é produzido durante a maceração, originado pela hidrólise que sofrem as pectinas do mosto; por isso os vinhos tintos possuem mais metanol que os vinhos brancos (RIZZON, 1985). É um produto tóxico, mas no vinho ele se encontra em quantidades reduzidas que variam de 30 mg/L até 350 mg/L.

Não sucede o mesmo na elaboração de aguardentes provenientes de frutos ricos em pectinas; nesses casos, a fim de impedir uma excessiva produção de metanol, deve-se proceder com macerações curtas, como no caso do "kirch" e da "graspa", as quais devem ser destiladas de bagaço fresco a fim de evitar o desdobramento das pectinas com o conseqüente aumento de álcool metílico (RIZZON, 1985).

O metanol é encontrado em quantidade de 40 mg/L a 60 mg/L em vinhos brancos, sendo que para vinhos de uvas viníferas, a quantidade deve ser inferior a 50 mg/L; vinhos brancos comuns apresentam até 90 mg/L de metanol. Os vinhos tintos de uvas viníferas possuem cerca de 150 mg/L e os vinhos tintos comuns possuem em torno de 200 mg/L.

O metanol é determinado por cromatografia gasosa, com detector de ionização de chama, coluna "carbowax 600" de aço inoxidável, de 3,2 m de comprimento por 3/4" de diâmetro (ANEXO 1, Figura 1). A leitura é feita tomando uma amostra de 20 mL do vinho a ser analisado: colocando este num erlenmeyer de 125 mL, com tampa de rosca, adicionando 2 mL de solução de metil-4 pentanol-2 (standard interno - padrão) e homogeneizar a amostra por 5 minutos com auxílio de um agitador magnético. Após esta etapa a amostra está apta a ser analisada (RIZZON, 1991).

#### 1.5.- ÁLCOOIS SUPERIORES

As formações dos álcoois superiores são condicionadas por diversos fatores, como: a constituição nitrogenada e química dos mostos, a temperatura de fermentação, as condições de arejamento do mosto, cepa de levedura e o grau de clarificação do mosto (RIZZON, 1988).

Vários autores citam a influência da variedade na constituição dos vinhos em álcoois superiores. Abaixo, alguns fatores da formação dos álcoois:

- Teor de substâncias nitrogenadas;
- Influência das características varietais;
- Influência anual das características;
- Tecnologia de vinificação (clarificação do mosto, temperatura de fermentação, pH, natureza das leveduras, intensidade do processo de maceração das partes sólidas).

Álcoois superiores são álcoois pertencentes a série dos álcoois com peso molecular mais elevado. O conjunto dos álcoois superiores tem o nome de óleo de fusel ou óleo de floema e se apresenta como um líquido amarelo de aroma desagradável, que apresenta ebulição a uma temperatura compreendida entre 80°C a 135°C.

De modo geral, os álcoois superiores com 3, 4 e 5 átomos de carbono (1-propanol), (2-metil-1-propanol) (2-metil-1-butanol) e (3-metil-1-butanol) apresentam aromas grosseiros que na maioria das vezes não são perceptíveis diretamente nos vinhos, uma vez que não estão presentes em quantidades suficientes.

Os teores limite que os vinhos podem apresentar estão entre 150 mg/L a 600 mg/L. Os baixos teores destes álcoois são requeridos para a qualidade dos vinhos, em especial os brancos (RIZZON, 1988).

Os álcoois superiores, com mais de dois átomos de carbono na molécula, estão praticamente ausentes nos mostos; encontra-se nos vinhos com teores relativamente elevados e exercem influência no aroma.

Estes, por sua vez, são formados a partir das leveduras que na presença de oxigênio transforma o aminoácido em ácido  $\alpha$ -cetônico, com a liberação de uma molécula de amônio ( $\text{NH}_3$ ). O ácido formado é, então, descarboxilado e o aldeído correspondente é reduzido a álcool.

Alguns trabalhos mostraram que em anaerobiose não há liberação de amônio ao meio e que o grupo  $-\text{NH}_2$ , circula de uma substância que o libera para outra que o recebe sob a ação de uma aminotransferase. A intervenção desta enzima foi inicialmente demonstrada no caso particular da formação do tirosol a partir da tirosina.

Muitos trabalhos, sobre o mecanismo de formação de álcoois superiores a partir de açúcares, não permitem por si só explicar o teor desses nas bebidas fermentadas. A produção de álcoois superiores não está, geralmente, em relação direta com a proporção de aminoácidos presentes. Visto que estes também podem se formar num meio com açúcar desprovido de aminoácidos. Estudos posteriores mostraram a importância dos  $\alpha$ -cetônicos formados por ocasião do catabolismo dos açúcares. Esses ácidos cetônicos podem sofrer as mesmas transformações que, quando provenientes dos aminoácidos, chegam até a formação de álcoois superiores.

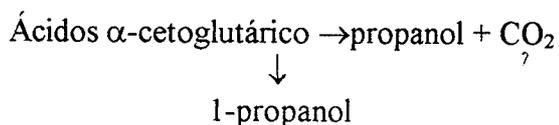
Qualquer que seja a origem, os ácidos  $\alpha$ -cetônicos constituem o ponto central da formação dos álcoois superiores; estes podem ser transformados pelas leveduras em álcoois superiores ou em aminoácidos, sendo a transaminação que ocorre neste processo reversível.

Além do efeito puramente catabólico do mecanismo de Erlich, que chega por descarboxilação à perda de um átomo de carbono, existem processos anabólicos que permitem, a partir dos ácidos cetônicos de baixo peso molecular, provenientes da degradação do açúcar ou dos aminoácidos, realizar a síntese de compostos mais complexos.

O mecanismo pode ser resumido da seguinte maneira:

O ácido  $\alpha$ -cetônico pode dar origem:

- A um álcool de cadeia mais curta, caso submetido, sem outras transformações anteriores a uma descarboxilação e à redução. Por exemplo:



- A compostos de cadeia mais longa, por condensação com a Acetil-Co A, formando-se então ácido  $\alpha$ -cetônico hidroxilado com dois átomos de carbono suplementar em relação ao ácido  $\alpha$ -cetônico precursor. Por exemplo:

ác. pirúvico + acetaldeído-tiamina pirofosfato  $\rightarrow$  ác.  $\alpha$ -cetolático-tiamida pirofosfato

O ácido  $\alpha$ -cetônico hidroxilado é em seguida transformado em um ácido  $\alpha$ -cetônico que poderá então seguir várias vias e dar origem a:

- Álcool superior por descarboxilação e hidrogenação;
- Aminoácidos por transaminação;
- Um outro ácido cetônico hidroxilado, com dois átomos de carbono suplementares por condensação com a acetil coenzima A.

Os ácidos voláteis (acético, propiônico, butírico, isobutírico, isovalérico) se originam deste metabolismo; resultam da oxidação dos aldeídos provenientes de ácidos  $\alpha$ -cetônicos.

A formação do etanol a partir do açúcar resulta do mesmo processo: o ácido pirúvico é, neste caso, o ácido cetônico intermediário; o etanol é o produto de redução; o ácido acético é o composto resultante da oxidação e, a alanina é o aminoácido correspondente.

O aparecimento e o desaparecimento dos ácidos cetônicos que constituem o ponto central da síntese dos álcoois superiores depende não somente da natureza dos aminoácidos presentes, mas também do equilíbrio que existe entre as substâncias hidrocarbonadas e os aminoácidos. Quando existe teor reduzido de substâncias nitrogenadas os álcoois superiores provêm unicamente dos açúcares; os ácidos cetônicos se acumulam no meio e se transformam em álcoois superiores. Quando o teor de substâncias nitrogenadas é aumentado, o mecanismo precedente é favorecido até um limite a partir do qual ocorre uma inibição.

Os álcoois superiores podem se formar através dos ácidos cetônicos que se obtém através da desaminação dos aminoácidos correspondentes; entretanto, os mesmos ácidos cetônicos podem ser formados pela via dos açúcares, mais precisamente do ácido pirúvico que se forma na glicólise. Este é o motivo da ausência de uma exata correspondência entre o teor de aminoácidos do mosto e dos álcoois superiores, nos vinhos.

Os principais álcoois superiores dos vinhos com teores superiores a 50 mg/L são:

- 2-metil - 1-propanol;
- 2-metil - 1-butanol;
- 3 metil - 1-butanol;
- 2-fenil etanol.

Em quantidades que variam entre 1 e 50 mg/L se encontram:

- 1-propanol;
- 1-butanol;
- 1-hexanol;
- 3-metil - 2-butanol;
- 1-decanol;
- 2-butanol;
- tírosol;
- triptofol.

Alguns autores citam ainda outros álcoois superiores que ocorrem no vinho em menor quantidade e menor importância:

- 1-octanol;
- undecanol;

- 2-propanol;
- 1-pentanol;
- 2-pentanol;
- 3-pentanol;
- 2-hexanol;
- 1-heptanol;
- 2-heptanol;
- 1-dodecanol;
- 2-octanol;
- 1-nonanol;
- 2-nonanol;
- 2-decanol;
- cis - 3-hexano - 1-ol;

Os teores de metanol e álcoois superiores nos vinhos brancos e tintos são apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Teores de metanol e álcoois superiores nos vinhos brancos e tintos.

Álcoois (mg/L)	Vinho branco (mg/L)		Vinho tinto (mg/L)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Metanol	38	118	43	222
2-metil 1-propanol	28	170	45	140
1-propanol	9	48	11	52
1-butanol	1,4	8,4	2,1	2,3
2-metil 1-butanol	17	82	48	150
3-metil 1-butanol	70	320	117	490
1-hexanol	3	10	3	10
2-fenil etanol	19	183	42	129

Fonte: BERTRAND (1975).

A maioria dos álcoois superiores são determinados por cromatografia gasosa (ANEXO, Figuras 1 e 2), com detector de ionização de chama, coluna “carbowax 600” de aço inoxidável, de 3,2 m de comprimento por 3/4” de diâmetro (RIZZON, 1991).

### 1.5.1. Principais álcoois encontrados

Na tabela 2 apresentamos os principais álcoois superiores.

Tabela 2: Quantidade média dos principais álcoois superiores nos vinhos e o referente precursor.

Álcoois superiores	mg/L	Precursor
1-propanol	20-40	$\alpha$ -aminobutírico
2-metil 1-propanol	80	Valina
2-metil 1 butanol	100	Isoleucine
3-metil 1-butanol	175	leucina

Fonte: PARONETTO & PARONETTO (1986).

### 1.5.1.1 - 1-Propanol - $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$

O 1-propanol está presente nos vinhos em teores que variam de um mínimo de 9 mg/L a um máximo de 52 mg/L, sendo que o valor médio encontrado é de 30 mg/L. Esse álcool representa somente 5% dos álcoois superiores totais do vinho. O teor de 1-propanol é fortemente influenciado pela cultivar e pela safra (BERTRAND, 1975).

É um líquido muito parecido com o álcool etílico. Apresenta aroma agradável.

Os índices referentes ao 1-propanol estão na tabela 3.

Tabela 3: Índices referentes ao 1-propanol, com separação feita por cromatografia a gás.

Índices	Valores
Peso molecular (g)	60,1
Índice de polaridade	4,1
Limite de UV	215,0
Índice de refração	1,407
Ponto de ebulição (°C)	97,2
Número de miscibilidade	17,0
Viscosidade $\rho$ a 25°C	0,40
Densidade (g/mL)	0,880
$\rho$ a 15°C	0,807

Fonte: PARONETTO & PARONETTO (1986).

### 1.5.1.2.- 2-metil 1-propanol - (Álcool isobutílico)

O 2-metil 1-propanol (Álcool isobutílico) se encontra nos vinhos em teores que variam de 30 mg/L a 150 mg/L, com um teor médio de 66 mg/L. Este álcool representa 21,4% dos álcoois superiores totais. O seu teor é altamente influenciado pela cultivar e pelos processos tecnológicos de clarificação do mosto.

É um líquido de odor penetrante e de sabor adocicado com ponto de ebulição a 108°C; sendo solúvel em 10,5 partes de água a 15°C, possui um peso específico  $\rho$  0,806 a 15°C.

### 1.5.1.3. - 2-metil 1-butanol - (Álcool amílico ativo)- $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$

O 2-metil 1-butanol, álcool amílico ativo ou amílico ativo, está presente nos vinhos num mínimo de 30 mg/L até um máximo de 150 mg/L; em média o teor é de 82 mg/L e representa cerca de 26,6% do teor de álcoois superiores totais. O teor deste álcool é influenciado pela cultivar e pela safra

É um líquido refrangente, ativo com luz polarizada. O seu poder rotatório específico a - 5°, é 90.

O ponto de ebulição deste álcool está entre 128-130°C, sendo pouco solúvel em água, isto é, na proporção de 3,3 volumes porcentagem a 22°C.

Este álcool tem um poder inebriante superior ao do álcool etílico e considera-se que os danos causados ao organismo humano, devido ao abuso de bebidas alcoólicas, são maiores quando apresenta álcoois superiores em maior quantidade.

#### 1.5.1.4. - 3-metil 1-butanol - (Álcool isoamílico) - $(\text{CH}_3)_2 \text{CH CH}_2 \text{CH}_2 \text{OH}$

O 3-metil 1-butanol (álcool isoamílico) se encontra nos vinhos entre um mínimo de 80 mg/L até um máximo de 300 mg/L, com um valor médio de 150 mg/L.

O álcool isoamílico representa 47% dos álcoois superiores totais. É influenciado pela cultivar, pela safra e também pela produção do 1-propanol e do 2-metil - 1-propanol.

Esse álcool possui um aroma desagradável e possui nível de percepção organoléptica relativamente elevado no vinho (300mg/L).

#### 1.5.1.5.- 2-fenil etanol - $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}$

O 2-fenil etanol é o único entre esses álcoois superiores que representa um nível de percepção relativamente baixo, aproximadamente de 50 mg/L. Ele é produzido por um conjunto de leveduras. As variações do teor de 2-fenil etanol no vinho não são acentuadas.

É um álcool cuja determinação é feita através da injeção direta do vinho no cromatógrafo a gás; sendo difícil ser realizada uma vez que a sua concentração é relativamente baixa, 20-50 mg/L (RIZZON, 1991).

#### 1.5.1.6. - 1 - hexanol - $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 \text{CH}_2\text{OH}$

O hexanol provém essencialmente da redução dos aldeídos da uva durante a fermentação. Portanto, também não é um produto secundário da fermentação alcoólica. A sua concentração no vinho está relacionada com a forma de esmagamento da uva, separação da rásquis e da maceração.

#### 1.5.1.7. - 1-butanol - $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_2 \text{CH}_2\text{OH}$

Em geral, o 1-butanol só é detectado em 7,5% dos vinhos. As quantidades encontradas variam de 10 a 50 mg/L.

As características físico-químicas do 1-butanol estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Índices referentes ao 1-butanol, com separação feita por cromatografia a gás.

Índices	Valores
Peso molecular (g)	74,12
Índice de polaridade	3,9
Limite de UV	215
Índice de refração	1,399
Ponto de ebulição (°C)	118
Número de miscibilidade	-
Viscosidade $\rho$ a 25°C	-
Densidade (g/mL)	0,810
$\rho$ a 15°C	-

Fonte: PARONETTO & PARONETTO (1986).

### 1.5.1.8. - 2-butanol - $\text{CH}_3 \text{CH}_2 \text{CH}(\text{OH}) \text{CH}_3$

O 2-butanol é encontrado em 28% dos mostos. Não se encontra nos vinhos em quantidades superiores a 5 mg/L e por isso os destilados de vinho não devem apresentar na sua composição este álcool superior. O 2-butanol se forma em maior quantidade quando o bagaço ensilado, destinado a fazer a graspa, é colonizado por bactérias específicas para este fim, estando presente nos destilados de baixa qualidade na dosagem de 50 mg/L.

Este álcool superior pode servir para diluir e não pode estar em concentração acima de a 5 mg/L.

É um composto químico de sabor e aroma desagradável, tendo nível de percepção elevado.

O 2-butanol, a principal origem destes em vinhos parece estar relacionada com a redução enzimática do 2,3-butanodiol.

## 1.5.2.- Fatores que interferem na formação de álcoois superiores dos vinhos

### 1.5.2.1. Temperatura na fermentação

Cada álcool é caracterizado por uma temperatura ótima de produção, em geral, próxima a 20°C. Esta temperatura condiciona a velocidade de fermentação e a formação de álcoois superiores. A produção de álcoois superiores é favorecida quando a fermentação é mais lenta. Por outro lado, a temperatura alta de fermentação, além de formar menor quantidade de álcoois superiores, favorece perda através do arraste pelo dióxido de carbono.

### 1.5.2.2. Aeração

Em geral, os álcoois se formam em maior quantidade quando a fermentação acontece em anaerobiose. No entanto, foi demonstrado que uma agitação no meio provoca um aumento da concentração de certos álcoois superiores (2-metil-1-propanol; 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol).

### 1.5.2.3. Linhagem de levedura

Os fungos do gênero *Saccharomyces*, que normalmente fermentam os mostos, apresentam rendimento máximo. No entanto, não somente as diferenças quantitativas contam, mas também as diferenças qualitativas, uma vez que a composição enzimática da levedura interfere diretamente na transformação que ocorre na fermentação. Certas linhagens mutantes não possuem a estrutura enzimática necessária a todas as vias metabólicas e orientam a produção para um ou outro álcool superior.

As leveduras do gênero *Schizosaccharomyces sp.*, por sua vez, se caracterizam por produzir quantidades reduzidas de álcoois superiores

### 1.5.3.- Biossíntese dos álcoois secundários

Somente o 1-propanol se forma em maior quantidade quando o teor de sulfato de amônio é elevado.

Durante as primeiras horas da fermentação, os álcoois superiores formados provêm exclusivamente dos aminoácidos.

A síntese dos álcoois superiores a partir do açúcar inicia-se quando o teor de aminoácido é suficientemente baixo.

Os aminoácidos devem desaparecer rapidamente do meio fermentativo, mas caso as condições sejam favoráveis à levedura, poderá restar aminoácidos em excesso no final da fermentação.

A origem dos álcoois secundários, 2-propanol e o 2-butanol, somente agora começa a ser conhecida. Hoje está determinado que o 2-butanol provém do 2,3-butanodiol, sob a ação de microorganismos, essencialmente de bactérias lácticas. Quanto ao 2-propanol, ele é formado sobretudo pelo *Clostridium acetobutylicum* e pelo *Lactobacillus*.

A proporção de álcoois secundários formados depende da linhagem, e para uma mesma linhagem, do pH, da concentração de 2,3-butanodiol.

Esses álcoois secundários não são, portanto, sub-produtos da fermentação alcoólica, mas do resultado de fermentações secundárias devido às infecções microbianas, que em alguns casos podem também dar origem a álcoois primários. Vários pesquisadores demonstraram que pode haver síntese de 1-propanol por bactérias lácticas. Isso explica o aumento do 2-butanol, juntamente com o 1-propanol.

### 1.5.4.- Participação das sensações gustativas dos álcoois superiores

O 2-metil-1-butanol em doses baixas em torno de 37 mg/L caracteriza-se por ser pouco "savonneux", chocolate, adocicado e leve mofo.

Em doses mais elevadas de 81 mg/L apresenta características florais, água de colônia, cheiro de destilaria butírica e um aroma pesado. De modo geral é classificado como desagradável, tanto em pequena quanto em grande quantidade.

O 3-metil-1-butanol, em doses baixas de 132 mg/L, lembra bombom inglês, whisky, álcool de cereais, verniz, amêndoa, plástico, solvente e transpiração.

Em doses elevadas, em torno de 340 mg/L, lembra amêndoa amarga, mofo, pêra, cauda de destilação, cheiro de gordura, destilado, açúcar de baunilha e acetona.

É classificado como muito desagradável tanto em baixos como em altos teores.

O 2-fenil-etanol em doses baixas em torno de 19,6 mg/L apresenta aroma de pétalas de rosa, aroma floral e rosa seca. Em doses elevadas em torno de 106 mg/L, apresenta aroma de rosa, abricot e pétalas de rosa seca. É classificado como agradável.

O hexanol é responsável pelo aroma herbáceo-de-vinho.

Ao tirosol é atribuída a característica de mel apresentada por alguns vinhos.

O 1-propanol e o isopropanol são praticamente inofensivos à saúde. No entanto, a ingestão de pentanóis, ainda que em baixas concentrações, produzem transtornos no sistema nervoso e, além de outras interferências, podem provocar dor de cabeça. Ao aumentar o peso molecular aumenta a solubilidade dos álcoois nos lipídios e conseqüentemente a quantidade que se fixa no cérebro. Como estes estão unidos com maior força que o etanol aos lipídios do organismo, esses álcoois superiores são eliminados lentamente.

## 1.6.- ÁLCOOIS TERPÊNICOS

Os álcoois terpênicos podem ser considerados como originários da associação de diversos agrupamentos "isopreno".

Os álcoois terpênicos são divididos em:

- Monoterpênicos: com 10 átomos de carbono;
- Sesquiterpênicos: com 15 átomos de carbono;
- Diterpênicos: com 20 átomos de carbono.

Os álcoois terpênicos, presentes na uva, são geralmente álcoois monoterpênicos acíclicos: linalol, nerol, geraniol, citronelol, mirceno; ou monocíclicos:  $\alpha$ -terpeniol; ou álcoois sesquiterpênicos acíclicos: farnesol.

Os mais importantes álcoois terpênicos, a concentração nos vinhos, a importância organoléptica e o nível de percepção serão melhor estudados a seguir:

### 1.6.1.- Concentração nos vinhos

Os álcoois terpênicos expressos em ug/L possuem teores muito variados nos vinhos. O teor varia nos cultivares de Moscato: entre 316 ug/L na Moscato de Hamburgo e 332 ug/L na Moscato de Frontignan. Normalmente o teor de álcoois terpênicos é encontrado em maior quantidade nos cultivares mais aromáticos, tais como o Moscato Othonel, Moscato de Alexandria e o Moscato de Frontignan, em relação ao Moscato de Hamburgo e Moscato de Terracina.

As variedades não aromáticas, não Moscatadas, apresentam um teor de terpenos mais baixo, variando de 66 a 420 ug/L. O teor de álcoois terpênicos é praticamente nulo nas variedades não aromáticas.

Os cultivares aromáticos, não Moscato, tais como Riesling, Silvaner, Gewurztraminer e Muller-turgau, apresentam 5 a 20 vezes menos álcoois terpênicos em relação aos Moscatos.

O estado de maturação da cultivar apresenta uma grande influência sobre o teor de álcoois terpênicos. Os cvs. Moscato de Alexandria e Moscato de Frontignan são os com melhor índice de maturação, e com mais intensidade aromática.

O Moscato Itália, também chamado de Déal ou Pivorano 65, apresenta aroma pouco pronunciado.

### 1.6.2.- Importância organoléptica

Sabe-se que os derivados terpênicos apresentam aromas característicos pouco intensos e variado.

O linalol, o nerol e o geraniol apresentam aromas florais. Assim, o linalol lembra madeira rosa, o geraniol lembra a rosa e o  $\alpha$ -terpeniol se caracteriza por apresentar aroma floral e de cânfora; no entanto, os óxidos de linalol são nitidamente canforados, aroma, portanto, diferente do linalol.

### 1.6.3.- Nível de percepção

O linalol apresenta nível de percepção baixo, cerca de 100 ug/L, fato que confere a esta substância a participação mais significativa no aroma. Este valor parece ser elevado, uma vez que já foi indicado para o linalol um nível de percepção de 6 ug/L. Embora, neste caso, refere-se a soluções aquosas sem açúcar e sem acidez.

O nível de percepção do nerol é de 400 ug/L e do geraniol 130 ug/L e, mesmo que mais elevado que aquele do linalol, são da mesma ordem de importância. Isso mostra que o geraniol e o nerol têm uma importância organoléptica fundamental nas características das uvas aromáticas.

A participação organoléptica do  $\alpha$ -terpeniol e dos óxidos do linalol parece muito menos importante na uva. O nível de percepção do  $\alpha$ -terpeniol é de aproximadamente 450 ug/L. A presença deste na uva é inferior ao nível de percepção. Quanto aos óxidos do linalol, o nível de percepção é 60 vezes mais elevado do que para os óxidos furânicos e 40 vezes mais do que para os óxidos pirânicos.

Essas observações explicam a perda de aroma de um mosto de Moscato ou do vinho, no decorrer da sua conservação, provocada pela transformação do linalol em seus óxidos e pela ciclização dos álcoois terpênicos presentes na uva em  $\alpha$ -terpinol.

Entretanto, especialistas em degustação de vinhos mostraram que soluções de linalol puro não lembram o aroma de Moscato; tornando-se muito floral. Por isso, esse resultado confirma o que alguns pesquisadores afirmam, que o linalol somente não é suficiente para conferir ao vinho o aroma característico de Moscato.

Os óxidos dos álcoois terpênicos apresentam nível de percepção entre 40 e 60 vezes mais elevado em relação aos terpênicos normais.

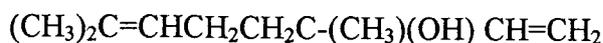
O nível mínimo de percepção de linalol presente em vinhos Moscato é de 50 ug/L de linalol (USSEGLIO-TOMASSET, 1989). O nível de percepção de alguns álcoois terpênicos no vinhos estão na tabela 5.

Tabela 5: Nível de percepção dos álcoois terpênicos no vinho.

Alcool terpênico	Nível de percepção (ug/L)
Linalol	100
Nerol	400
Geraniol	130
$\alpha$ -terpeniol	450

Fonte: RIZZON, (1989).

### 1.6.4. - Linalol - (3,7-dimetil 1,6-octadieno, 3-ol )



Esse álcool intervém nos aromas dos vinhos das variedades ditas Moscatos, eventualmente na forma de álcool furânicos e pirâmicos. Está presente nos vinhos com um teor de 0,8 mg/L. Possui aroma floral e de rosa. No entanto, os ácidos de linalol são nitidamente canforados. Sua temperatura de ebulição está em torno de 198°C a 199°C.

### 1.6.5. - Nerol - Citral - (cis-3,7 dimetil, 2,6 octadieno, 1-ol) - $C_{10}H_{18}O$

É um isômero do geraniol; possui aroma floral. Sua temperatura de ebulição é em torno de 225°C - 226°C.

### 1.6.6. - Geraniol - (trans-3,7dimetil, 2,6-octadieno, 1-ol) - $C_{10}H_{18}O$

Intervém no aroma dos vinhos Moscatos da mesma maneira que o isômero <sup>trans</sup> - o nerol. Encontra-se em uma concentração de 0,3 mg/L e possui aroma floral e rosáceo. Sua temperatura de ebulição é de 229°C - 230°C.

### 1.6.7. - $\alpha$ -terpeniol - $C_{10}H_{18}O$

Intervém no aroma dos vinhos Moscatos. Nos vinhos se encontra em uma concentração de 0,1mg/L. Seu aroma lembra a cânfora. Sua temperatura de ebulição é de 220°C.

### 1.6.8.- Evolução dos álcoois terpênicos na maturação da uva

Constatou-se que os álcoois terpênicos passam a apresentar um teor máximo aproximadamente quinze dias após a parada de acúmulo de açúcar. A sobrematuração provoca uma redução nítida do teor de terpenos. Por outro lado, não há interconversão de um terpeno em outro, como por exemplo, a transformação do linalol em um óxido. Portanto, a sobrematuração deve ser evitada em todos os casos, para apresentar um máximo de terpenos e por conseqüência um teor máximo de aroma. Assim, a colheita deve ser feita cerca de 10 dias após o teor de açúcar e a acidez estabilizam.

### 1.6.9. - Teor de álcoois terpênicos nos vinhos

A amostra de vinho Moscato considerado o mais aromático apresentou 2636 ug/L de terpenos. Na tabela 6 estão citados o teor de álcoois monoterpênicos em vinhos brancos aromáticos.

Tabela 6: Teor de álcoois monoterpênicos em vinhos brancos aromáticos.

Álcoois terpênicos	Teor (ug/L)	
	Mínimo	Máximo
Linalol	226	1229
Geraniol	65	475
Nero	-	191
$\alpha$ -terpeniol	107	552
Óxido A	-	926
Óxido C	-	371
Óxido D	-	293
Terpenos totais	948	2856

Fonte: RIZZON, [19??]

## 1.7. - POLIÁLCOOIS

É conhecido que as bactérias heteroláticas produzem glicerol e 2,3-butanodiol durante a fermentação láctica da glicose e da pentose, assim como o manitol na fermentação láctica de frutose.

São observadas a presenças de diversos poliálcoois nos vinhos, variáveis em função da natureza e da espécie de bactérias e, sobretudo, da natureza dos açúcares fermentados. Os poliálcoois formados são o eritritol, o arabitol e o manitol.

A formação destes poliálcoois não podem constituir um critério de classificação das bactérias lácticas, pois são formados em todas as fermentações lácticas. As bactérias homoláticas podem formar pequenas quantidades de diversos poliálcoois.

No caso da acetoina, doses elevadas acima de 150 mg/L são negativas para a qualidade do vinho (o nível de percepção é de 150 mg/L).

No caso do diacetil, ele pode ser detectado no vinho em doses variáveis de 2 a 4 mg/L.

### 1.7.1. - Glicerol (1,2,3,propanetriol) - $C_3H_8O_3$

Pasteur (1818-1895) identificou o primeiro poliálcool do vinho, o glicerol, que, por sinal, é um importante componente do vinho devido ao teor elevado. Sua origem principal é pela redução do hidroxiacetona fosfato que acontece no início da fermentação quando o etanol ainda não é abundante, ou está bloqueado na forma de combinação bissulfítica para permitir a reoxidação do NADH (RIBEREAU-GAYON *et al.* 1972).

Entre os poliálcoois formados pelas leveduras, o glicerol é o mais importante. O glicerol é considerado um produto secundário da fermentação alcoólica, sendo o constituinte presente em maior quantidade depois da água e do álcool. Embora sua síntese seja mais intensa no início, ele é formado durante todo o processo fermentativo, as primeiras 50 g de açúcar formam mais da metade do glicerol do vinho. A sua formação depende da quantidade inicial de açúcar, da natureza das leveduras e das condições da fermentação, temperatura, acidez, aeração e sulfitagem (RIZZON, 1987, RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

O glicerol participa das características organolépticas com seu sabor adocicado, contribuindo para melhorar a suavidade e fineza dos vinhos, diminuindo, assim, a aspereza e a acidez excessiva dos mesmos (RIZZON, 1987). A sua participação como edulcorante, no entanto, é pequena, pois uma adição de 2 g/L é apenas perceptível na degustação.

O teor nos vinhos depende de muitos fatores, dentre os quais o estado sanitário da uva, a quantidade inicial de açúcares no mosto, a natureza das leveduras e as condições de fermentação (temperatura, acidez, aeração e sulfitagem) (RIZZON, 1987). A levedura *Saccharomyces warum* caracteriza-se por produzir grandes quantidades de glicerol (RIZZON, 1985, RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

Existe uma proporção, que é constante de um para outro vinho, variável de 6 a 10 g de glicerol para cada 100 g de álcool formado. A média fica em 8,4 g/L, o que representa 1/10 a 1/15 do peso do álcool (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972, PEYNAUD, 1977).

A determinação do teor de glicerol nos vinhos é fundamental para o conhecimento da sua composição química e também para o aspecto legal, uma vez que os teores elevados permitem suspeitar da adição de glicerol, ou, ao contrário, quando os valores são muito baixos, do acréscimo de água nos mesmos (RIZZON, 1987).

A dosagem do glicerol permite também distinguir os vinhos doces naturais, quando a fermentação foi parada pela adição de álcool, das mistelas que não sofreram fermentação e que não apresentam glicerol (RIZZON, 1985).

No entanto, nos vinhos licorosos provenientes de uvas atacadas por podridão, o teor de glicerol é bem superior a estes limites. Na verdade, *Botrytis cinerea* induz a produção de glicerol a partir do açúcar da uva, podendo ser encontrado até 20 g/L (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

Nos vinhos produzidos na serra gaúcha, foram observados teores médios de glicerol, sendo mais elevados para vinhos tintos comparados com os vinhos brancos, com exceção feita aos vinhos produzidos no município de São Marcos. Assim, os vinhos tintos caracterizaram-se por apresentar teores de glicerol acima de 8,1 g/L, enquanto que para os brancos os teores são inferiores a 8,0 g/L. Foi possível concluir também que os vinhos comuns possuem teores mais baixos de glicerol quando comparados aqueles obtidos de uvas das cultivares de *Vitis vinifera*, fato confirmado pelos valores encontrados nos vinhos produzidos na região de São Marcos, onde predominam aqueles elaborados com uvas do grupo das americanas (RIZZON, 1987).

A glicerina é um líquido incolor, espesso, oleaginoso, de sabor adocicado, muito solúvel na água e no álcool, cujo peso específico é de 1,265 g/mL, peso molar de 92,1 g, e apresenta-se nos vinhos em um teor de 5 a 20 g/L (PARONETTO & PARONETTO, 1986).

Na indústria, a glicerina tem desempenhado um papel importante devido a multiplicidade de aplicações, principalmente na indústria de produtos farmacêuticos, de perfumes e explosivos (RIZZON, 1987).

O glicerol no vinho é determinado por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (ANEXO 1, Figura 1). E ainda pode ser detectado por cromatografia líquida (ANEXO 1, Figura 3), com detector refratométrico (RIZZON, 1991).

### 1.7.1.1.- A fermentação láctica do glicerol ou amargor

A decomposição do glicerol origina ácido acético e ácido láctico em maior ou menor quantidade. A soma dos ácidos voláteis e do láctico formado é em geral igual ao glicerol consumido (degradado); algumas vezes o glicerol pode originar também dióxido de carbono.

A acroleína é um componente formado por ocasião da doença do amargor e que foi identificado entre 1910 e 1913.

Numa primeira fase se observa a transformação do glicerol em acroleína sob influência de bactérias; numa segunda fase, a acroleína se combina com polifenóis originando assim substâncias com gosto amargo. É compreensível neste caso, que os vinhos tintos com teores superiores de polifenóis tornem-se mais facilmente amargos que os brancos.

A acroleína é encontrada nos destilados e pode ser identificada pelo aroma picante e pela formação 2,4-dinitro fenil hidrazina.

O ataque bacteriano do bagaço da uva no decorrer da conservação em silos produz acroleína que altera os destilados. A formação de acroleína foi observada também nos vinhos de baixo grau destinados à destilação.

O ataque do glicerol pelas bactérias e as características particulares que passam ao vinho foram descritas, mesmo tratando-se de um acidente pouco freqüente. Entretanto, os mecanismos envolvidos não estão ainda bem claros. Primeiramente, o glicerol é

transformado em ácido pirúvico através de reações inversas às da fermentação glicéropirúvico, pela glicólise; outra parte é transformado em acroleína e em 2,3-propanediol através de um mecanismo particular.

### 1.7.2 . - 2,3-butanodiol - (butilenglicol) - $C_4H_{10}O_2$ - $CH_3CH(OH)CH(OH)CH_3$

Está presente nos vinhos em uma concentração de 330 a 1350 mg/L. Possui peso molecular de 90,12 g

O 2,3-butanodiol é um produto secundário da fermentação, conhecido há mais de 40 anos. Provém da redução da acetoína, a qual é proveniente da condensação de duas moléculas de etanal.

O 2,3-butanodiol foi assinalado pela primeira vez por Henninger em 1882, no vinho de Bordeaux, em concentração de 400 mg/L. Apresenta um sabor doce-amargo (agridoce), é estável no vinho e não é metabolizado pelas bactérias.

O 2,3-butanodiol é determinado no mesmo cromatograma feito para a análise do glicerol. É determinado por cromatografia gasosa (ANEXO 1, Figura 2), com detector de chama de ionização de chama, coluna empacotada (clássica) (RIZZON, 1991).

### 1.7.3.- Arabitol - (1,2,3,4,5 - pentanepentol) - $C_5H_{12}O_5$

Sua concentração no vinho é em torno de 10 a 30 mg/L e o peso molecular é igual a 152,15 g.

### 1.7.4.- Manitol - $C_6H_{14}O_6$

Sua concentração no vinho é em torno de 10 a 40 mg/L e o seu peso molecular é de 182,17 g

O manitol é encontrado regularmente em todos os vinhos. Contrariamente ao que era admitido, doses de 250 a 300 mg/L de manitol são normais e não representam obrigatoriamente alterações bacterianas no vinho.

As leveduras produzem apenas pequenas quantidades de manitol, no entanto, no vinho aparecem sempre concentrações relativamente elevadas. *Saccharomyces bayanus* é capaz de produzir 96 mg/L de manitol e as demais produzem quantidades <sup>mais baixas</sup> ~~mais baixas~~. Isto comprova que os teores de manitol do vinho não são devido somente às leveduras, mas também às bactérias da fermentação malolática e da podridão da uva.

O manitol é formado em maior quantidade a partir da frutose do que da glicose, por certas bactérias lácticas. Quando a temperatura de fermentação aumenta chegando a 30°C-35°C, as leveduras paralisam, a fermentação pára e o vinho permanece doce, constituindo um meio favorável ao desenvolvimento de bactérias lácticas; estas atacam a glicose e a frutose, tanto mais facilmente quanto mais baixa a acidez, originando ácido acético e manitol a partir de frutose (fermentação manítica).

~Certas bactérias apresentam uma particular aptidão para decompor os açúcares, mas todas as bactérias heterofermentativas, cocos ou bacilos, são capazes de formar manitol a partir da frutose.

As fermentações maníticas acontecem de preferência nos anos de boa maturação, quando as colheitas são precoces, expostas a temperaturas elevadas e com acidez baixa. No

entanto, o emprego adequado do dióxido de enxofre e o melhor controle da vinificação reduziram acentuadamente este tipo de acidente.

#### 1.7.5.- Sorbitol - $C_6H_{14}O_6$

Seu teor nos vinhos é em torno de 0 a 50 mg/L, sendo presente também em certos mostos de frutas. Possui peso molecular igual a 182,17 g

Foi evidenciado pela primeira vez em 1872 por Boussingault nos frutos de *Sorbus aucuparia*. Numerosos estudos mostraram que o sorbitol está presente nas folhas e nos frutos das rosáceas notadamente na maçã, assim como em um grande número de vegetais. Das folhas o sorbitol é transportado para os frutos onde se acumula. É encontrado em grandes quantidades nas pêras e nas maçãs.

Durante a maturação, a relação sorbitol/peso seco do fruto passa por um máximo no início, diminui a seguir e se estabiliza quando a glicólise (quebra de açúcar) e a frutose aumentam.

O teor permanece constante durante a fermentação alcoólica.

Uma pesquisa realizada sobre o teor de sorbitol, nas folhas da videira e na uva, mostrou que não foi constatada sua presença no engaço, nas folhas jovens e adultas, nem nas bagas de uva verde. No caso da uva atacada de podridão foi detectado traços de sorbitol. Uvas tintas atacadas de podridão apresentaram sorbitol na concentração de 20 mg/kg de uva, aproximadamente 25 mg/L de mosto.

Um mecanismo análogo àquele proposto para a pêra, abricot e maçã não pode, portanto, explicar a formação de sorbitol na uva. Já que também é encontrado naquela atacada de podridão. De outra parte, as doses reduzidas não correspondem a quantidade que este normalmente é encontrado no vinho. Existe, portanto, uma outra via de formação do sorbitol no vinho.

Estudos mostraram que o sorbitol não é formado pelas leveduras a partir dos açúcares no decorrer da fermentação alcoólica com solução sintética simples a partir da glicose ou da frutose.

O sorbitol pode ser formado pelas leveduras que fermentam o mosto (em pequenas quantidades 20 a 60 mg/L), sendo este não formado por bactérias.

A formação do sorbitol é induzido por *Botrytis cinerea* (0-50 mg/L), e por *Riqueforti sp.* e *Aspergillus japonicus* (aproximadamente 100 mg/L).

O teor de sorbitol do vinho aumenta com a percentagem de podridão da uva.

A legislação estabelece para o sorbitol teor máximo de 100 mg/L.

Os vinhos italianos tem normalmente entre 0 e 50 mg/L de sorbitol.

Teores de sorbitol compreendidos entre 100 e 200 mg/L podem ser consequência da adição de mostos de outras frutas, tais como: maçã, pêra, ameixa e figo. Assim, o corte de um mosto de uva com mosto de maçã pode ser comprovado através da determinação do sorbitol.

#### 1.7.6.- Mesoinositol - (Inositol) - $C_6H_{12}O_6$

Sua concentração no vinho está em torno de 220 a 730 mg/L. Possui peso molecular igual a 180,16 g.

O mesoinositol não varia de modo sensível durante a fermentação alcóolica uma vez que a necessidade das leveduras é inferior a 0,5 mg/L. Os mostos contém mil vezes mais

isoinositol do que é necessário. Os vinhos brancos apresentam teores mais elevados que os vinhos tintos.

O mesoinositol é encontrado nos vinhos tintos numa concentração média de 375 mg/L. Os vinhos brancos e rosados, assim como os vinhos tintos leves de pouca maceração, apresentam teores mais baixos, em média de 280 mg/L a 300 mg/L. Os vinhos de prensa, por outro lado, apresentam teores mais elevados. Os vinhos elaborados com uvas atacadas pela podridão apresentam teores maiores, aproximadamente 500 mg/L. O mesoinositol provém da baga de uva.

O mesoinositol não se forma na fermentação alcoólica; na verdade ele sofre uma redução de 30 a 70 mg durante o processo fermentativo. Ele é um fator de crescimento essencial para muitos microorganismos, em particular para certas leveduras, notadamente a *Kloeckera spp.* e *Saccharomyces veronae* e a *Torulopsis stellata*.

O teor nos vinhos brancos varia de 220 mg/L a 730 mg/L, média de 497 mg/L; o teor encontrado nos vinhos tintos varia de 0 a 590 mg/L, média de 334 mg/L. Em alguns casos o mesoinositol é degradado pelas bactérias. Nas doses de 500 mg/L o mesoinositol é mais que um fator de crescimento, é uma vitamina, um importante constituinte do vinho. O inositol é um isômero do mesoinositol.

O mesoinositol é um poliálcool sintetizado pela videira e se encontra num teor de 400 mg/L a 600 mg/L no mosto na maturação. No vinho se encontra praticamente na mesma concentração. A quantidade encontrada no mosto é bem superior à necessidade de levedura, uma vez que elas utilizam apenas 1/20 desta quantidade.

A oxidação do mesoinositol dá origem ao ácido glicurônico devido a um possível ataque bacteriano que oxida o vinho, o que caracteriza uma doença do vinho.

Nos meios sem mesoinositol observa-se a formação de menor quantidade de glicerol e de ácido succínico. A carência de mesoinositol altera o comportamento de *Saccharomyces ellipsoideus* que acumula então riboflavina e tiamina.

#### 1.7.7. - Eritritol - (Acetil-metil-carbinol) - $\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2(\text{OH})$

Sua concentração no vinho está entre 10 a 20 mg/L. Possui peso molecular igual a 122,12 g.

É um produto secundário constante da fermentação alcoólica, por isso é encontrado em todos os vinhos. O eritritol também é formado pelas bactérias lácticas durante a fermentação malolática. Em 90% dos vinhos se encontra mais eritritol que arabitól. Sua produção é favorecida pela podridão da uva.

#### 1.7.8.- Acetoína - (Acetil-metil-carbitol) - $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COCH}_3$

A acetoína é um poliálcool formado durante a fermentação alcoólica e se encontra nos vinhos em teores médios de 10 mg/L; os limites são de 2 a 80 mg/L. Origina-se da oxidação enzimática do 2,3 - butanodiol. É encontrada em maior quantidade nos vinagres de vinho.

A acetoína é determinado por cromatografia gasosa (ANEXO 1, Figura 1), com detector de ionização de chama, coluna empacotada (clássica) (RIZZON, 1991).

### 1.7.9. - Diacetil - CH<sub>3</sub>-CO-CO-CH<sub>3</sub>

O diacetil encontra-se igualmente nos vinhos em concentrações que podem alcançar 2,0 mg/L. Geralmente, os teores de diacetil dos vinhos se situam ao redor de 0,3 mg/L.

Este produto, por ser volátil, se encontram também nas aguardentes em maior ou menor quantidade, segundo a composição inicial do vinho e o modo de destilação. O seu estudo permite caracterizar as aguardentes e também estabelecer uma diferenciação entre o Cognac, proveniente de destilação dupla, e do Armanhaque proveniente de uma única destilação. O diacetil é responsável pelo aroma que lembra manteiga nos vinhos.

## 1.8. - ALDEÍDO

Entre os aldeídos mais importantes presentes no vinho estão: aldeído fórmico (formaldeído), furfural (furaldeído), aldeído vanílico (4-hidroxi-3-methoxybenzaldeído), seringaldeído e o de maior importância o aldeído acético e o hidroximetilfurfural, que veremos a seguir.

### 1.8.1. - Aldeído acético - (acetaldeído) - etanal - CH<sub>3</sub>-HC=O

As questões relativas ao aldeído acético, a sua presença e as suas reações no vinho, seus derivados, sua dosagem, constituem um problema importante em enologia. Suas origens múltiplas, sua grande facilidade de reação, sua combinação rápida a frio com o dióxido de enxofre, suas propriedades organolépticas e àquelas dos derivados, apresentam grande interesse para o conhecimento dos fenômenos relacionados a composição aldeídica.

A presença do etanal, produto de oxidação do etanol, está relacionada com os fenômenos de oxidação; o grupo funcional -CHO é um dos mais ricos em afinidades químicas. Além disso, o etanal é um intermediário importante no mecanismo de fermentação dos açúcares pelas leveduras e fermentações maníacas (RIZZON, 1987).

Na prática habitual de conservação dos vinhos de mesa, graças ao emprego geral do dióxido de enxofre como anti-séptico e antioxidante, o etanal não existe, a não ser de modo acidental e temporário no estado livre. Por isso, esta categoria de vinho não possui na sua constituição acetal. Já os vinhos com característica baseada no estado de oxidação, como é o caso dos vinhos de Jerez, apresentam por consequência teores de acetal elevados.

O aldeído acético é determinado por cromatografia gasosa (ANEXOS 1, Figura 1), com detector ionização de chama (RIZZON, 1991).

### 1.8.2.- Hidroximetilfurfural

A frutose é particularmente sensível ao aquecimento em meio ácido originando o hidroximetilfurfural. Conseqüentemente, os vinhos submetidos a um tratamento térmico, especialmente àqueles provenientes de mostos concentrados e dissulfitados pelo calor ou que foram edulcorados com mostos concentrados ou com açúcar invertido, podem conter hidroximetilfurfural.

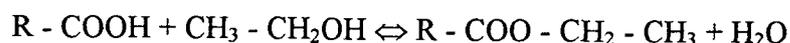
Foi demonstrado que mostos de uvas pasteurizadas em recipientes de vidro por 30 minutos à 75°C não provocam reação positiva; no entanto, mostos dissulfitados ou concentrados, elaborados com vácuo e a temperatura baixa, apresentam reação importante.

A dissulfitação efetuada corretamente não provoca a formação de hidroximentilfurfural, que é consequência da falta de manipulação ou armazenamento prolongado.

### 1.9.- ÉSTERES

A parte livre dos ácidos orgânicos do vinho reage com o álcool etílico muito lentamente na temperatura do vinho para originar ésteres.

A formação de éster acontece segundo a reação:



É uma reação lenta, limitada por fenômenos contrários como a hidrólise; portanto reversível, e obedece a lei da ação das massas.

O estudo do mecanismo da esterificação aplicado diretamente ao vinho por PEYNAUND (1937), mostrou que nas condições práticas o limite não é alcançado em nenhum caso e por nenhum ácido, mesmo após meio século de conservação. A quantidade teórica de ésteres é dada pelo cálculo a seguir:

$$\mu = \frac{(1,17A + 2,8)a}{100} \quad \text{onde: } A \text{ é o peso do álcool em 100g de vinho;}$$

$$a \text{ é a acidez livre.}$$

Assim, os monoácidos conduzem, por reação com o etanol, à formação exclusiva de ésteres neutros; os poliácidos podem originar duas categorias de ésteres: os neutros e os ácidos. O ácido tartárico, por exemplo, origina um éster neutro, o tartarato de etila e um éster ácido, o ácido de etiltartárico. Em média existe aproximadamente a mesma quantidade de ésteres neutros e de ésteres ácidos nos vinhos.

Os ésteres dos vinhos são formados por reação química no decorrer do envelhecimento ou por reação enzimática no transcurso das fermentações. Esses dois processos intervêm na formação dos ésteres do vinho de maneira mais ou menos parecida.

O teor de ésteres do vinho é determinado pela sua composição e pela sua idade. Ele varia de 2 a 3 meq/L nos vinhos novos à 9 ou 10 meq/L nos vinhos velhos. Estes últimos possuem aproximadamente um décimo dos ácidos livres esterificados pelo álcool etílico.

Os ésteres neutros, formados por via biológica, aumentam pouco por reação química durante o envelhecimento. São encontrados, conforme os vinhos, de 15 a 60 meq/L. Eles são formados pelo acetato de etila e o lactato de etila. A teoria da esterificação mostra claro que os poliácidos originam no vinho essencialmente ésteres ácidos. As doses de acetato de etila dos vinhos sadios variam de 0,5 e 1,2 meq/L. O conhecimento do teor de acetato de etila é importante uma vez que, contrariamente a opinião geral, é este éster e não o ácido acético que origina nos vinhos alterados pela acetificação as características organolépticas próprias.

Os ésteres etílicos parecem representar uma importância limitada nas quantidades dos vinhos sadios.

O interesse de dosagem dos ésteres reside na sua importância organoléptica. Além do acetato de etila, que apresenta aroma desagradável, são bem conhecidos os ésteres de peso molecular mais elevado, com aromas florais e frutados, que participam certamente nas características organolépticas dos vinhos.

Entre os numerosos ésteres do vinho, o acetato de etila representa sozinho freqüentemente mais de 80% dos ésteres voláteis totais. Mesmo que o seu nível de

percepção organoléptica seja elevado, aproximadamente 180 mg/L no vinho, em relação aos demais ésteres, a sua presença representa uma participação incontestável no aroma dos vinhos, aos quais ele confere características de avinagramento. Mesmo abaixo desta dose ele participa do gosto dos vinhos, tornando-os duros e ásperos.

O lactato de etila e o propionato de etila não apresentam a importância sob ponto de vista organoléptico, uma vez que o aroma é bastante neutro e o seu nível de percepção relativamente elevado.

Os acetatos (2-metil propila) (3-metil butila) (2-fenil etila) e os ésteres etílicos dos ácidos graxos, do ácido butírico ao ácido decanoico, são geralmente encontrados nos vinhos no limite do seu nível de percepção organoléptica, isto é, de 0,1 a 5,0 mg/L. Mesmo os estudos sendo poucos sobre este assunto, eles são certamente elementos importantes do aroma e do "bouquet" dos vinhos.

Os estudos dos fatores que podem provocar modificações na concentração dos ésteres são fundamentais para a enologia.

### 1.9.1.- Ésteres acetatos

Os ésteres acetatos encontrados no vinho são vários, o acetato de isoamila, acetato de hexila e o acetato de 2-fenil, mas o mais importante é o acetato de etila.

Os ésteres acetatos são determinados por cromatografia gasosa (ANEXO 1, Figura 2), com detector de ionização de chama (RIZZON, 1991).

#### 1.9.1.1.- Acetato de etila - $C_4H_8O_2$

O acetato de etila é considerado um éster neutro, muito volátil, responsável pelo aroma característico dos vinhos acetificados. A esterificação química do álcool pelo ácido acético é muito lenta, a influência é pouco marcante. As leveduras formam durante a fermentação alcoólica teores próximos a 50 mg/L. O acetato de etila pode também ser formado pelas bactérias acéticas que se desenvolvem em aerobiose. Um teor superior a 100 mg/L corresponde a um ataque bacteriano (RIBEREAU-GAYON *et al.*, 1972).

O acetato de etila é identificável nos vinhos a partir de 180 mg/L-200 mg/L (nível de percepção). No entanto, em quantidades inferiores a 130 mg/L-150 mg/L, ele influencia no gosto do vinho tornando-o duro e áspero (RIZZON, 1987).

A sua presença no vinho apresenta duas origens distintas: o acetato de etila é um produto secundário da fermentação alcoólica, originando-se, portanto, do metabolismo glicídico das leveduras, que se forma no início do processo fermentativo e aumenta linearmente com o aumento do grau alcoólico. Sendo que, através desta via metabólica não se formam teores preocupantes, sob o ponto de vista organoléptico. O acetato de etila também pode ser originário da atividade das bactérias acéticas que formam uma quantidade considerável na primeira fase da fermentação alcoólica. Através desta via metabólica é que se forma quantidade de acetato de etila superior a 200 mg/L, a qual é responsável pelo aroma acético do vinho.

A esterificação biológica do ácido acético é muito mais rápida que a esterificação química. De outra parte, sendo de natureza enzimática, a esterificação realizada por bactérias tem caráter reversível, por isso verifica-se a hidrólise do acetato de etila, caso estiver em excesso.

A quantidade de acetato de etila formado por via bacteriana é proporcional a quantidade de ácido acético formado. O coeficiente de esterificação é independente da concentração de ácido acético, mas muito influenciado pela temperatura.

A produção de acetato de etila por *Hansenula sp.* ultrapassa muito o rendimento previsto por um equilíbrio químico.

O acetato de etila se forma na fermentação por esterificação enzimática com a presença de ésteres foi encontrada nas células de leveduras; a quantidade produzida de acetato de etila é inferior ao limite perceptível teórico e corresponde a quantidade formada por *Saccharomyces sp.*, que não ultrapassa os 2% do teor de ácido acético) por síntese direta, ligada a respiração por certas leveduras, mas independente do fenômeno respiratório de *Saccharomyces sp.*. É fato que estas diversas vias de formação se somam em muitas espécies de leveduras.

Foi constatado que uma produção de acidez volátil mais baixa nos vinhos experimentais de laboratório fermentado por *Saccharomyces sp.*, corresponde a uma formação de acetato de etila mais elevado quando ocorre a participação de leveduras esterógenas.

O teor de acetato de etila é relativamente baixo nas fermentações bem conduzidas e não alcança 88 mg/L. Nessas concentrações não interfere de forma evidente nas características organolépticas dos vinhos.

Esse teor aumenta sempre durante o envelhecimento do vinho, mesmo quando conservados adequadamente; paralelamente foi observado um pequeno aumento, que é inevitável, da acidez volátil.

Na conservação do vinho foi observado que o teor de acetato de etila dobrou no período de 1 a 2 anos de conservação em barrica de madeira (esses vinhos possuem acidez volátil inferior a 0,67 g/L) e, na degustação, não apresentam defeitos. Este aumento é devido em parte a formação por via química e em parte por via biológica.

Vinhos com mais de 0,70 g/L de acidez volátil, que são vinhos sadios mas que sofreram algum ataque microbiano, por *Acetobacter* ou bactérias lácticas, com isso, o teor de acetato de etila aumenta e contribui para depreciar o aroma e o gosto do vinho. Mesmo com o teor em acetato de etila relativamente elevado e crescente, esses vinhos estão bem classificados; no entanto, o teor de acetato de etila aumenta mais que aquele da acidez volátil.

Quando a acidez volátil ultrapassa 0,90 g/L o acetato de etila duplica.

O ésteres acetatos são determinados por cromatografia gasosa (ANEXO 1, Figuras 1 e 2), com detector de chama de ionização de chama (RIZZON, 1991).

Nas tabelas 7 e 8 são apresentados o teor de acetato de etila de alguns vinhos e a influência do período de envelhecimento do vinho da variedade Cabernet Sauvignon, no teor de acetato de etila.

Tabela 7: Teor de acetato de etila de alguns vinhos, com separação feita por cromatografia a gás.

Tipo de Vinho	Amostra (N.º)	Ácido acético (g/L)			Acetato de etila (mg/L)		
		Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
Vinho novo	43	0,18	0,52	0,34	26	77	51
Vinho de guarda	15	0,55	0,67	0,62	81	136	113
Vinho de guarda	17	0,70	0,95	0,79	127	231	164

Fonte: PEYNAUD, (1956).

Tabela 8: Influência do período de envelhecimento do vinho da variedade Cabernet Sauvignon, no teor de acetato de etila.

Período de envelhecimento (meses)	Tipo de recipiente			
	Aço inox	Barrica de carvalho francês	Barrica de carvalho americano	Barrica de grapia
6	89,0	93,5	142,5	85,3
12	77,0	89,3	111,8	77,1
18	80,3	88,3	140,7	86,7
24	143,0	137,3	213,6	126,2
30	126,0	122,0	190,5	126,0
36	132,0	133,5	188,4	117,1

Fonte: RIZZON, [19??]

### 1.9.2.- Ésteres etílicos

Os ésteres etílicos presentes no vinho são propionato de etila, lactato de etila (ANEXO 1, Figura 1), hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, dodecanoato de etila e o Succinato de etila, mas o que possui destaque é o acetal.

Os ésteres etílicos são determinados por cromatografia gasosa (ANEXO 2, Figura 1), com detector de ionização de chama (RIZZON, 1991).

#### 1.9.2.1. - Acetal

O acetal se forma necessariamente cada vez que há etanal livre na presença de álcool etílico. O acetal resulta de combinação, com formação de água, de moléculas de álcool e uma de etanal.

A acetalização é uma reação lenta e reversível, catalizada pela presença de hidrogênio; no pH 2,0 a 3,0 sendo o final da acetalização é alcançado em algumas horas. A pH 4,0 a acetalização ocorre em alguns dias e a pH mais elevado, em alguns meses.

Em solução alcoólica a 10° GL, 3% do acetaldeído pode se combinar com o álcool e, para um grau alcoólico de 20° GL, 6,5% de acetaldeído pode se combinar. Os teores de acetal encontrado nas aguardentes de vinho variam de 24 a 108 mg/L e nos vinhos finos de Jerez foi constatado que 280 mg de acetaldeído que originaram entre  $45 \pm 60$  mg de acetal.

Um outro fenômeno de acetalização foi posto em evidência, com o envolvimento do glicerol. Essa reação ocorre no vinho do Porto, com mais de 44 anos, no qual foi detectado 113 mg/L de etanal livre e 4,9 g/L de glicerol.

Mesmo que esses componentes sejam pouco odoríferos eles participam do aroma suave do vinho do Porto envelhecido. Levando-se em consideração as formas mais abundantes do acetal do glicerol (cis e trans 5-hidroxi-2-metil-1,3-dioxane) pode-se esperar mais de 10 mg/L. Convém assinalar que o coeficiente de acetalização é 50 vezes mais elevado em relação clássica do etanal com o etanol.

## 1.10. - ÁCIDOS

### 1.10.1. Ácidos voláteis

A acidez volátil é constituída essencialmente do ácido acético e de pequenas quantidades de ácido fórmico, ácido propiônico, ácido butírico, ácido isobutírico e ácido isovalérico (Tabela 9). No entanto, é, sobretudo o ácido acético que desnatura os vinhos; o seu cheiro intenso picante é percebido em pequenas doses. Na Itália se expressa a acidez volátil em gramas de ácido acético por litro, na França em g/L de ácido sulfúrico e no Brasil, em meq/L.

Tabela 9: Teor de ácidos voláteis observados em 138 vinhos brancos e 46 tintos alemães.

Ácidos voláteis (mg/L)	Limite (mg/L)	
	Vinho branco	Vinho tinto
Acético	109 – 1150	129 – 860
Fórmico	2,4 – 89,0	3,3 – 22,0
Propiônico	0,1 – 6,6	Traços – 13,9
Butírico	0,3 – 3,1	0,3 – 2,9
Hexanóico	0,4 – 5,4	1,0 – 4,9
Octanóico	0,1 – 1,3	1,2 – 9,6
Decanóico	0,0 – 7,4	0,3 – 3,5

Fonte: SPONHOLZ & DITTRICH (1986).

O ácido acético é o ácido volátil mais importante do vinho, sendo que a acidez volátil se forma de dois modos:

- De modo normal, durante a fermentação alcoólica;
- De modo anormal devido a numerosos problemas dos vinhos.

Na formação normal da acidez volátil, que ocorre durante a fermentação alcoólica, as leveduras apiculadas responsáveis pela formação das primeiras gramas de álcool nas uvas não sulfitadas, produzem quantidades relevantes de ácido acético (BOSSI, 1995).

A acidez volátil do vinho é um dos índices químicos de maior significado comercial e legal. Segundo definição, a acidez volátil é constituída do complexo dos ácidos graxos pertencentes a série acética que se encontra nos vinhos, tanto no estado livre como salificado.

Os limites estabelecidos são os seguintes:

- Mosto de uva parcialmente fermentado: 18,0 meq/L no máximo;
- Vinhos brancos e rosados: 18,0 meq/L;
- Vinhos tintos: 20,0 meq/L.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, forma quantidade reduzida de acidez volátil. Também a temperatura de fermentação elevada pode conduzir a formação em maior quantidade de acidez volátil. Normalmente no final da fermentação alcoólica são encontradas 0,20 a 0,40 g de ácido acético (0,2 a 0,4 g/L).

Durante a fermentação malolática as bactérias lácticas formam sempre ácido acético. A quantidade formada é maior quando o pH é mais elevado e a temperatura mais alta (pH superior a 3,4 e temperatura superior a 20°C). Desta maneira, um vinho bem vinificado pode ter 0,5 g de ácido acético.

Na formação anormal de acidez volátil, quando o teor é superior a 0,5 g/L de ácido acético, pode-se pressupor que tenha acontecido um desvio da fermentação malolática devido às bactérias lácticas, ou tenha ocorrido participação de bactérias acéticas na presença de oxigênio.

A acidez volátil corresponde também o ácido fórmico, o butírico e o propiônico. O ácido propiônico pode, em alguns casos, representar até 30% da acidez volátil; o butírico aparece em concentrações mais baixas. A concentração de ácido fórmico é normalmente limitada e até agora ainda não foi demonstrada nenhuma correlação entre o teor deste ácido e a acidez volátil.

Os métodos de determinação de acidez volátil mais difundidos são aqueles baseados no arraste dos ácidos voláteis do vinho por meio de uma corrente de vapor, ou aquele baseado na destilação. O primeiro método consiste na extração total dos ácidos voláteis, o segundo, por sua vez, representa uma extração parcial.

A acidez volátil é determinada pelo aparelho Cazenave-Ferre equipado com coluna de refrigeração de 40 cm (ANEXO 1, Figura 4).

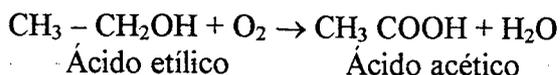
A acidez volátil, ainda pode ser determinada por cromatografia gasosa (ANEXO 1, Figura 2), com detector de ionização de chama (RIZZON, 1991).

#### 1.10.1.1.-Ácido acético – CH<sub>3</sub> – COOH

É um líquido, volátil, incolor, solidifica por resfriamento em uma massa cristalina de cor branca. A mistura de ácido acético e água acontece com redução de volume.

O ácido acético é o constituinte principal da acidez volátil dos vinhos, que interfere nos processos de produção e de conservação do vinho. Um teor elevado de ácido acético tem um efeito negativo na qualidade do vinho, tornando-o inadequado ao consumo (RIZZON, 1987).

Há hipótese que durante a fermentação este ácido se forma do álcool etílico por oxidação segundo o esquema:



Nos vinhos atacados pela acetificação há formação de ácido acético a partir do álcool etílico por oxidação biológica (*Acetobacter*). A fermentação malolática do ácido cítrico produz ácido acético. Também a “volta” (tombola) origina ácido acético a partir do ácido tartárico (RIZZON, 1994).

Em função da quantidade que este ácido é encontrado no vinho pode-se indicar valores limites devido a relação existente entre o estado de sanidade do vinho e este componente.

Possui peso molecular de 60,05 g, o ponto de fusão de 16,55°C e ebulição de 118°C, e densidade relativa a 20/4°C de 1,049 (PARONETTO & PARONETTO, 1996).

#### 1.10.1.2.- Ácido fórmico – H – COOH

O ácido fórmico puro é incolor e de cheiro pungente. É miscível em todas as proporções com água, álcool e ésteres. A diferença dos outros ácidos graxos é que apresenta enérgicas propriedades redutoras.

Segundo autores, o ácido fórmico é um subproduto final da fermentação alcoólica. Sendo que outros autores afirmam, no entanto, que seria um derivado da decomposição de certos aminoácidos (leucina), ou também da decomposição da glicerina por meio da *Bacterium intermedium*.

A quantidade presente no vinho varia entre 23 a 90 mg/L. Foi constatado que o ácido fórmico é formado em maior quantidade no vinho doce que sofreu tratamento a quente, por isso, erroneamente foi atribuído teores elevados de ácido fórmico aos vinhos doces, não existindo correlação entre a acidez volátil e o teor de ácido fórmico.

Os mostos apresentam o mesmo teor de ácido fórmico que os vinhos. Na fermentação o ácido fórmico sofre um leve aumento do teor inicial e depois uma redução.

Possui peso molecular de 46,02 g, ponto de fusão de 8,4°C e ebulição de 100,8°C. A densidade relativa a 20/4°C de 1,220 (PARONETTO & PARONETTO, 1996).

#### 1.10.1.3.- Ácido propiônico – CH<sub>3</sub> – CH<sub>2</sub> - COOH

É um líquido muito semelhante ao ácido acético. Os seus ésteres apresentam característico aroma de fruta. Encontra-se em concentrações mais elevadas nos vinhos atacados pela “volta” (tombola), com cerca de 0,19 a 0,39 g/L.

*Saccharomyces elegans* se caracteriza por produzir grandes quantidades de ácido propiônico.

Pode ser originado durante a fermentação malolática pela descarboxilação do ácido succínico, ou na fermentação alcoólica pelo metabolismo protéico das leveduras. É importante uma concentração baixa desse ácido, devido ao aroma desagradável que apresenta.

Possui peso molecular igual a 74,08 g, ponto de fusão a -20,8°C e de ebulição de 141,4 °C, e densidade relativa a 20/4°C de 0,9930 (PARONETTO & PARONETTO, 1996).

#### 1.10.1.4.- Ácido butírico – CH<sub>3</sub> – CH<sub>2</sub> – CH<sub>2</sub> - COOH

É um líquido oleoso, com cheiro desagradável de ranço. É solúvel na água, álcool e éter. Forma sais cristalizados pouco solúveis.

É encontrado nos vinhos que apresentam alguns problemas, na proporção de 40 a 50 mg/L. Nos vinhos normais aparece somente em quantidade muito pequena.

O nível de percepção do ácido butírico se encontra acima do teor normalmente encontrado no vinho. É difícil diferenciar menos de 9,0 mg/L de ácido butírico e isobutírico nos vinhos brancos e 8,5 mg/L nos vinhos tintos.

Possui peso molecular igual a 88,10 g; ponto de fusão a -5,5°C e de ebulição de 164,1 °C e densidade relativa a 20/4°C de 0,958 (PARONETTO & PARONETTO, 1996).

#### 1.10.1.5.- Ácido láctico.- CH<sub>3</sub> – CHOH – COOH

É um líquido denso, solúvel em água, álcool e éster. Sob ação de algumas leveduras o ácido láctico se transforma, por desidrogenação, em ácido pirúvico. Ao contrário, por hidrogenação e sob a ação de certas diastases, forma-se ácido láctico a partir do pirúvico.

O ácido láctico é encontrado no vinho, mas não está presente na uva e no mosto.

A presença do ácido láctico no vinho é devido à fermentação malolática, também conhecida por retrogradação biológica da acidez fixa do vinho, uma vez que a passagem de um ácido biácido (málico) para um monoácido (láctico) resulta numa redução da acidez total.

O ácido láctico pode ser formado também durante a fermentação alcoólica pelas leveduras, e nos vinhos alterados pela fermentação láctica dos açúcares, do ácido tartárico, da glicerina e de outros componentes do vinho. Em condições normais formam-se apenas alguns décimos de grama por litro.

Em princípio as leveduras formam durante a fermentação alcoólica D(-) láctico e somente traços de L(+). As condições de fermentação influem na produção global de ácido láctico, mas não modificam a proporção destes dois isômeros.

A relação entre o ácido málico e o láctico é de 1:0,672; na prática 1:0,50 a 1:0,65, o que explica uma redução de acidez de 35% a 50 %.

O ácido láctico é um constituinte normal das bebidas fermentadas, embora a sua configuração ótica exata somente tenha sido determinada recentemente. A formação de ácido láctico na fermentação alcoólica do mosto de uva acontece normalmente, no entanto o teor é baixo.

Os vinhos que não sofreram a ação bacteriana possuem pouco ácido láctico, entre 500 a 600 mg/L, constituído de 60 a 90% do isômero D(-). No entanto, nos vinhos em que o ácido láctico provém da fermentação malolática, o que aparece em concentração mais elevada é o L(+) que pode representar 75% do ácido láctico total. Assim a fermentação malolática origina unicamente L(+) láctico e a fermentação láctica dos açúcares (hexoses) conduz a formação do D(-) láctico.

Portanto, quando o vinho provém de uma fermentação alcoólica pura ele possui, sobretudo ácido D(-) láctico; logo que foi submetido a fermentação malolática contém sobretudo ácido L(+) láctico. Assim, no caso dos vinhos em que as bactérias degradam os açúcares (fermentação manítica), a quantidade de ácido láctico D(-) é maior.

Possui peso molecular igual a 90,08 g, ponto de fusão a 16,8°C e de ebulição de 122 °C e densidade relativa de 1,24 (PARONETTO & PARONETTO, 1996).

#### 1.10.1.6.- Ácido isovalérico – 3 – metil butírico - $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_3)\text{-HC-H}_2\text{C-COOH}$

Teor encontrado no vinho de 2,0 a 3,0 mg/L. O nível de percepção do ácido isovalérico é, portanto, próximo àquele encontrado no vinho, que é de 1,8 mg/L para vinhos brancos e 3,0 mg/L para tinto.

É um ácido com número ímpar de carbono na molécula, constituindo exceção entre os ácidos naturais. É incolor, solúvel em água, etanol e éter etílico.

#### 1.10.1.7.- Ácido isobutírico - $\text{CH}_3(\text{CH}_3)\text{-CH-COOH}$

Nível de percepção igual a 9,0 mg/L nos vinhos brancos e 8,5 mg/L nos tintos.

### 1.10.2.- Ácidos graxos livres

Entre os ácidos graxos livres presentes no vinho podemos destacar o ácido hexanóico (ácido capróico), ainda podemos citar o ácido octanóico (ácido caprílico), ácido decanóico (ácido capríco) e o ácido dodecanóico (ácido laúrico).

#### 1.10.2.1.- Ácido hexanóico - Ácido capróico - $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$

O nível de percepção é de 10,5 mg/L para vinhos brancos e 17,5 mg/L para tintos, portanto valores muito acima daqueles encontrados nos vinhos.

Possui ponto de ebulição em 205°C (PARONETTO & PARONETTO, 1996).

## 2. COMPOSTOS FIXOS DO VINHO

### 2.1.- ÁCIDOS ORGÂNICOS

#### 2.1.1.- Ácido L (+) tartárico - (Ácido 2,3 di-hidróxido succínico) - $\text{COOH-CHOH-CHOH-COOH}$

O ácido tartárico é um ácido raro na natureza, pois é produzido pela videira e pelo gerânio. É um ácido orgânico forte. A sua acidez equilibra o gosto doce do álcool do vinho. É um ácido estável, pois não é degradado pelas bactérias, no entanto, pode ser degradado pela bactéria da “volta” (tombola).

É encontrado na uva, tanto no estado livre como salificado. Está presente em maior quantidade na uva pouco madura.

Durante ou após a fermentação alcoólica o ácido tartárico precipita na forma de tartarato monopotássico (tartarato das pipas), pois é pouco solúvel em soluções hidroalcoólicas.

Em parte se deposita nas paredes dos recipientes vinários e nas borras, e constituem uma das principais fontes de extração do ácido tartárico.

O ácido tartárico é um constituinte normal do mosto e do vinho, onde se encontra no estado livre ou na forma de bitartarato de potássio. É o principal ácido do vinho.

A adição de ácido tartárico é o tratamento que menos altera a composição e as características do vinho. Teoricamente a adição de 1, 2 ou 3 g/L de ácido tartárico, deveria provocar um aumento correspondente na acidez fixa do vinho (expressa em ácido tartárico); no entanto, na prática isto não acontece uma vez que parte do ácido tartárico adicionado precipita na forma de bitartarato de potássio e de cálcio. A adição de 1,5 g/L de ácido tartárico diminui o pH de 0,2 unidades (em vinhos com poder tampão médio de 40). Devido a isso, não é possível calcular o aumento da acidez correspondente a uma determinada adição de ácido tartárico. O nível de precipitação está relacionado a fatores químicos, tais como: composição do vinho, teor de álcool, grau de acidez, teor de sais potássicos, além dos fatores físicos: temperatura, agitação entre outros.

A adição de ácido tartárico ao vinho, mesmo em pequenas quantidades, induz a uma precipitação do cremor de tártaro, que oscila ao redor de 20% do ácido tartárico adicionado quando os teores variam entre 0,1 e 2,0 g/L. Ao chegar a 37% a dose de ácido tartárico adicionada alcança 5,0 g/L.

A precipitação do ácido tartárico na forma de bitartarato está relacionada com o tempo e a temperatura. Uma redução na temperatura induz a uma maior precipitação de bitartarato.

Alguns pesquisadores que estudaram a influência da adição de ácido tartárico em comparação com o ácido cítrico no vinho mostraram que a adição de ácido tartárico favoreceu uma fermentação mais completa, o teor de acidez volátil foi menor, o bitartarato de potássio aumentou no mosto tratado com ácido tartárico, a adição provocou um aumento da intensidade de cor nos vinhos tintos.

Para aumentar 1% da acidez do vinho é necessário adicionar 2 g/L no mosto clarificado e 4 g/L no mosto turvo.

O ácido tartárico aumenta a acidez do vinho, mas não na proporção da quantidade adicionada, visto que uma parte precipita na forma de cremor de tártaro; em geral, nos vinhos obtidos de mostos fermentados sem a presença da parte sólida, o ácido tartárico permanece em maior quantidade.

Os vinhos tintos elaborados com a presença da parte sólida, por liberarem certa quantidade de potássio que se combina com o ácido tartárico, possuem menor teor de ácido tartárico.

O bitartarato de potássio aumenta até quando for adicionado de 4 a 6 g/L de ácido tartárico, diminuindo a seguir pela redução da solubilidade do cremor de tártaro na presença de quantidades elevadas de ácido tartárico livre.

No que se refere a resistência as doenças, observou-se que a flor do vinho forma-se com maior facilidade quando há menor teor de ácido tartárico. Por isso em safras deficientes, quando a acidificação é necessária, deve-se de preferência ser feita no mosto, antes da fermentação. Deste modo, o aumento da acidez total e redução do pH aumenta a eficiência do dióxido de enxofre, protegendo o mosto do desenvolvimento de bactérias, além de favorecer a intensidade de cor.

O pH de 3,63 é aquele em que ocorre a maior precipitação de bitartarato de potássio.

Os vinhos tratados com ácido tartárico se caracterizam por apresentar teores baixos de alcalinidade das cinzas.

De modo geral, devem ser considerados impróprios para o consumo os vinhos que apresentam menos de 0,75 g/L de ácido tartárico. Nessa concentração o vinho é considerado sem nenhum frescor (chafo). Contrariamente, em doses elevadas o ácido tartárico confere ao vinho dureza.

Entre os sais do ácido tartárico que apresentam particular importância enológica, devido ao fato de serem pouco solúveis, estão o bitartarato de potássio ou cremor e o tartarato neutro de cálcio.

Com relação as precipitações que ocorrem nos vinhos, com exceto o ácido mucico que se encontra em casos particulares nas uva atacadas pela podridão e que apresenta um sal de cálcio pouco solúvel, o ácido tartárico é o único ácido orgânico que apresenta problemas de estabilidade para o vinho devido seus sais serem pouco solúveis.

O ácido tartárico é o ácido mais forte da uva e é típico deste tipo de fruto, em solução aquosa apresenta os seguintes valores de  $pK_1 = 3,04$  e  $pK_2 = 4,37$ , anteriormente era designado como ácido úvico. É encontrado em todas as partes da uva: 1 kg de folhas secas contém 13 a 16 g de ácido tartárico.

O ácido tartárico encontra-se no mosto na forma combinada (tartarato de potássio e tartarato de cálcio e magnésio) e em parte no estado livre. No primeiro período de crescimento da uva predomina a forma livre, a partir do início da maturação aumenta a quantidade de ácido tartárico na forma salificada e diminui a forma livre. Há um aumento brusco do bitartarato na maturação especialmente se as chuvas abundantes tornam ativas

0:263.610-1

nas plantas as trocas minerais com o solo. Em tais condições se observa uma diminuição da acidez livre, que é devido muitas vezes ao desaparecimento do ácido málico, e também a neutralização causada pela presença de bases. De modo geral, a quantidade total de ácido tartárico (livre ou condicionado) sofre poucas variações durante a maturação.

O ácido tartárico apresenta-se na forma de grandes cristais transparentes, solúvel na água e no álcool. Ponto de ebulição a 170°C e peso específico de 1,7594. A sua solução aquosa apresenta rotação positiva no plano da luz polarizada; no entanto, a rotação diminui com o aumento da concentração e com a diminuição da temperatura de modo que se pode obter em soluções frias saturadas rotação negativa (levógiro). Também os sais do ácido tartárico são negativos.

A quantidade de ácido tartárico encontrado nos mostos é muito variável. Como já foi dito, uma parte do ácido tartárico do mosto se encontra na forma salificada. Entre estes sais, o mais importante é o sal do potássio, conhecido por bitartarato de potássio ou cremor de tártaro. Nos terrenos calcáreos pode-se formar também tartarato de cálcio.

O tartarato ácido de potássio tem peso molecular de 188 g, cristaliza em cristais rombicoides transparentes, inodores, de sabor ácido e com um peso específico de 1,943. Na calcificação deixa um resíduo branco de carbonato de potássio.

Este sal é pouco solúvel na água e menos ainda no álcool e insolúvel no éter. Na água e no álcool forma com facilidade soluções sobre-saturadas, das quais pode se obter uma rápida cristalização devido à rápida mudança do estado físico da solução (por exemplo, resfriamento brusco, adição de cristais de bitartarato).

No mosto pode ser observado a formação de cristais de bitartarato. Isto acontece porque se mistura o mosto de diversas partes do cacho que, como se sabe, apresentam composição química diversa.

A quantidade de bitartarato que passa na solução do mosto depende do teor deste sal na uva e também da temperatura em que é efetuado o esmagamento da uva.

Uma vez que a solubilidade do bitartarato no álcool é muito inferior à água pura, o mosto apresenta uma quantidade próxima ao teor máximo de saturação. Neste sentido, na fermentação alcoólica devido a formação do álcool, uma parte do bitartarato se deposita, acontecendo uma desacidificação física.

Em relação aos demais sais do ácido tartárico, o tartarato neutro de cálcio é muito pouco solúvel em água, um pouco mais solúvel nas soluções ácidas, nos mostos e nos vinhos. Deposita-se nos vinhos juntamente com o cremor quando durante a vinificação, não forem praticados tratamentos especiais tais como fosfatagem ou gessagem, que contribuem aproximadamente com 10% das substâncias tartáricas totais das borras.

O tartarato neutro de potássio, ao contrário daquele ácido, é relativamente solúvel em água, sua presença é, antes de mais nada, excepcional. Em presença de sais ácido tartárico origina o bitartarato. A presença de sais de cálcio, do ácido tartárico e de outros sais orgânicos pouco dissociados provoca uma retrogradação da dissociação dos ácidos, devido ao poder tampão do vinho, uma vez que diluindo-o o seu pH diminui.

### 2.1.1.- Ácido málico - $\text{COOH-CHOO-CH}_2\text{-COOH}$

O ácido málico da uva é o ácido L(-). Também é um biácido que na água apresenta duas constantes de dissociação,  $\text{pk}_1 = 3,46$  e  $\text{pk}_2 = 5,13$ .

Apresenta-se sob a forma cristalina ou como pó branco cristalino e inodor. É muito solúvel em água e álcool.

É encontrado no mosto provavelmente no estado livre, sendo menos forte, isso é, menos dissociado que o ácido tartárico. O ácido málico, diferente do ácido tartárico, não sofre variação devido ao efeito do álcool na insolubilização dos sais. O caráter ácido de muitos vinhos jovens é devido ao ácido málico (RIZZON *et al.*, 1988).

O ácido málico está muito difundido na natureza e diferentemente do ácido tartárico não sofre muitas variações pela formação do álcool na fermentação, nem devido a precipitação dos seus sais, que são muito solúveis. No entanto, no vinho o ácido málico é degradado por bactérias específicas que em determinadas condições podem agir simultaneamente com as leveduras. Na fermentação malolática ocorre a transformação do ácido málico em ácido láctico (RIZZON *et al.*, 1988).

O ácido málico é o principal ácido de muitas frutas. Sua dosagem é importante, pois ele diminui devido a respiração da uva, na fermentação malolática de vinhos, pela ação das bactérias. Como contribui para definir o estado de maturação da uva, interfere na qualidade do vinho.

O caráter ácido dos vinhos produzidos em estações do ano com temperaturas menores é devido ao ácido málico.

Desde a uva verde até o vinho pronto, devido as etapas de maturação da uva, da fermentação alcoólica e malolática, o teor de ácido málico sofre uma série de reduções chegando quase a zero nos vinhos não sulfitados.

A desacidificação do vinho resultante da fermentação malolática é geralmente buscada devido a suavidade que causa no vinho jovem. O gás carbônico se desprende e a acidez total é reduzida à metade em relação ao teor de ácido málico, expresso em meq/L.

O ácido málico na uva é encontrado, além da baga, nas folhas e nos cachos verdes. E nos países setentrionais pode constituir o componente quantitativamente mais importante da acidez do mosto. Foi visto que a quantidade deste ácido cresce na baga até o início da maturação, ponto em que inicia a diminuição, uma vez que o ácido málico é mais facilmente oxidável que o ácido tartárico. A oxidação é favorecida especialmente por uma temperatura elevada, o que explica porque na uva dos países meridionais predomina o ácido tartárico.

Uma vez que o ácido málico não se insolubiliza durante a fermentação, como o ácido tartárico na forma de bitartarato de potássio, é responsável pelo estabelecimento da acidez de um mosto, e pode dar indicações úteis no que se refere a acidez do vinho.

Caso um mosto apresente alta acidez, devido, principalmente ao ácido tartárico, depois da fermentação e que o vinho foi submetido a ação do frio, essa acidez deverá diminuir consideravelmente. Ao contrário, se a acidez elevada for devido ao ácido málico, será conveniente praticar imediatamente um tratamento para desacidificação.

O ácido málico possui um átomo de carbono assimétrico e pode originar três isômeros: o ácido levógiro, dextrógiro e racêmico. Aquele que se encontra nos frutos é o levógiro (L), que possui peso molecular de 134 g, cristaliza em alguns minutos, é deliqüescente, solubilíssimo em água, solúvel em álcool e pouco solúvel em éter.

O poder rotatório está relacionado com a concentração. As soluções diluídas de ácido málico são levógiras. A rotação diminui fortemente com o aumento da concentração, sendo nula com uma concentração de 34%.

### 2.1.3.- Ácido cítrico - $C_6H_8O_7$

Nos vinhos é encontrado em teores que variam de 0 a 500 mg/L. Possui peso molecular igual a 192,13 g, que quando hidratado passa para 210,14 g.

O ácido cítrico é muito difundido no reino vegetal, no mosto de muitas frutas especialmente nos cítricos. Nos limões a porcentagem de ácido cítrico é de 5 a 6%.

O ácido cítrico é encontrado naturalmente em pouca quantidade nos mostos e nos vinhos. Mas se provenientes de uvas atacadas por *Botrytis*, apresentam teores mais elevados. A quantidade de ácido cítrico encontrado nos vinhos brancos geralmente é mais elevada que aquela dos vinhos tintos.

O problema de utilização em enologia do ácido tartárico ou do ácido cítrico para a acidificação foi muito discutido pelos técnicos tanto sob o ponto de vista técnico como econômico.

Sob o ponto de vista técnico, o ácido cítrico apresenta, em relação ao ácido tartárico, um maior poder acidificante. A adição de 97,33 g de ácido cítrico por hL aumenta a acidez fixa de 1‰ (por mil). No que se refere a parte não salificada deve-se levar em consideração que o ácido cítrico é trivalente enquanto que o ácido tartárico é bivalente.

A escolha do ácido tartárico ou do ácido málico para acidificar os vinhos é devido ao comportamento diferente em relação às combinações e precipitações que ocorrem.

- Ácido cítrico adicionado é totalmente dissolvido no vinho não precipitando na forma de citrato;

- A quantidade de bitartarato de potássio não sofre nenhuma variação;

- A intensidade corante aumenta na proporção direta da quantidade de ácido adicionada.

A adição de 2,0 g/l de ácido tartárico, por sua vez provocou uma precipitação de 52,7% do mesmo no mosto vinificado em branco e de 73,75% no mosto com a parte sólida.

A presença de ácido cítrico no vinho não é sempre segura e duradoura. O desenvolvimento das bactérias que degradam o ácido cítrico é muito facilitada por uma baixa acidez e por um elevado pH. O ácido cítrico começa a ser atacado quando o ácido málico é quase completamente degradado e a sua transformação em ácido acético não é completa.

Deve-se por isso ser prudente no emprego do ácido cítrico, pois ele pode favorecer um aumento da acidez volátil.

A vantagem da utilização do ácido cítrico em relação ao tartárico é que ele favorece a dissolução dos sais ao contrário do ácido tartárico que facilita a sua precipitação.

Outra vantagem é a sua ação sobre as alterações do vinho devido ao ferro. Neste sentido, o ácido cítrico complexa o ferro férrico na forma de ânion solúvel. Em geral é suficiente para evitar a casse fêrrica, a adição de 10 g/hL de ácido cítrico; no entanto, para se obter resultados mais seguros a quantidade a adicionar deve ser de 30 g/hL.

Devido a constante de dissociação do ácido cítrico, ele dificulta a precipitação do tartarato de potássio. Por essas características o ácido cítrico é considerado, não um acidificante verdadeiro, mas um corretivo da energia ácida (pH) e um estabilizante.

Na França o ácido cítrico é o único que pode ser adicionado ao vinho. Muitos países não aceitam em seus vinhos teores de ácido cítrico superiores a 500 mg/L. No entanto, certos vinhos licorosos de Sauternes apresentam naturalmente entre 0,8 a 1,0 g/L de ácido cítrico.

A presença deste ácido no vinho e no mosto foi muito discutido ultimamente, principalmente porque não havia um método seguro para a sua determinação.

O ácido cítrico foi descoberto no suco de limões onde se encontra em grande quantidade. É encontrado ainda em muitas outras frutas além do mosto e do vinho.

É conhecido sob a forma de anidro e hidratado. A primeiro funde a 153°C e a segundo a 100°C; o ácido cítrico do comércio é aquele hidratado. Cristaliza em grandes cristais

rombicos, incolor, com uma molécula de água que se perde a 153°C. Quando é puro é inalterável no ar. Possui densidade de 1,542.

Apresenta um gosto ácido mais agradável que aquele do ácido tartárico. O seu uso em enologia é devido a esta propriedade, além de que no vinho não precipita parcialmente, como acontece com o ácido tartárico.

#### 2.1.4.- Ácido succínico - $\text{COOH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

O teor encontrado nos vinhos em geral é de 500 a 1500 mg/L. É encontrado em pequenas quantidades na uva, no entanto é um componente normal no vinho. É considerado um ácido proveniente da fermentação alcoólica.

Possui peso molecular de 118,09 g.

#### 2.1.5.- Ácido citramálico - $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5 - \text{COOH} - \text{COH}(\text{CH}_3) - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

Está presente nos vinhos entre 100 a 250 mg/L. O ácido citramálico era dosado como ácido cítrico, fato que explica porque muitas vezes era encontrado teores elevado nos vinhos.

Possui peso molecular de 148,12 g.

#### 2.1.6.- Ácido dimetil glicérico - $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_4 - \text{COOH} - \text{COH}(\text{CH}_3) - \text{HCOH} - \text{CH}_3$

Está presente nos vinhos entre 100 a 500 mg/L. O ácido dimetil glicérico é formado na fermentação alcoólica.

Possui peso molecular de 134,13 g.

#### 2.1.7.- Ácido ascórbico - (E 300, Vitamina C) $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$

O ácido ascórbico está presente na uva em um teor de 50 a 100 mg/kg, e desaparece durante a vinificação. A adição de ácido ascórbico é autorizada em muitos países, provavelmente para que no vinho esteja presente certa quantidade de vitamina C, e assim, agregando valor ao produto.

Possui peso molecular de 176,124 g.

#### 2.1.8.- Ácido galacturônico - $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7 - \text{CHO} - \text{HCOH} - \text{HOCH} - \text{HOCH} - \text{HCOH} - \text{COOH}$

Está presente nos vinhos em uma concentração de 40 a 1000 mg/L. O ácido galacturônico provém da hidrólise das pectinas pela galacturonase.

#### 2.1.9.- Ácido glicurônico - $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7 - \text{CHO} - \text{HCOH} - \text{HOCH} - \text{HCOH} - \text{HCOH} - \text{COOH}$

Está presente nos vinhos numa concentração que varia entre 0 a 600 mg/L. O ácido glicurônico é um produto da oxidação enzimática da glicose.

Possui peso molecular de 194,14 g

### 2.1.10.- Ácido glicônico - $C_6H_{12}O_7$ - $COOH-HCOH-OHCH-HCOH-HCOH-CH_2OH$

É um ácido de vinhos atacados por *Botrytis sp.*

O ácido glicônico provém da oxidação da função aldeídica devido a ação de uma enzima presente nas uvas "botrytisadas".

Este ácido é formado em pequena quantidade pelo *Botrytis cinerea*.

Certas bactérias acéticas formam o ácido glicônico e outros derivados cetônicos.

O ácido glicônico não é fermentescível, por isso é encontrado integralmente no vinho. A sua presença permite caracterizar os vinhos licorosos provenientes de uvas atacadas pela podridão nobre.

Segundo os resultados de RIBÉREAU-GAYON *et al.* (1982), os mostos provenientes das mesmas apresentam menos de 120 mg/L de ácido glicônico. Os vinhos tintos atacados de casse oxidaria (oxidação e turvação do mosto e do vinho), o que comprova a participação importante de uvas atacadas pela podridão, possuem até 0,31 g/L de ácido glicônico. Os vinhos brancos secos elaborados com uvas que apresentam um início de ataque de podridão apresentam de 0,29 a 0,82 g/L de ácido glicônico, enquanto que os vinhos licorosos elaborados com uvas atacadas pela podridão nobre apresentam de 0,5 a 2,5 g/L.

### 2.1.11.- Ácido mucico - $C_6H_{10}O_8$ - $COOH-HCOH-HOCH-HOCH-HCOH-COOH$

Está presente nos vinhos em uma concentração de 0 a 500 mg/L.

O ácido mucico é formado pela oxidação enzimática das pectinas e do ácido galacturônico. A presença do ácido mucico no vinho foi constatada através da identificação de cristais do seu sal de cálcio (mucato de cálcio) que se formam durante o envelhecimento na garrafa. Esses cristais aparecem somente nos vinhos provenientes das uvas atacadas pela podridão, especificamente no caso da podridão nobre. (Pode-se encontrar até 2,0 g/L de ácido mucico por litro de mosto de uva com podridão.) A quantidade de ácido mucico encontrada no vinho, depositado na forma de cristais de mucato de cálcio, é variável de 80 a 430 mg/L. O seu peso molecular é de 210,14 g.

## 2.2.- COMPOSTOS FENÓLICOS

Os ácidos fenólicos constituem uma das quatro principais famílias de compostos fenólicos presentes no vinho, com uma importância correspondente às suas características ácidas (pH muito elevado, nula contribuição para a acidez real), às suas propriedades biológicas (propriedades anti-sépticas, por exemplo), às suas propriedades organolépticas (sápidas, adstringência e dureza) e aos valores das concentrações em que se encontram presentes, que, segundo RIBÉREAU-GAYON *et al.* (1982), para os vinhos tintos a concentração é de 50 a 100 mg/L e em vinhos brancos de 1 a 5 mg/L, quer para ácidos benzóicos, quer para os ácidos cinâmicos, os dois grupos de ácidos fenólicos presentes.

Os vinhos contêm sete ácidos benzóicos (p-hidroxibenzóico, protocatéquico, vanílico, gálico, siríngico, salicílico e gentísico) e três ácidos cinâmicos (para-cumárico, caféico e ferúlico), com concentrações variando de 0,1 a 30 mg/L.

Encontram-se presentes na uva, sob forma de combinações de tipo éster; a natureza destas combinações não é ainda completamente conhecida. No caso dos ácidos benzóicos, os ácidos cinâmicos encontram-se sob forma de combinações com as antocianinas e com o ácido tartárico.

Durante a vinificação e a conservação dos vinhos, verifica-se uma hidrólise destas combinações, originando a presença destes ácidos, nos estados livre e combinado.

A dissolução e a transformação dos compostos fenólicos variam em função da composição e estado fitossanitário das uvas, tratamentos mecânicos, quantidade de SO<sub>2</sub>, condições de vinificação (temperatura e arejamento), das leveduras, e principalmente pelo tempo de maceração das películas (RIZZON, 1985).

Nos vinhos, os compostos fenólicos variam desde compostos relativamente simples, produzidos pela videira, até substâncias mais complexas como os taninos, sendo estes extraídos dos barris dos engaços e das sementes, que fermentam junto ao mosto, durante o envelhecimento, proporcionando, juntamente com as antocianinas, cor ao vinho, tem sabor adstringente; são uma reserva para redução do oxigênio e dão origem ao escurecimento do substrato (AMERINE & OUGH, 1976).

As sementes da uva são ricas em taninos condensados que, envolvidos em aspectos da qualidade, afetam cor e flavor dos vinhos e talvez o escurecimento oxidativo da uva; no entanto, o papel e o efeito dos compostos fenólicos de baixo peso molecular, em algumas características do vinho, só foram demonstrados nos últimos anos (OSZMIANSKI & SAPIS, 1989).

Os compostos fenólicos são um grupo heterogêneo de substâncias, constituído de várias classes de compostos. Entre estas, estão os fenóis ácidos benzóicos, cinâmico e seus ésteres do ácido quínico (por exemplo, ácido clorogênico), flavan-3-óis (catequinas, epicatequinas), flavan-3,4-dióis (leucoantocianidinas), flavonóis e flavonol-glicosídeos, taninos de alto peso molecular e, nos vinhos tintos, cianinas (WULF & NAGEL, 1976; USSEGLIO-TOMASSET, 1989).

Compostos fenólicos são particularmente importantes em enologia; presentes principalmente nas partes sólidas da uva, eles contribuem à qualidade organoléptica dos vinhos (flavor, adstringência), são importantes na higiene de alimentos (bactericidas) e são elementos essenciais na evolução de um vinho (SALAGOÏTY-AUGUSTE & BERTRAND, 1984).

A maior porção dos constituintes fenólicos do grão de uva localiza-se na casca, sementes e tecido vascular. Exceção são as cultivares tintórias, que tem antocianinas tanto na polpa como na casca (SOMERS & ZIEMELIS, 1985). Segundo SINGLETON (1987), os fenóis são principais substratos do oxigênio nos vinhos, seu conteúdo total é uma medida de capacidade de captação de oxigênio e da habilidade de resistir a oxidação. Esta oxidação pode ser de origem enzimática ou não-enzimática, sendo que a diferença entre ambas está na grande velocidade com que a primeira ocorre, em relação a segunda, no pH do vinho.

Os principais compostos responsáveis pelo amargor e adstringência, são a (+)catequina, a (-)epicatequina e as procianidinas. Taninos da semente são mais adstringentes do que amargos; o contrário foi encontrado para seus respectivos monômeros, não ficando claro, no entanto, se catequinas seriam sensorialmente adstringentes (ROBICHAUD & NOBLE, 1990, THORNGATE, 1993).

Nos vinhos tintos, os compostos fenólicos são importantes por seus efeitos sensoriais e por sua contribuição a cor. Entretanto sua análise como grupo é complicada pela necessidade de separá-los em diferentes classes químicas, exigindo tratamentos de pré-purificação da amostra (LAMUELA-RAVENTÓS & WATERHOUSE, 1994).

A extração de compostos fenólicos é um processo de difusão, depende da composição da fase líquida e dos locais nos quais os fenóis estão retidos. Com o contato entre o mosto e as partes sólidas da uva, antes da fermentação alguns fenóis passam das partes sólidas para a fase líquida; no entanto, a maior parte é extraída na presença de etanol durante a fermentação. Assim, a extração de fenóis dos sólidos da uva depende de fatores varietais como a natureza do fenol, o estado de amadurecimento do grão, a localização do fenol no grão, de fatores ambientais e das técnicas de vinificação utilizadas (Di STEFANO, 1995).

Em cultivares brancas, compostos fenólicos permitiram a diferenciação entre as cultivares providas da mesma região geográfica (PRESA-OWENS *et al.*, 1995).

A comparação de quatro frações fenólicas do vinho quanto a sua habilidade de precipitar proteínas, mostrou que um aumento no grau de polimerização de taninos aumenta a turbidez (YOKOTSUKA & SINGLETON, 1987).

As concentrações de fenóis totais e poliméricos são muito variáveis entre cultivares e entre tecidos; sementes contêm as maiores e mais uniformes concentrações de fenóis poliméricos, enquanto pecíolos e folhas têm concentrações similares e, cascas têm as menores e mais variáveis concentrações (KANTZ & SINGLETON, 1990).

A matéria corante dos vinhos é formada por um conjunto de compostos fenólicos; a definição química destas moléculas é importante por nos permitir precisar o papel que desempenham no vinho, e orientar novas tecnologias para a melhoria das técnicas de vinificação (HECKTHEUER, 1996). A Tabela 10 apresenta concentrações dos principais tipos de compostos fenólicos presentes no vinho de mesa jovem.

Tabela 10: Principais tipos de compostos fenólicos presentes em vinhos de mesa jovem.

Componentes fenólicos	Vinho branco (mg/L)	Vinho tinto (mg/L)
Não-flavonóides totais	165	200
Ácido caféico e compostos relacionados	140	140
Taninos hidrolizáveis	0	0*
Outros	25	60
Flavonóides totais	35	1000
Antocianinas	0	400
Taninos condensados e outros compostos poliméricos	5	500
Outros	30	100
<b>Fenóis totais</b>	<b>200</b>	<b>1200</b>

\* 250 mg/L depois do contato com o carvalho. Fonte: SINGLETON (1996).

PARODI (1999) agrupa os compostos fenólicos do vinho nas seguintes classes apresentada na Tabela 11: fenóis ácidos e seus derivados, flavonóides, antocianinas e taninos.

Os compostos fenólicos acumulam-se, no mosto em fermentação, durante os primeiros três a oito dias de maceração, devido a extração das partes sólidas da uva. Neste estágio, as

leveduras consomem todo o oxigênio disponível, protegendo os fenóis da oxidação (CHEYNIER *et al.*, 1997).

Tabela 11: Compostos fenólicos presentes na uva e no vinho.

<b>Compostos fenólicos</b>		
Fenóis ácidos e seus derivados	Ac. Benzóico Ac. Cinâmico	
Flavonóides	Flavonóis	
Antocianinas	Cianidina Peonidina Delfinidina Petunidina Malvidina	
Taninos	Hidrosolúveis ou Elágicos	Galotaninos Elagitaninos
	Condensados ou Catéquicos	Catequina - Epicatequina (unidade básica) Procianidinas (dímeros-trímeros-oligoméricas) Poliméricos (procianidinas condensadas)

Fonte: PARODI (1999).

### 2.2.1.- Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos podem ser classificados por alguns autores como não-flavonóide, e é formado pelos menores fenóis da uva e do vinho, principalmente derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico; são essencialmente compostos do mosto, e são similares em vinhos tintos e brancos. Extraídos da madeira, durante o envelhecimento, o conteúdo destes compostos do vinho aumenta e, a capacidade de escurecimento dos vinhos brancos é maior quando o conteúdo de ácidos fenólicos é alto (MYERS & SINGLETON, 1979)

#### 2.2.1.1.- Ácidos benzóicos

Entre os ácidos benzóicos encontrados no vinho e na uva, podemos encontrar o ácido gálico, ácido protocateico e o ácido benzóico.

Os derivados do ácido benzóico estão localizados na película da uva. Nos vinhos formam compostos da função éster, de natureza desconhecida. Seu teor nos vinhos tintos varia de 50 a 100 mg/L, e nos brancos de 1 a 5 mg/L.

#### 2.2.1.2.- Ácidos cinâmicos

Podemos detectar a presença desse tipo de ácido fenólico nos vinhos, onde os de maior importância são: ácido para-cumárico, ácido caféico e o ácido ferúlico.

### 2.3.- Flavonóides

Os flavonóides apresentam-se nos mais variados estados de oxidação: flavanonas, flavanóis, flavonas, leucoantocianinas, antocianinas e flavonóis. Em particular, a partir dos flavan-3óis e flavan-3,4-dióis são derivados os taninos condensados, capazes de modificar a cor e sabor do produto final (RAPP *et al.*, 1977).

Flavonóides são encontrados primariamente nas cascas, pecíolos e sementes da uva; entretanto, teores apreciáveis de flavonóides são encontrados em vinhos, difundidos dos sólidos, quando uvas esmagadas são retiradas anteriormente a prensagem (ARNOLD & NOBLE, 1978).

CHEYNIER & RIGAUD (1986) assinalam que os flavanóis localizam-se nas partes sólidas do cacho e, portanto, não são encontrados em vinhos brancos feitos por métodos tradicionais de vinificação (metodologia de produção de vinhos brancos utilizados atualmente, sem cascas, sementes e engace). A co-pigmentação de antocianinas com flavanóis mostrou influenciar a cor de várias plantas e alimentos, podendo ocorrer em uvas.

Dos flavonóides encontrados no vinho podemos destacar a mirecetina, quercetina e kaempferol.

### 2.4.- Antocianinas

Os antociânicos diglucosídeos são mais estáveis a descoloração do que os correspondentes monoglucosídeos, mas estes são menos propensos ao escurecimento. Malvidina e peonidina são os mais estáveis, e delphinidina a menos estável (ROBINSON *et al.*, 1966).

Embora os antociânicos tenham sido consideradas inteiramente responsáveis pela cor extraída da uva, a baixa resposta da cor de vinhos tintos à mudança de pH indica a presença de outras formas de pigmentos que não antociânicos (SOMERS, 1968).

A cor vermelha de extratos de uva geralmente é atribuída aos antociânicos e seus derivados acilados, porém, o teor de antociânicos livres diminui a níveis muito baixos no envelhecimento (JURD, 1969).

PIRIE & MULLINS (1977), mostraram que na casca da uva, mais do que no grão inteiro, os níveis de açúcar estão intimamente associados com a acumulação de pigmentos e fenóis totais. Contrariamente, WICKS & KLIEWER (1983) encontraram que os teores de antocianinas e fenóis totais podem mudar, sem nenhuma alteração significativa nos carboidratos solúveis na casca, rejeitando assim a hipótese de que carboidratos solúveis totais da casca sejam agentes da síntese de antocianinas e polifenóis.

A concentração de fenóis solúveis no grão diminui da antesis até a colheita, durante o crescimento, enquanto os fenóis solúveis por grão aumentam durante o crescimento inicial do grão até no máximo estágio III (10 a 16 semanas após a antesis), decrescendo após a "véraison". O decréscimo na concentração de fenóis não é por diminuição de seu conteúdo, mas devido ao crescimento do grão (CRIPPEN & MORRISON, 1986 a).

Antociânicos podem ser caracterizadas de acordo com suas propriedades espectrais; assim, identificou-se compostos 3-glucosídeos de delphinidina, cianidina, petunidina,

peonidina e malvidina e, suas respectivas formas aciladas de acetato e p-cumarato na cv. Tempranillo. Comparada a outras variedades, Tempranillo tem uma porcentagem mais alta de p-cumaratos e mais baixa de acetatos do que Cabernet Sauvignon; tem também uma maior porcentagem de derivados de delphinidina, cianidina, petunidina e peonidina, e uma menor porcentagem de derivados de malvidina do que a cv. Cabernet Sauvignon (HEBRERO *et al.*, 1988).

De uma maneira geral, antocianas são glicosídeos de polihidróxi e polimetóxi derivados de 2-fenil-benzopirílio ou sais flavílio. Antocianas diferem pelo número de oxidrilas na molécula, grau de metilação destas oxidrilas, natureza e número de açúcares ligados à molécula e a posição de ligação e, natureza e número de ácidos alifáticos ou aromáticos esterificando o açúcar (MAZZA & MINIATI, 1993).

Fundamentalmente, antocianas são responsáveis pelas diferenças de cor entre uvas e os vinhos resultantes. A quantidade e composição das antocianas em uvas tintas variam muito com a espécie, cultivar, maturação, condições sazonais, área de produção e rendimento de colheita (MAZZA, 1995).

Antocianas são parte do grupo geral flavonóides, compostos que se caracterizam por um núcleo flavílio. A molécula antociânica consiste de duas ou três partes: a base aglicona com o núcleo flavílio, um grupo carboidrato e, às vezes, um grupo ácido acilando este carboidrato; são conhecidos cerca de 4000 flavonóides e entre eles cerca de 260 são antocianas. As agliconas mais comuns são cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina e petunidina (FRANCIS & MARKAKIS, 1989). As moléculas antociânicas distinguem-se segundo o grupo substituinte no anel benzênico lateral. As formas glicosídicas (antocianas) são mais estáveis que as agliconas (antocianidinas) (PARODI, 1999). MAZZA & MINIATI (1993) definem antocianas como glucosídeos derivados de 2-fenilbenzopirílio, ou sais flavílio; os açúcares mais comumente ligados a aglicona são a glicose, ramnose, xylose, galactose, arabinose e frutose, ocorrendo sempre como monoglucosídeos na posição 3-, são acilados normalmente com um dos seguintes ácidos: p-cumárico, caféico, ferúlico, p-hidroxibenzóico, sinápico, malônico, acético, succínico, oxálico e málico.

Em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a ordem de eluição das antocianas está relacionada com a sua polarização; o composto mais polar elui primeiro. Nas antocianidinas a polarização é diretamente relacionada ao grau de hidroxilação e metilação do anel onde estão presentes os substituintes R1 e R2 (pelarginidina). O composto torna-se mais polar com o aumento do número de grupos hidroxila e mais apolar com o aumento do número de grupos metoxil (HEBRERO *et al.*, 1989).

No vinho o teor de pigmentos antociânicos diminui com o tempo; em um primeiro momento da conservação do vinho há uma queda de antocianas e, com o envelhecimento ocorre uma diminuição sucessiva, porém mais lenta. Em vinhos jovens precipitam antocianas livres; com o envelhecimento do vinho esta precipitação é de formas polimerizadas. O aumento da intensidade corante está muito correlacionado com o aumento no teor de antocianas (USSEGLIO-TOMASSET, 1989).

Antocianidinas são compostos flavonóides nos quais a cadeia heterocíclica é representada por um anel pirilo; este é o motivo das antocianidinas terem o mais alto grau de oxidação dos flavonóides (ARFELLI *et al.*, 1992).

Uvas expostas a luz solar são geralmente ricas em açúcares, antocianas e compostos fenólicos e pobres em acidez titulável, malato e pH. Grãos desenvolvidos sem luz nos estágios I (2-3 mm de diâmetro), II (início do amolecimento do grão) e III (entre grão mole e maturação) tiveram menos antocianas e fenóis totais e tiveram o início da coloração retardada (DOKOOZLIAN & KLIEWER, 1996). O nível de radiação solar é fator importante na coloração vermelha de uvas tintas, conforme MAZZA & MINIATI (1993):

uma redução para 15% da radiação normal da luz solar total resulta num decréscimo de 58 a 59% no conteúdo total de antocianinas; as uvas tendem a desenvolver uma alta coloração a temperaturas diurnas entre 15 e 25°C, e noturnas entre 10 e 20°C. A temperaturas diurnas entre 35 e 37°C e, noturnas entre 30 e 32°C a biossíntese de antocianinas é completamente inibida em cultivares sensíveis, e muito reduzida nas altamente coloridas.

HECKTHEUER (1996) assinala que a diminuição da concentração de antocianinas livres no vinho deve-se principalmente, à condensação com taninos e a degradação e perda do íon flavílio, com a conseqüente descoloração. Esta perda é maior quando ocorre aumento do pH e na presença de agentes redutores. Conforme MAZZA & MINIATI (1993), pigmentos antociânicos existem sob quatro formas em equilíbrio: o cátion flavílio, a base quinoidal, a pseudobase, carbinol e a chalcona. Em valores de pH menores que 2,0, antocianinas existem primariamente na forma do cátion colorido flavílio; com o aumento do pH há uma rápida perda de próton produzindo as formas quinoidais. Simultaneamente ocorre outra reação: a rápida hidratação do cátion flavílio dando a pseudobase carbinol, o que equilibra com as formas abertas chalconas, ambas incolores. As quantidades relativas de cátion, formas quinoidais, carbinol e chalconas variam com o pH e estrutura da antocianina.

## 2.5.- Taninos

Os taninos são importantíssimos em enologia, pois representam a maior fração dos polifenóis totais em todos os estágios do processo de vinificação. Em uvas da cv. Shiraz pigmentos tânicos mostraram ser a principal fração dos pigmentos totais. Taninos de cor vermelho-escuro, descritos como flavonóides condensados, foram anteriormente isolados em quantidade que excede em muito os níveis de antocianinas (SOMERS, 1968).

Taninos condensados, flavanóides polimerizados com peso molecular superior a 500, há muito tempo são conhecidos por produzir uma sensação de adstringência, ou boca seca (ARNOLD & NOBLE, 1978).

As procianidinas possuem uma estrutura flavonóide e são assim chamadas por liberarem íon flavílio colorido cianidina, após hidrólise ácida. Sua grande distribuição nas plantas tem estimulado o interesse em sua estrutura, biossíntese, função fisiológica e significância taxonômica (McMURROUGH & McDOWELL, 1978).

Em Cidra, DELCOUR *et al.* (1984) associaram o amargor a procianidinas oligoméricas, com o máximo amargor atingido com (-) epicatequinas – tetrâmeras; a adstringência foi caracterizada como oriunda de procianidinas de alto peso molecular. Com base no peso, a adstringência relativa de frações fenólicas da semente da uva e seu amargor, em vinhos brancos, aumentam com o acréscimo do peso molecular.

BOURZEIX *et al.* (1986) observaram que a maior concentração de catequina e procianidinas (59%) estava localizada nas sementes; o engace e as películas continham uma proporção semelhante (21 e 19%) e na polpa havia uma concentração de apenas 1%.

Os efeitos individuais de SO<sub>2</sub> e etanol na extração de ácido gálico, (-) epicatequina, (+) catequina e procianidinas são pequenos; entretanto, temperatura elevada aumenta muito a extração. O uso simultâneo de etanol e SO<sub>2</sub> mostrou efeito adicional, porém a maior extração ocorreu com o uso simultâneo de etanol, SO<sub>2</sub> e temperatura elevada (OSZMIANSKI *et al.*, 1986).

Um aumento na temperatura, durante o contato com as cascas, resulta em vinhos mais coloridos, de menor acidez total, de pH mais elevado e de mais altos níveis de Fenóis totais; aumentos na ordem de 160% para catequinas, 58% para leucoantocianinas, 42%

para polifenóis totais e 31% para taninos ocorreram quando houve um aumento da temperatura de maceração de 5°C para 15°C (RAMEY *et al.*, 1986).

Os taninos de uvas e vinhos resultam da polimerização de moléculas elementares de catequina e epicatequina. A propriedade de combinarem com proteínas é explicada pela natureza fenotípica e alto peso molecular. Sua principal característica, e que determina suas propriedades, é o grau de polimerização. As propriedades coloidais particulares das substâncias deste grupo, a propriedade de floculação com proteínas e sua adstringência fisiológica em geral, são unicamente características de polímeros de tamanho específico (CACHO & CASTELLS, 1991).

As sementes e engaces da uva são mais ricos em catequinas e procianidinas do que cascas e polpas, tanto em cultivares tintas como em brancas. Assim, catequinas e procianidinas das uvas são extraídas para o vinho durante a mini-fermentação e maceração; tanto o tempo de maceração como a presença de altas quantidades de polpa, sementes e engace em contato com o mosto, durante a fermentação, levam à produção de vinhos com altos teores de catequinas e procianidinas (KOVAC *et al.*, 1992).

Nos vinhos, os taninos afetam a carga enzimática ao se ligarem a apoenzima, inibindo, portanto, a atividade enzimática; por isso os vinhos tintos têm maior resistência a oxidação enzimática que os brancos. Os taninos são classificados em dois grupos: hidrolizáveis e condensados. Os taninos hidrolizáveis, ou gálicos, não são naturais da uva, provêm da adição, com fins tecnológicos ou provêm da madeira e da própria rolha. Na uva, taninos condensados são quimicamente, polímeros de moléculas elementares de flavanas: 3-Flavanóis (catequinas) e 3,4-flavanodiol (leucoantocianidinas).

As procianidinas são encontradas nas partes sólidas do cacho passando ao vinho durante a maceração, que acontece com a fermentação alcoólica; caracteriza-se pela cor amarelo-marrom. Na uva, apresentam-se como moléculas parcialmente condensadas com antocianinas, ou com polissacarídeos ou peptídeos ou, ainda, podem estar parcialmente oxidadas e polimerizadas.

Na presença de etanal as procianidinas pouco polimerizadas reagem com antocianinas originando compostos mais coloridos que as próprias antocianinas, dando ao vinho uma cor vermelho-pardo estável; se ao invés disto as antocianinas reagem com as procianidinas polimerizadas os compostos originados são mais volumosos e tendem a precipitar diminuindo a cor e a adstringência. A polimerização se dá pela formação de ligações entre as posições C4 das procianidinas e as posições C6 ou C8 das catequinas (HECKTHEUER, 1996)

POLENTA (1996) observou em algumas cultivares tintas, de diversas regiões do Rio Grande do Sul, que o índice de taninos aumentou continuamente durante a fermentação, constatando diferenças entre as cultivares e regiões, quanto ao conteúdo e tamanho dos taninos.

As procianidinas são oligômeros e polímeros de unidades dos flavan-3-óis (+)catequina, (-)epicatequina e seus ésteres galatos. As procianidinas mais simples são dímeros e, nas uvas, as mais comuns são os quatro compostos (B2-B,4) com ligações C4→C8 (TEISSEDRE *et al.*, 1996a).

Para PARODI (1999), os taninos condensados, polímeros mais ou menos complexos de catequina e epicatequina, são constituintes naturais da uva e vinho e, nesses podemos encontrar:

- A unidade básica denominada genericamente de catequina, constituída de catequina e de epicatequina;
- Os dímeros, trímeros e oligômeros de catequina, denominados procianidinas;
- Polímeros denominados procianidinas condensadas.

## 2.6.- COR

BERG & AKIYOSHI (1962) observaram que o comportamento da cor, durante a fermentação, é influenciado pelos conteúdos de SO<sub>2</sub> e álcool, existentes no mosto no momento da separação das cascas.

A cor de um vinho, sua intensidade e tonalidade nos informam sua idade, evolução no tempo e as possíveis virtudes e defeitos que possa ter; se por um lado, a cor é um atributo da visão, e, portanto corresponde a uma sensação psíquica, por outro lado é um fenômeno físico, uma vez que quando uma luz branca incide sobre um objeto, uma parte das radiações são absorvidas e outra parte refletida, dando ao objeto a cor destas radiações (GUARDIOLA *et al.*, 1997).

Normalmente as formas poliméricas dos pigmentos são responsáveis pela maior porção de cor em vinhos envelhecidos, chegando a 50% no primeiro ano e, atingindo uma média de 85% em vinhos de 10 anos (SOMERS, 1971).

Uvas de mesa podem atingir todos os padrões mínimos de maturação, exceto cor adequada. Aplicações de Etefon (um precursor de etileno, indutor de maturação e senescência, normalmente utilizado para induzir cor vermelha em maçãs) mostraram poder aumentar a coloração de uvas Tokay e Emperor diminuindo, porém a firmeza do grão em ambas cultivares (JENSEN *et al.*, 1975).

Sensorialmente, define-se uma cor percebida por três características: a Luminosidade (L\*), atributo da sensação visual segundo a qual uma superfície parece emitir mais ou menos luz, ela varia de 0 (totalmente opaca) até 100 (totalmente transparente); a Tonalidade (h\*) que expressa a nuância da cor, e é o que nos faz dar nome as cores; e a Saturação que é a sensação visual que nos permite estimar a proporção de cor pura contida na sensação total (GILABERT, 1992).

A adição de acetaldéido a misturas de antocianas e fenóis causa um rápido e espetacular aumento da cor aproximando à tonalidade violeta. Isto é devido a formação de compostos altamente coloridos que consistiriam de antocianas e fenóis ligados por pontes CH<sub>3</sub>CH (TIMBERLAKE & BRIDLE, 1976).

Altos valores de pH, em uvas, reduzem a cor e estabilidade de produtos processados. Estes altos valores de pH podem ser oriundos da alta absorção de cátions do solo e, como por exemplo, o potássio que em excesso contribui para o problema. Níveis excessivos de potássio, em *Vitis labrusca* cv. Concord foram prejudiciais ao pH e qualidade de cor do suco fresco e armazenado (MORRIS *et al.*, 1983).

Em vinhos tintos não-fortificados a intensidade de cor permanece relativamente constante ou diminui lentamente; por outro lado, a cor em vinhos do Porto aumenta acentuadamente até um máximo, e depois diminui. Isto é devido a formação de compostos aldeído-pigmentos oligoméricos, que são mais coloridos no pH do vinho do Porto, e menos colorido sob condições ácidas, do que as antocianas que lhes deram origem (BAKKER & TIMBERLAKE, 1986).

Em vinhos brancos, a maceração da fração sólida da uva com o mosto, foi objeto de numerosas investigações visando aumentar seu caráter frutado; os resultados foram dependentes do tempo e temperatura de maceração do mosto. Da mesma forma, sob dadas condições de maceração é a cultivar que determina a passagem de maiores ou menores quantidades de compostos fenólicos ao mosto, induzindo a um aumento de cor, e susceptibilidade ao escurecimento do vinho (MERIDA *et al.*, 1991).

Por outro lado, a oxidação de compostos como os flavonóides por o-quinonas do ácido cafeoiltartárico também pode ocorrer, resultando em uma certa descoloração (RIGAUD *et al.*, 1991).

O tipo e quantidade de fenóis, a atividade das polifenoloxidasas, níveis de oxigênio e temperatura são os principais fatores que influenciam o escurecimento de vinhos brancos; como o conteúdo em fenóis e polifenoloxidasas varia consideravelmente entre cultivares, há uma grande variação na suscetibilidade ao escurecimento, entre as cultivares (SIMS *et al.*, 1991).

Sem dúvida a cor resultante de um vinho evolui de forma progressiva e inevitável durante seu envelhecimento. Os tons vermelho-azulados característicos dos mostos e vinhos jovens, mudam a um vermelho franco e tons tijolo ao aumentar o grau de polimerização. Estas transformações ocorrem, de forma muito mais rápida, durante os primeiros meses em que se mantêm o vinho em grandes depósitos, em contato com o ar (ALMELA *et al.*, 1992).

Em vinhos do Porto jovens a cor é vermelho púrpura em grande parte devido a presença de antocianas. Entretanto, esta cor muda, durante a maturação para um vermelho-tijolo e até mesmo para um marrom-alaranjado brilhante como resultado de reações de polimerização entre antocianas coloridas e outros flavanóides (BAKKER & ARNOLD, 1993).

Segundo IDE & DAUDT (1993), a intensidade de cor aumenta no decorrer da maturação da uva, devido ao aumento dos teores de antocianas e taninos; neste estudo os autores obtiveram a maior intensidade de cor, na safra de 1991, sob boas condições climáticas (baixa umidade, pouca chuva e muita luminosidade).

A forma de combinação das antocianas, cujo equilíbrio correlaciona-se com o pH e o teor de SO<sub>2</sub> do meio, determina a intensidade de cor de um vinho tinto e sua evolução; esta, por sua vez, é influenciada pela composição química da matéria-prima e pela tecnologia de produção empregada, seja na maceração ou elaboração e envelhecimento (LA NOTE *et al.*, 1993).

A cor inicial de um vinho tinto jovem é devido principalmente a antocianas livres; entretanto as reações que ocorrem no envelhecimento do vinho levam a um aumento no conteúdo de pigmentos vermelhos poliméricos, responsáveis pela cor vermelha deste vinho. Temperatura, pH, SO<sub>2</sub> e etanol afetam o equilíbrio e estrutura físico-química destes compostos e são responsáveis por sutis alterações da cor que ocorrem durante a conservação e envelhecimento (DALLAS & LAUREANO, 1994).

PARDO & NAVARRO (1994) assinalam que a constituição geral de um vinho é fundamental na sua estabilidade; nesta, a variação da cor, sobretudo em tintos, tem um papel fundamental e é dependente de um grande número de fatores: conteúdo de polifenóis, presença de antioxidantes e catalisadores de oxidação, condições ambientais (temperatura, umidade), etc. VALDÉS-SANCHEZ & MATEOS (1994) observam que a cor que um vinho apresenta depende de seu conteúdo total em compostos fenólicos, da concentração de cada um dos grupos desta família e do equilíbrio destes com as demais substâncias presentes nos vinhos.

Cor e composição fenólica têm sido usadas para diferenciar vinhos de acordo com a cultivar, sítio geográfico e estação climática de crescimento; entretanto, fatores ambientais e climáticos fazem variar, de maneira significativa, de ano para ano os parâmetros estudados (PRESA-OWENS *et al.*, 1995).

Em um vinho corretamente envelhecido há um desaparecimento de antocianas e um correspondente aumento na polimerização de antocianas com taninos. Este aumento na

formação de polímeros tanino-antocianas pode resultar numa melhora na estabilidade de cor (AUW *et al.*, 1996).

Ao estudar *Vitis vinifera* “Cabernet Sauvignon” de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, POLENTA (1996) constatou diferenças em relação ao conteúdo e tamanho dos taninos, e estas se refletiram nos aspectos cromáticos dos vinhos; as diferenças cromáticas constatadas não se relacionaram diretamente com os conteúdos de antocianas.

Para proporcionar cor vermelha as antocianas são ótima alternativa, largamente distribuídas na natureza, são abundantes em flores e frutos e fornecem uma escala de tons desde o vermelho-azulado até o laranja: classifica-se como flavonóides, existindo sob diferentes formas em equilíbrio, com a forma vermelha flávilio prevalecendo apenas sob condições ácidas (SARNI-MANCHADO *et al.*, 1996).

A evolução da cor durante o amadurecimento de uvas da cv. Shiraz, em relação a luminosidade ( $L^*$ ), saturação ( $C^*$ ) e tonalidade ( $h^*$ ) mostrou três fases distintas: a primeira com valores de  $h^*$  constantes e um decréscimo considerável de  $C^*$  e  $L^*$ , atribuídas a modificações e destruição de clorofilas e carotenóides; a segunda caracterizada por um grande aumento de  $h^*$ , evolução da cor vermelha, que poderia ser explicada pela síntese ou migração de compostos tânicos e procianidinas; a terceira fase o início da coloração do grão, caracterizada por nova e importante mudança nos valores de  $h^*$  com uma evolução da cor para o verde-azul, e lenta diminuição de  $C^*$  e  $L^*$ , é explicada pela síntese de antocianas da casca ou por glicosilação de taninos ou procianidinas (ROBIN *et al.*, 1996).

Diferentes cepas de leveduras fixam a cor do vinho tinto com diferentes intensidades. Algumas provas comparativas mostraram que a partir da mesma cultivar de uva, com leveduras diversas, obtêm-se vinhos com composição fenólica diferente (CUINIER, 1997).

Para verificar a influência da cepa da levedura sobre as características de cor e composição fenólica do vinho, 15 cepas de leveduras foram comparadas utilizando uvas da cv. Sangiovese; entre os vinhos dos dois períodos considerados, emerge a existência de uma modificação, no tempo, do perfil aromático, polifenólico e de cor. Tais modificações são dependentes da cepa de levedura utilizada (FERRARI *et al.*, 1997).

Ao investigar a atividade enzimática de leveduras, em relação a estabilidade de cor do vinho, SPONHOLZ (1997) observou que na vinificação de cultivares com alto conteúdo de cianidina e peonidina, a cepa de levedura que efetua a fermentação alcoólica é um fator de importância para a intensidade e estabilidade da cor vermelha. Em tais cultivares deve-se considerar, com critério para melhor estabilidade de cor, a escolha de uma cepa de levedura com baixa atividade da enzima  $\beta$ -glucosidase. O autor demonstrou que a enzima pode romper a ligação açúcar-antocianidina, liberando esta para o mosto, onde é facilmente atacada pela tirosinase e lacase, resultando em perda de cor.

## 2.7.- Importância dos Compostos Fenólicos na Saúde Humana

Em sistemas vivos, radicais livres de ácidos graxos polisaturados são formados, o oxigênio reage rapidamente com estes radicais, formando radicais peróxido e hidroperóxido que entram em reações em cadeia, resultando em dano a membranas e alteração de várias rotas metabólicas. Isto contribui para agravar situações doentes; por exemplo, a oxidação pode danificar vasos sanguíneos, o que conduz a aterogênese que aumenta eventos trombóticos. Antioxidantes do vinho, em particular nos tintos, os compostos fenólicos exercem efeito profilático e protetor inibindo reações oxidativas de aterogênese (KINSELLA *et al.*, 1993).

Flavonóides são investigados por seus múltiplos efeitos biológicos, tais com atividade antioxidante, ação antiinflamatória, inibição da agregação plaquetária e atividade antimicrobiana. Uvas e vinhos contêm grandes quantidades de compostos fenólicos, principalmente flavonóides, em concentrações de cerca de 1,0 até 1,8 g/mL (KANNER *et al.*, 1994).

As procianidinas controlam a degradação de proteínas, formação de colesterol e aumento da permeabilidade das artérias. Tanto procianidinas como catequinas podem bloquear a ação da histidinacarboxilase (HD), diminuindo os processos de arteriosclerose.

Antocianinas complexam com metais, desintoxicando e descontaminando alimentos (HECKTHEUER, 1996).

Aumento dos teores de compostos fenólicos na dieta reduziu ocorrência de doenças coronarianas; estudos epidemiológicos mostraram que o consumo de vinho tem relação com a redução de mortalidade por doenças coronarianas; efeito descrito como o "Paradoxo Francês" (TEISSEDRE *et al.*, 1996).

A ação antioxidante dos compostos fenólicos manifesta-se por sua habilidade na remoção de radicais livres, prevenir oxidação do colesterol LDL, proteger células contra oxidação e elevar a atividade antioxidante total do sangue (SOLEAS *et al.*, 1997). Conforme KINSELLA *et al.* (1993), outros mecanismos complementam a ação dos compostos fenólicos (Tabela 12).

Tabela 12: Mecanismos biológicos complementares que diminuem o risco de doenças cardiovasculares, devido ao consumo de vinho.

<b>Alcool</b>	Pode aumentar as funções do colesterol HDL para facilitar a excreção de colesterol LDL via fígado; Pode reduzir a concentração da apoproteína aterogênica A-1; Pode reduzir estresse.
<b>Componentes antioxidantes (flavonóides, outros fenóis)</b>	
	Podem reduzir a peroxidação de ácidos graxos polisaturados e o colesterol. LDL e a formação de células de macrófagos.
<b>Antioxidantes</b>	Podem reduzir tendências a inflamações crônicas reduzindo os níveis de peróxido, podem regularizar as flutuações de ácido araquidônico e reduzir a agregabilidade de coágulos, e tendências trombóticas.

Fonte: KINSELLA, (1993).

A Tabela 13 mostra os compostos fenólicos já identificados em grãos de *Vitis vinifera*.

Flavonóis tais como quercetina, miricetina, isoharmetina e quemperol e, as correspondentes flavonas, apigenina e luteolina, têm propriedades antioxidantes; seu consumo é associado a redução do risco de câncer, trombose e doenças cardiovasculares. O ácido gálico e certos flavonóides, principalmente (+) catequina e (-) epicatequina, bem como os flavonóis quercetina e miricetina, presentes em altas concentrações em vinhos tintos, tem atividade antioxidante e contra agregação de placas similar, se não maior, ao resveratrol (McDONALD *et al.*, 1998).

Compostos fenólicos, por suas estruturas, são dotados de propriedades antioxidantes e anti-agregantes que podem inibir os processos que em longo prazo conduzem ao aumento do risco de mortalidade coronariana. Os flavonóides são capazes de inibir "*in vitro*" a oxidação de colesterol LDL e a agregação plaquetária; esta capacidade é, particularmente mais elevada para catequinas (CARANDO *et al.*, 1999).

Marcheix em. 1991 pesquisou os principais fenóis encontrados em uvas *Vitis vinifera*, como pode ser visto na tabela 13.

Tabela 13 - Principais fenóis identificados em *Vitis vinifera*.

<b>Fenóis ácidos</b>	
	<i>p</i> e <i>o</i> -hidroxibenzóico, salicílico, gálico, cinâmico, cumárico ( <i>p</i> -cumaroiltartárico), Caftárico (cafeoltartárico), fertárico (feruloiltartárico).
<b>Antocianas</b>	
	Cianidina 3-glucosídeo, 3-acetilglucosídeo e 3- <i>p</i> -cumarilglucosídeo; Peonidina 3-glucosídeo, 3-acetilglucosídeo e 3- <i>p</i> -cumarilglucosídeo; Delfinidina 3-glucosídeo, 3-acetilglucosídeo e 3- <i>p</i> -cumarilglucosídeo; Petunidina 3-glucosídeo, 3-acetilglucosídeo e 3- <i>p</i> -cumarilglucosídeo; Malvidina 3-glucosídeo, 3-acetilglucosídeo, 3- <i>p</i> -cumarilglucosídeo e 3-cafeilglucosídeo.
<b>Flavonóis</b>	
	Quempferol 3-glucosídeo, 3-glucoronídeo, 3-galactosídeo e 3-glucosilarabinosídeo; Quercetina- 3-glucosídeo, 3-glucoronídeo, 3-rutinosídeo e 3-glucosilgalactosídeo; Iso-Rhamnetina 3-glucosídeo
<b>Flavonóides e Taninos</b>	
	(+)catequina: (-)epicatequina; (+)galocatequina; (-)epigalocatequina; epicatequina-3- <i>o</i> -galato; Procianidinas B1, B2, B3, B4, C1, C2 e formas poliméricas de taninos condensados.
<b>Flavononóis</b>	
	Dihidroquercetina 3-rhamnosídeo (Astilbina); Dihidroquempferol 3-rhamnosídeo (Engeletina).

Fonte: MACHEIX, *et al.* (1991).

### 3. - MINERAIS

A composição mineral do vinho se origina da uva e de outras partes do engaço (ráquis), embora numerosas operações tecnológicas durante o processo de vinificação e de conservação dos vinhos provocam modificações da sua composição (RIZZON, 1998).

Os elementos minerais que compõem as cinzas dos vinhos e que geralmente representam aproximadamente 10% do valor do extrato seco reduzido são determinados através da espectrofotometria de absorção atômica (RIZZON, 1998).

Os constituintes inorgânicos dos vinhos receberam menos atenção que os componentes orgânicos. Parecem apresentar menor importância sob o ponto de vista bioquímico e fisiológico. No entanto, os elementos minerais apresentam uma importância significativa em enologia.

Alguns minerais são necessários para o processo fermentativo. Outros participam no sistema oxidativo dos vinhos. Alguns apresentam importância para a alimentação humana.

Em suas anotações sobre minerais presentes nos vinhos, RIZZON, (1998) (não publicado) relacionou a presença dos minerais no vinho e a sua determinação, como veremos a seguir:

### 3.1. - Potássio - K

O potássio corresponde aos cátions predominante dos mostos e dos vinhos. O teor nos vinhos pode variar de 500 a 1500 mg/L. Geralmente, são indicados valores médios inferiores a 1 g/L para vinhos brancos e superiores a 1 g/L para os tintos. A diferença entre o teor de potássio dos vinhos brancos e tintos é devido a tecnologia de vinificação.

A determinação analítica é efetuada no vinho previamente diluído, através de emissão de chama, utilizando-se uma chama ar-acetileno oxidante. A leitura é efetuada num comprimento de onda de 766,8 nm. Sendo importante a sua determinação, visto que este mineral participa da estabilidade do bitartarato de potássio.

### 3.2. - Sódio - Na

O teor de sódio dos vinhos é baixo. Vinhos de vinhedos situados próximos ao mar apresentam teores mais elevados. O porta-enxerto utilizado também interfere no teor de sódio, especialmente na relação K/Na e Cl/Na. A utilização de bentonite e metabissulfito de sódio contribuem para aumentar o teor de sódio do vinho.

O teor limite de sódio excedentário estabelecido pela O.I.V. (Organização Internacional do Vinho), é de 60 mg/L.

O sódio é determinado por emissão de chama em 589,1 nm de comprimento de onda. A leitura é efetuada diretamente da amostra, previamente diluída.

### 3.3. - Cálcio- Ca

O cálcio é um constituinte natural da uva, do mosto e do vinho. A quantidade de cálcio no vinho pode aumentar em consequência de alguns operações tecnológicas. O conhecimento do teor de cálcio nos vinhos é necessário para monitorar a precipitação do tartarato de cálcio, que acontece lentamente, e geralmente após o engarrafamento.

A solubilidade do tartarato de cálcio no vinho é consequência dos fatores determinantes do produto de solubilidade: teor alcoólico, temperatura e pH. No entanto, os ácidos málico e láctico contribuem para aumentar o valor do produto de solubilidade. As proteínas, os taninos além de outras substâncias de elevado peso molecular exercem um efeito inibidor sobre a cristalização do tartarato de cálcio. Por isso, as operações de colagem, que reduzem os teores dessas substâncias, podem interferir de forma significativa na precipitação do tartarato de cálcio.

Entre as principais causas do enriquecimento dos vinhos com cálcio, destacam-se a conservação em depósitos de cimento deficientemente tartarizados, a desacidificação com carbonato de cálcio e o emprego de bentonites cálcicas e de determinados coadjuvantes e placas de filtração.

É bastante significativa a diminuição do teor de cálcio, durante a vinificação, essencialmente devido à influência do teor alcoólico na diminuição do produto de solubilidade do tartarato de cálcio.

O teor de cálcio, em outra parte, é mais baixo nos vinhos tintos do que nos vinhos brancos, em virtude da solubilidade do cálcio estar relacionada com a composição ácida dos vinhos e, geralmente, vinhos brancos apresentam teores de acidez mais elevados. Em

conseqüência, de todos os fatores mencionados, é difícil estabelecer limites de segurança em relação a estabilidade dos vinhos.

Diversos processos tecnológicos foram estudados para reduzir o teor de cálcio dos vinhos e para evitar as precipitações. Um dos mais usados consiste na utilização do ácido metatartárico.

O cálcio no vinho é determinado por espectrofotometria de absorção atômica, com chama ar acetileno a 422,8 nm de comprimento de onda. A interferência resultante da presença de fosfatos é controlada através da diluição da amostra com uma solução de óxido de lântano.

### **3.4. - Magnésio - Mg**

O teor de magnésio nos vinhos é superior ao de cálcio, embora a sua importância nos mostos seja menor, em virtude de não se verificar uma diminuição desse teor durante o processo de fermentação e de conservação dos vinhos; os sais de magnésio apresentam uma elevada solubilidade no meio.

Alguns autores afirmam que os teores de magnésio nos vinhos são bastante diversos, de 50 a 200 mg/L. A sua determinação poderá apresentar algum interesse, quer por contribuir para a caracterização da tipicidade dos vinhos, ou pela influência na estabilidade e nas características organolépticas, ou para detectar possíveis fraudes.

O magnésio é determinado por espectrofotometria de absorção atômica, com chama ar-acetileno, a 285,2 nm de comprimento de onda. O método é rápido, preciso e sensível. A sensibilidade do método é de tal forma elevada que é necessária uma grande diluição da amostra.

### **3.5. - Manganês - Mn**

O manganês é um constituinte natural dos vinhos, presente em teores baixos, variável em função do tipo de solo da região. As sementes da uva correspondem a parte mais rica desse cátion, seguindo-se depois a película e, por último, a polpa. Assim, a vinificação em tinto é responsável por um teor mais elevado de manganês no vinho.

Entre as outras causas que poderão aumentar o teor de manganês nos vinhos aparece as freqüentes contaminações devido a utilização de produtos fitossanitários que contém Mn, bem com a utilização de determinados produtos enológicos, especialmente alguns tipos de bentonites e enzimas pectolíticas.

O teor médio de manganês indicado na literatura varia de 0,5 a 3,0 mg/L.

A determinação analítica é efetuada por espectrofotometria de absorção atômica, com ar-acetileno a 279,5 nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra.

### **3.6. - Ferro - Fe**

A presença do ferro no vinho está relacionada com a natureza do solo. O engace e as películas são as partes da uva mais ricas em ferro em relação às sementes e a polpa. Deve-se considerar o ferro presente nos mitocôndrios, que é liberado durante a fermentação alcoólica. Assim, uma vez que o ferro está presente nas partículas sólidas em suspensão no mosto, a clarificação do mesmo contribui para reduzir o seu teor.

A influência do tipo de solo nos teores de ferro nos vinhos está relacionada com a presença de ácido fosfórico assimilável, fator que favorece a absorção de ferro pela planta, aumentando a concentração deste cátion.

O teor de ferro nos vinhos depende, também, da cultivar de origem. De outra parte, as partículas de terra eventualmente fixadas na uva contribuem igualmente para aumentar o teor de ferro nos vinhos.

Durante a fermentação alcoólica uma parte do ferro precipita, em maior ou menor quantidade, dependendo das condições de oxidação-redução durante e após a fermentação e o tempo de contato com as películas.

Uma outra causa responsável pelo teor de ferro nos vinhos é aquela devido ao contato com os equipamentos e a tecnologia utilizada.

O aumento do teor de ferro, devido à corrosão do equipamento e do material utilizado tais como recipientes, esmagadores, esgotadores, prensas e bombas. A intensidade desta corrosão depende da acidez real do meio e da natureza do material. Assim, para minimizar o teor de ferro no vinho é recomendável utilizar equipamento constituído com material mais resistente, como é o caso do aço inoxidável.

A presença de ferro nos vinhos é importante uma vez que pode ser causa de precipitações nos processos de oxidação e atuar como catalizador, nos processos de envelhecimento.

Em meio redutores, vinhos mantido muito tempo ao abrigo do ar, o ferro se encontra totalmente no estado reduzido (Fe II); nesta forma, mesmo apresentado teores relativamente elevados, a sua solubilidade é completa. Uma oxidação do meio provocada, por exemplo, por um arejamento, conduz inevitavelmente ao aparecimento do ferro trivalente (Fe III); nesse estado mais oxidado poderá verificar-se o aparecimento de compostos férricos insolúveis. Dependendo do próprio teor de ferro existente poderá precipitar a matéria corante (casse azul) ou ácido fosfórico (casse branca).

Os ácidos málico, cítrico e succínico originam com o Fe III complexos solúveis, estáveis, constituindo nesse fato, o princípio em que se baseia o emprego do ácido cítrico para proteger os vinhos contra as casses férricas. Segundo alguns autores, o ácido málico constitui o mais importante agente complexante do ferro; com o ácido succínico a reação é bem mais lenta.

A temperatura, o pH e o teor alcoólico desempenham um importante papel nos equilíbrios estabelecidos entre as diversas formas em que o ferro se encontra e, portanto, na maior ou menor estabilidade dos vinhos.

A estabilização dos vinhos em relação às precipitações férricas tem sido buscada através da diminuição do teor de ferro por intermédio de precipitações controladas, ou evitando a formação de sua forma oxidada, ou solubilizando-a por complexação. Alguns dos processos propostos e estudados são proibidos em diversos países.

O ferro no vinho é determinado por espectrofotometria de absorção atômica, com chama ar-acetileno, a 248,3 nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra sem nenhum tratamento prévio.

### 3.7. - Cobre - Cu

Os mostos contêm sempre quantidades consideráveis de cobre, parte do qual provém da própria constituição da baga, embora a maior parte tenha origem nos tratamentos cúpricos fitossanitários.

Na fermentação alcoólica, observa-se a precipitação de uma parte do cobre na forma de sulfetos, sendo assim, eliminado naturalmente. Por isso, o teor de cobre dos vinhos é relativamente baixo, 0.1 a 0.2 mg/L. Essa eliminação é favorecida pela presença de dióxido de enxofre, sendo nitidamente acelerada quando o pH e o teor em sulfatos são altos.

Outra causa de possíveis aumentos do teor de cobre nos vinhos é devido ao contato com material de cobre, latão ou bronze.

Nos vinhos, o cobre é trivalente (cobre III) e acha-se completamente solubilizado, mesmo quando aparece em concentrações elevadas. Em meio redutor, com um potencial de oxidorredução relativamente baixo, a sua redução, na presença de anidrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), poderá originar o aparecimento de uma turvação (casse cúprica) ou mesmo de um precipitado.

O aparecimento do cheiro de ácido sulfídrico poderá ocorrer com teores elevados de cobre, baixo potencial de oxidorredução e presença de teores elevados de anidrido sulfuroso. As elevadas temperaturas e luz apresentam um efeito positivo na cinética dessas reações, acelerando a ocorrência do problema. A precipitação do cobre é evitada, no entanto, pela ação complexante dos ácidos orgânicos presentes, principalmente o málico. Essa ação é mais importante a pH elevado. A cisteína e as proteínas também apresentam um efeito complexante em relação ao cobre.

O cobre constituinte do vinho, por outro lado, desempenha um importante papel como catalizador da oxidação do Fe II para o Fe III com efeitos sensíveis na ocorrência da casse fosfato-férrica.

A forma mais técnica de evitar problemas de estabilidade relacionados aos teores elevados de cobre é utilizar tecnologia que não aumente os teores, tanto mais que o cobre (endógeno e exógeno) presente nos mostos é eliminado quase totalmente durante o processo da fermentação alcoólica.

O cobre é determinado por espectrofotometria de absorção atômica, com chama ar-acetileno a 325,0 nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra.

### 3.8. - Zinco - Zn

O zinco é um constituinte natural das uvas, mostos e vinhos, presentes sempre em pequenas quantidades.

Um aumento eventual do teor de zinco nos vinhos pode ser consequência do contato com material galvanizado ou a base de ligas contendo zinco, bem como provenientes de tratamentos fitossanitários com produtos com zinco na sua formulação. Uma maceração prolongada por ocasião da elaboração do vinho tinto poderá originar teores de zinco mais elevados.

A fermentação alcoólica, de outra parte, contribui para precipitar uma quantidade importante de zinco, através da reduzida solubilidade apresentada pelo sulfeto de zinco (ZnS).

O teor de zinco nos vinhos pode ser aumentado através do emprego de produtos enológicos.

Teores elevados de zinco poderão ser responsáveis por problemas de estabilidade dos vinhos podendo interferir também nas características organolépticas dos mesmos.

Os teores médios de zinco nos vinhos variam entre 0,3 e 2,0 mg/L.

O zinco do vinho é determinado por espectrofotometria de absorção atômica, com chama ar-acetileno a 213,9 nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra.

### 3.9. - Lítio - Li

O lítio é um componente natural do vinho presente sempre em pequenas quantidades (ug/L). A sua presença estaria relacionada com o pH e o tipo de solo onde é cultivada a videira. Esse elemento apresenta um certo valor discriminante para a diferenciação dos vinhos de diferentes regiões vitícolas. Para outros autores, a sua presença em maior quantidade em alguns vinhos seria consequência da sacarose adicionada para a correção do mosto.

O lítio do vinho é determinado por emissão de chama ar-acetileno a 670,8 nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra.

Os teores de lítio geralmente encontrados nos vinhos variam conforme a variedade do vinho, podendo chegar até 50 ug/L.

### 3.10. – Rubídio - Rb

O rubídio é um elemento encontrado naturalmente em pequenas quantidades em todos os vinhos. Em alguns casos, esse cátion tem sido útil para diferenciar vinhos de diferentes regiões vitícolas.

Os teores de rubídio nos vinhos variam de algumas mg/L até 10,0 mg/L.

O rubídio do vinho é determinado por emissão de chama ar-acetileno a 780,0nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra.

### 3.11. - Chumbo - Pb

Uma das causas responsáveis pela presença de chumbo no vinho é a utilização de fungicidas cúpricos, pois o chumbo é uma impureza que está sempre presente. O contato do mosto e do vinho com materiais construídos com ligas metálicas onde o chumbo também é um constituinte, além da utilização de tubos de borracha e a utilização de cápsulas de estanho/chumbo são alguns fatores que podem incorporar chumbo aos vinhos. O emprego do ácido tartárico também pode contribuir com o enriquecimento de chumbo no vinho. Alguns autores indicam ainda o posicionamento dos vinhedos, próximos a vias rodoviárias de grande circulação, como fator que pode aumentar o teor de chumbo nos vinhos.

Durante a fermentação alcoólica, parte do chumbo é precipitada na forma de sulfeto.

Segundo alguns autores, a causa mais importante da diminuição da concentração de chumbo nos vinhos, durante o período de conservação, acontece juntamente com as precipitações protéicas.

O teor máximo de chumbo admitido nos vinhos é de 0,20 mg/L. De modo geral, os teores são inferiores a 0,20 mg/L; em alguns casos, quando esse limite é ultrapassado, é devido a causas acidentais possíveis de serem evitadas.

O chumbo do vinho é determinado por absorção atômica através de forno de grafite a 212,2 nm de comprimento de onda. A leitura é feita diretamente na amostra do vinho previamente acidificada com ácido fosfórico.

### 3.12. - Cádmio - Cd

O cádmio é um elemento muito tóxico, podendo em certas condições extremas originar graves lesões renais, havendo, por isso, uma tendência mundial para limitar os seus teores nos produtos alimentares. O teor máximo atualmente admitido e fixado pela O.I.V. é de 10 ug/L.

Parte do cádmio presente nos vinhos é de natureza endógena, sendo absorvido pelas raízes da videira, muito lentamente. Durante a fermentação alcoólica verifica-se uma sensível diminuição do seu teor, por precipitação, sob a forma de sulfetos. De outra parte, é importante considerar as possíveis contaminações em cádmio que podem ocorrer nos vinhos, devido ao contato com materiais a base de zinco, sempre ricos em cádmio e aço inoxidável.

Alguns autores indicaram, ainda, o enriquecimento do vinho em cádmio quando a uva provém de videiras atravessadas por vias rodoviárias de grande circulação.

O cádmio do vinho é determinado por absorção atômica através do forno de grafite a 228,8 nm de comprimento de onda. A leitura é efetuada diretamente na amostra de vinho, previamente acidificada.

### 3.13. - Cromo e níquel - Cr e Ni

O teor desses dois minerais é de aproximadamente 20 ug/L. A conservação do vinho em recipientes de aço inoxidável pode aumentar o seu teor mas não de modo importante. A conservação em garrafas pode interferir no teor de cromo, mas não de níquel.

O cromo e níquel do vinho são determinados por absorção atômica, através de forno de grafite a 357,9 e 232,0 nm de comprimento de onda, respectivamente. A leitura é efetuada diretamente na amostra de vinho, previamente acidificada.

### 3.14. - Arsênio - As

O arsênio é encontrado regularmente nos vinhos em pequenas quantidades 0,01 mg/L a 0,02 mg/L. O tratamento de inverno com os sais arseniosos efetuados nas videiras, hoje proibidos, constituem em importante fator de enriquecimento.

O teor máximo de arsênio estabelecido pela O.I.V. é de 0,2 mg/L. O arsênio do vinho é determinado por absorção atômica, através da formação de hidretos a 193,7 nm de comprimento de onda. A leitura é efetuada na amostra previamente mineralizada.

### 3.15. - Mercúrio - Hg

O teor de mercúrio encontrado no vinho é sempre inferior a 5 ug/L.

O mercúrio do vinho é determinado por absorção atômica, através da formação de hidretos a 253,6 nm de comprimento de onda. A leitura é efetuada na amostra previamente mineralizada.

### 3.16. - Alumínio - Al

O alumínio é um elemento encontrado regularmente nos vinhos. Os teores médios variam entre 1,5 mg/L a 3,0 mg/L. Recentemente foi demonstrado o efeito de teores elevados de alumínio no vinho quanto ao aroma e sabor desagradável e eventuais turvações.

Entre os fatores que poderiam interferir no teor de alumínio dos vinhos destaca-se: o contato do vinho com esse elemento; a influência direta da acidez do vinho na corrosão dos materiais à base de alumínio; o fato de que cerca de 99% do alumínio do mosto é eliminado durante a fermentação alcoólica e, a participação da bentonite no aumento do teor de alumínio no vinho.

O alumínio do vinho é determinado por absorção atômica, através de forno de grafite a 309,3 nm de comprimento de onda. A leitura é efetuada diretamente na amostra, previamente acidificada.

## IV - CAPÍTULO 2: Análises químico-físicas dos vinhos catarinenses

### 1. - INTRODUÇÃO

O estudo analítico dos vinhos de uma determinada região é indispensável para estabelecer relações entre a sua qualidade, estado de conservação, aspecto geral e origens quanto ao solo, clima, cultivar, tratamentos culturais e tecnologia de elaboração.

A demarcação de zonas produtoras deve obrigatoriamente passar por uma etapa de caracterização analítica dos vinhos. Por outro lado, a legislação brasileira estabelece que todo o vinho comercializado deve ser acompanhado de uma guia de livre trânsito, que, por sua vez, só é liberada após o fornecimento de um laudo analítico (RIZZON & GATTO, 1987).

A análise química é de grande utilidade prática, pois por meio desta pode-se determinar a quantidade dos elementos que constituem o vinho. Estas análises também fornecem os elementos que permitem julgar o vinho, principalmente no que se refere ao acréscimo de certas substâncias permitidas por lei. Além disto, a análise química é de um valor indiscutível para o estudo das características de uma variedade, para verificar a influência e a ação de certos tratamentos executados na vinificação e de outros trabalhos de cantina (CATALUÑA, 1984).

As análises físico-químicas dos vinhos são aspectos importantes do moderno controle enológico. Todas as fases da elaboração de vinhos controlam-se mediante ensaios de laboratório, químicos e sensoriais, desde a época da colheita até o momento adequado para engarrafar. São imprescindíveis os ensaios analíticos no controle legal de muitos constituintes dos vinhos, por exemplo: álcool, dióxido de enxofre e acidez volátil. São estabelecidas relações enológicas para evitar o uso indevido ou ilegal de água, açúcar e álcool. As análises são também uma importante ferramenta para evitar perdas durante a elaboração e na recuperação de subprodutos (AMERINE & OUGH, 1976).

O vinho não é uma substância química com uma composição definida a qual se pode dar a fórmula exata. Existem diferenças, por exemplo, entre o vinho da região de Champagne e o da Borgogne ou da Alsacia, contudo, entre todos estes líquidos existem características comuns que permitem classificá-los com o nome geral de vinho (CARLES, 1972).

Já foram identificados no vinho mais de quatrocentos elementos, a maioria em pequenas concentrações, embora a lista não esteja esgotada. O maior componente do vinho é a água, oriunda da própria uva, correspondendo a 80% ou mais de seu volume. A seguir vem o álcool etílico resultante da fermentação, cuja quantidade se mede pela graduação de cada classe, é o componente responsável pela força e corpo do vinho, age como antisséptico, mantendo a "saúde" do vinho.

Os ácidos dão equilíbrio e frescor ao vinho, quando presentes nas proporções desejadas. Os principais são o tartárico, o cítrico, o málico, o láctico, o succínico e o acético, oriundos da uva *in natura* ou surgidos da fermentação. Na saúde humana, o ácido tartárico estimula o apetite e ajuda na digestão dos alimentos.

A glicerina, também surgida da fermentação, responde pela maciez do vinho. O açúcar que sobra da fermentação, denominado residual, permanece no vinho em quantidades variáveis, conforme o método de vinificação empregado e a classificação do produto.

Inúmeras substâncias aromáticas, inclusive ésteres e aldeídos, são encontrados nos vinhos, dando-lhes aroma. Os pigmentos corantes presentes nas cascas das uvas são responsáveis pela cor do vinho. Dentre essas substâncias a mais importante denomina-se

de tanino, (essencial nos vinhos tintos) que possui atividade bactericida e antiviral. Sais minerais e várias vitaminas enriquecem o vinho, tornando-o ainda mais importante para a saúde do homem (UBALDO, 1999).

Os açúcares predominantes no fruto das variedades *Vitis vinifera* são a glicose e a frutose. Em algumas variedades de *Vitis labrusca* encontram-se pequenas quantidades de sacarose e outros açúcares, e em seus híbridos a sacarose pode constituir até 25% do açúcar total. Em alguns países pode-se adicionar sacarose ou açúcar cristal da cana ao mosto; quando este é deficiente em açúcar é permitido acrescentar uma quantidade suficiente para se obter a graduação desejada, ou seja, cerca de 17 gramas de açúcar por litro para cada grau. Este processo denomina-se chaptalização.

Segundo AMERINE & OUGH (1976), o conteúdo de açúcar nas uvas em maturação é um fator importante para determinar o tempo da colheita, dado que a maior parte (mais de 90%) dos sólidos solúveis totais são açúcares. Costuma-se tomar o resultado de determinação de sólidos solúveis totais como uma medida do conteúdo de açúcar.

O açúcar pode ser determinado por cromatografia líquida (ANEXO 2, Figura 3), com detector refratométrico.

Estudos recentes mostram que o consumo moderado de vinho é favorável à saúde do consumidor. Entre os componentes do vinho que possuem características benéficas está o resveratrol. Trata-se de um composto fenólico, de atividade anti-fúngica, produzido pela videira em resposta à agressão do fungo *Botrytis cinerea*. A ação benéfica é na proteção do consumidor às doenças cardiovasculares. Esta substância concentra-se nas células da película da uva, por isso o teor é maior nos vinhos tintos (RIZZON, 1999).

Conforme pesquisa do epidemiologista Curtis Elinson, da Faculdade de Medicina da Universidade de Boston (1992), o resveratrol tem o efeito de diminuir as taxas de LDL, (do inglês, *low density lipoprotein*), colesterol de baixa densidade ou mal colesterol, um dos responsáveis pelas placas de gordura que se aderem às artérias obstruindo a passagem do sangue. Conforme a mesma pesquisa, ficou determinado que o mesmo resveratrol provoca um aumento do HDL (do inglês, *high density lipoprotein*), colesterol de alta densidade ou bom colesterol, que tem capacidade de ligar-se às gorduras, carregando-as para a metabolização e posteriormente para a excreção.

## 2. -MATERIAIS E MÉTODOS

Nos laboratório do CNPUV - EMBRAPA, foram analisados cinco (5) vinhos brancos e nove (9) vinhos tintos, ambos da safra de 2001, originados da região do Vale do Rio do Peixe, no Oeste de Santa Catarina, para confirmação da qualidade dos mesmos.

Detalhes mais específicos como por exemplo, localização da vinícola, variedade dos vinhos amostrados, entre outros, são negligenciados neste trabalho pelo fato de tratar-se de investigações confidenciais realizadas por órgãos oficiais de fiscalização.

Nos laboratórios de Enoquímica e Instrumentação foram feitas as análises para confirmação da qualidade: densidade, teor alcoólico, acidez total, acidez volátil, pH, extrato seco, potássio, sódio, cálcio, magnésio, manganês, entre outras, conforme metodologia especificada no ANEXO 3. Essas análises físico-químicas dos vinhos Catarinenses permitiram determinar possíveis problemas na elaboração dos vinhos ou problemas de qualidade.

As análises com os respectivos dados estão nas Tabelas 14 e 15, onde são apresentados os dados completos dos vinhos analisados.

A metodologia empregada para realizar as análises destes vinhos está inserida no anexo três (3) deste trabalho e corresponde à utilizada nos laboratórios do Centro Nacional Uva e Vinhos – EMBRAPA, Bento Gonçalves.

### **1. Densidade**

Densidade é uma expressão da física que indica, para cada substância, o peso de determinado volume. A densidade dos vinhos exprime-se por um número muito próximo de 1, pela razão de que um litro deste produto pesa geralmente menos, sempre próximo de 1 Kg.

Quando dizemos que a densidade de um vinho é de 0,988, é o mesmo que afirmar que 1 litro desse vinho pesa 988 g. O álcool, sendo mais leve que a água (ou menos denso), faz decrescer a densidade dos vinhos, ao contrário do açúcar e das matérias extrativas que fazem-na crescer.

Determina-se a densidade com o auxílio dos densímetros, aparelhos que acusam numa escala graduada o peso de cada litro de vinho (ANEXOS 1, Figura 5).

### **2. Teor alcoólico**

São muitos os álcoois conhecidos. O álcool do vinho é o etílico, com composição de 52,17% de carbono, 13,04% de hidrogênio e 34,79% de oxigênio. A sua densidade é 0,7943, isto é, um litro de álcool pesa 0,7943 kg e ferve a 78,3°C de temperatura. Quando um vinho acusa 12°GL é porque para cada 100 centímetros cúbicos desse vinho há 12 centímetros cúbicos de álcool puro, e o mesmo é dizer que ele tem 12% de álcool em volume.

A graduação glucométrica (teor de açúcares) da uva é medida em graus BABO, através de um aparelho chamado mostímetro. Já a graduação alcoólica é medida em graus Gay Lussac (GL). A relação entre "BABO e GL" é a seguinte: cada grau BABO se transforma em 0,6° de álcool devido à fermentação, ou 0,6° GL, então, será necessário 1,67° BABO para obter-se 1° GL. Sabendo-se que o vinho de mesa deve ter por lei no mínimo 10° GL, serão necessários então 16,7° BABO na uva utilizada. Como no Brasil é muito difícil isso acontecer devido às condições climáticas, excetuando-se algumas safras, deve-se então utilizar o recurso da chapitalização, isto é, a adição de sacarose ou açúcar cristal de cana ao mosto para obter a graduação desejada.

Existem vários processos para determinação do grau alcoólico: nos laboratórios da EMBRAPA e em algumas cantinas locais utiliza-se a destilação (ANEXO 1, Figura 6).

### **Princípio do método**

Destilação do vinho previamente alcalinizado e posterior medida do grau alcoólico por densimetria (Densímetro ANTON PAAR).

### **Modo operatório**

Medir 50 ml de amostra num balão volumétrico, aferir a temperatura a 20°C. Transferir a amostra para o balão destilatório. Lavar o balão com água destilada e juntar ao conteúdo do balão de destilação. Adicionar 10 ml da solução de Óxido de cálcio, para

neutralizar a acidez do vinho e evitar a passagem dos ácidos voláteis ao destilado, o que provocaria um aumento da densidade e, conseqüente diminuição do grau alcoólico. Conectar ao condensador e mergulhar até o fundo do balão volumétrico anteriormente empregado, já com 2 ml de água destilada. Recolher 3/4 partes do volume inicial. Resfriar o balão mergulhando-o em água com gelo. Completar o volume, à mesma temperatura inicial, com água destilada e agitar. Determinar a densidade do destilado a 20°C no densímetro ANTON PAAR DMA 45 e fazer a leitura do grau alcoólico do vinho na Tabela 14.

Tabela 14. Percentagem de álcool em relação densidade da solução hidroalcoólica a 20°C.

Densidade g/ml a 20°C	Alcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Alcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Alcool (%)
1.0000	0.00	0.9930	4.84	0.9860	10.36
0.9999	.07	29	.91	59	.44
98	.13	28	.98	58	.53
97	.20	27	5.06	57	.61
96	.27	26	.13	56	.69
95	.33	25	.21	55	.78
94	.40	24	.28	54	.76
93	.46	23	.36	53	.94
92	.53	22	.43	52	11.03
91	.60	21	.51	51	.11
90	.66	20	.58	50	.19
89	.73	19	.66	49	.28
88	.80	18	.73	48	.36
87	.87	17	.81	47	.45
86	.93	16	.88	46	.53
85	1.00	15	.96	45	.61
84	.07	14	6.03	44	.70
83	.14	13	.11	43	.78
82	.20	12	.18	42	.87
81	.27	11	.26	41	.95
80	.34	10	.34	40	12.04
79	.41	09	.41	39	.12
78	.48	08	.49	38	.21
77	.54	07	.57	37	.29
76	.61	06	.65	36	.38
75	.68	05	.73	35	.47
74	.75	04	.80	34	.55
73	.81	03	.88	33	.64
72	.88	02	.96	32	.73
71	.95	01	7.04	31	.81
70	2.02	00	.12	30	.90
69	.09	0.9899	.19	29	.99
68	.15	98	.27	28	13.07
0.9967	2.22	.97	7.35	0.9827	.16
66	.29	96	.43	26	.25
65	.36	95	.51	25	.34
64	.43	94	.59	24	.43

63	.50	93	.67	23	.51
62	.57	92	.75	22	.60
61	.64	91	.82	21	.68
60	.70	90	.90	20	.77
59	.77	89	.98	19	.86
58	.84	88	8.06	18	.95
57	.91	87	.15	17	14.04
56	.98	86	.23	16	.13
55	3.05	85	.31	15	.22
54	.12	84	.39	14	.30
53	.19	83	.47	13	.39
52	.26	82	.55	12	.48
51	.33	81	.63	11	.57
50	.40	80	.71	10	.66
49	.47	79	.79	09	.75
48	.54	78	.88	08	.84
47	.61	77	.96	07	.93
46	.68	76	9.04	06	15.02
45	.76	75	.13	05	.11
44	.83	74	.21	04	.20
43	.90	73	.29	03	.28
42	.97	72	.38	02	.37
41	4.04	71	.46	01	.46
40	.11	70	.54	00	.55
39	.18	69	.62	0.9799	.64
38	.26	68	.70	98	.73
37	.33	67	.79	97	.82
36	.40	66	.87	96	.91
35	.48	65	.95	95	16.00
34	.55	64	10.03	94	.10
33	.62	63	.11	93	.19
32	.69	62	.20	92	.28
31	.77	61	.28	91	.37

Fonte: Horwitz, (1980).

### 3. Acidez total

A acidez total engloba a acidez fixa e a volátil e é dada pelo conjunto dos ácidos tituláveis do vinho quando neutralizado até pH 7,0 com solução alcalina. Nos vinhos, a acidez total pouco nos diz, muito embora pode-se relacionar o grau de conservação com esta característica, contudo, não é possível explicar como que vinhos ricos em acidez total apareciam, com o tempo, inutilizados pela ação bacteriana. Enfim, a idéia de acidez total subsiste ainda, dada a necessidade do seu conhecimento como ponto de partida para determinação da acidez fixa.

Pode-se ser definida também como à soma dos ácidos tituláveis quando se neutraliza o vinho até pH 7,0 com solução alcalina. O anidrido carbônico e o anidrido sulfuroso livre e

combinado não devem ser incluídos na acidez total. Uma maneira de eliminar o anidrido carbônico dos vinhos é através da agitação a frio com uma trompa de vácuo.

### **Princípio do método**

Titulação química utilizando o azul de bromotimol como indicador do final da reação. Uma solução de normalidade conhecida de Hidróxido de sódio (NaOH) é adicionada até a viragem o que corresponde a uma coloração azul a pH 7,0.

### **Modo operatório**

Num erlenmeyer de 250 ml adicionar 5 ml de vinho ou de mosto e algumas gotas de azul de bromotimol. Titular com hidróxido de sódio 0,1 N até o aparecimento da coloração azul, tendo o cuidado de anotar o volume gasto (ml).

### **Cálculo**

A acidez total é expressa em meq/l através da multiplicação dos ml gastos por 20. Para transformar a acidez total de meq/l para g/l de ácido tartárico deve-se multiplicar o valor obtido por 0,075.

## **4. Acidez volátil**

A acidez volátil é constituída pelos ácidos graxos da série acética que se encontram nos vinhos no estado livre ou salificados. Além do ácido acético, a acidez volátil é formada por pequenas quantidades de ácido propiônico e butírico.

### **Princípio do método**

A separação dos ácidos voláteis acontece através do arraste do vapor da água. O vinho deve ser acidificado de uma pequena quantidade de ácido tartárico, aproximadamente 0,25 g para 10 ml, antes do arraste pelo vapor. Deve-se evitar a presença de gás carbônico no vinho. A acidez do anidrido sulfuroso livre e combinado destilado não deve fazer parte da acidez volátil e deve ser subtraído da acidez do destilado, assim como a acidez do ácido sórbico, eventualmente presente.

### **Modo operatório**

Colocar 250 a 300 ml de água no balão do aparelho, 10 ml de vinho e alguns cristais de ácido tartárico no tubo borbulhador. Colocar um erlenmeyer de 250 ml na saída do condensador. Aquecer com a torneira de vapor aberta, para retirar o ar que se encontra no aparelho. Um pouco antes de começar a ferver, fechar a torneira. Assim, o vapor d'água borbulha na amostra, arrastando os ácidos voláteis. Parar o aquecimento quando for recolhido 100 ml do destilado no erlenmeyer. Acrescentar algumas gotas de fenolftaleína e neutralizar com Hidróxido de sódio 0,1 N, até o aparecimento da cor rosada.

## **Cálculo**

O volume gasto em (ml) multiplicado por 10 corresponde ao valor da acidez volátil meq/l. Para transformar a acidez volátil de meq/l para g/l deve-se multiplicar o valor obtido por 0,06.

## **5. pH**

O pH do vinho corresponde à concentração de íons de hidrogênio dissolvido no mesmo. O valor do pH dos vinhos brasileiros é variável de 3,0 até 3,6 dependendo do tipo (branco, tinto) da cultivar e da safra.

A determinação do pH dos vinhos é muito importante para o controle dos fabricantes. O pH está relacionado com a resistência às doenças, com a cor, sabor, percentagem do total de dióxido de enxofre, etc. Porém, o mais importante é a resistência às doenças.

### **Princípio do método**

Efetua-se a medida da diferença de potencial entre dois eletrodos mergulhados na amostra estudada. Um destes eletrodos tem um potencial que é função do pH da amostra a analisar, o outro tem um potencial fixo, conhecido e corresponde ao eletrodo de referência.

### **Modo operatório**

O aparelho deve ser calibrado com a solução tampão de pH 3,0 de preferência numa temperatura de 20°C. Lavar bem o eletrodo com água destilada.

Colocar o eletrodo na solução tampão de pH 4,0, a temperatura de 20°C o aparelho deve indicar o mesmo valor. Lavar novamente o eletrodo.

Depois de calibrado o aparelho, colocar num copo de bequer de 100 ml, 20 ml de vinho. Agitar lentamente com o auxílio de um agitador magnético e mergulhar o eletrodo no líquido. Uma vez estabilizado, fazer a leitura do pH no aparelho.

## **6. Extrato seco**

O extrato seco do vinho corresponde ao resíduo que permanece após a evaporação dos compostos voláteis, sob condições físicas determinadas, de modo que os componentes do extrato seco sofram o mínimo de alterações possíveis.

### **Princípio do método**

O extrato seco é calculado indiretamente através do valor da densidade do resíduo sem álcool, ou do vinho mais o álcool de onde foi retirado e cujo volume foi substituído pela água. O extrato seco assim obtido corresponde à quantidade de sacarose, que dissolvida numa quantidade de água suficiente para um litro, corresponde a uma solução de mesma densidade que o resíduo sem álcool. Esta quantidade é fornecida pela Tabela 15.

### Modo operatório

A densidade do resíduo sem álcool a 20/20 (dr) é calculada pela fórmula de Tabaré:

$$dr = dv - da + 1000,$$

onde:

dv= densidade do vinho a 20°C em relação à densidade da água a 20°C.

da= densidade a 20 °C da mistura hidroalcoólica, (com o mesmo grau do vinho) em relação com a densidade de água a 20°C. Obtida através do densímetro ANTON PAAR DMA 45.

Tabela 15. Tabela de Ackermann para o cálculo do extrato seco (g/l), em vinhos secos.

| Densidade Extr-seco |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 1,0040              | 9,6                 | 1,0085              | 20,4                | 1,0130              | 31,2                | 1,0175              | 42,9                | 1,0220              | 55,9                |
| 1                   | 9,8                 | 6                   | 20,6                | 1                   | 31,4                | 6                   | 43,1                | 1                   | 56,2                |
| 2                   | 10,1                | 7                   | 20,9                | 2                   | 31,7                | 7                   | 43,4                | 2                   | 56,5                |
| 3                   | 10,3                | 8                   | 21,1                | 3                   | 31,9                | 8                   | 43,7                | 3                   | 56,8                |
| 4                   | 10,6                | 9                   | 21,4                | 4                   | 32,2                | 9                   | 44,0                | 4                   | 57,1                |
| 5                   | 10,8                | 1,0090              | 21,6                | 5                   | 32,4                | 1,0180              | 44,3                | 5                   | 57,4                |
| 6                   | 11,0                | 1                   | 21,8                | 6                   | 32,6                | 1                   | 44,6                | 6                   | 57,6                |
| 7                   | 11,3                | 2                   | 22,1                | 7                   | 32,9                | 2                   | 44,9                | 7                   | 57,9                |
| 8                   | 11,5                | 3                   | 22,3                | 8                   | 33,1                | 3                   | 45,2                | 8                   | 58,2                |
| 9                   | 11,8                | 4                   | 22,6                | 9                   | 33,4                | 4                   | 45,5                | 9                   | 58,5                |
| 1,0050              | 12,0                | 5                   | 22,8                | 1,0140              | 33,6                | 5                   | 45,8                | 1,0230              | 58,8                |
| 1                   | 12,2                | 6                   | 23,0                | 1                   | 33,8                | 6                   | 46,0                | 1                   | 59,1                |
| 2                   | 12,5                | 7                   | 23,3                | 2                   | 34,1                | 7                   | 46,3                | 2                   | 59,4                |
| 3                   | 12,7                | 8                   | 23,5                | 3                   | 34,3                | 8                   | 46,6                | 3                   | 59,7                |
| 4                   | 13,0                | 9                   | 23,8                | 4                   | 34,6                | 9                   | 46,9                | 4                   | 60,0                |
| 5                   | 13,2                | 1,0100              | 24,0                | 5                   | 34,8                | 1,0190              | 47,2                | 5                   | 60,3                |
| 6                   | 13,4                | 1                   | 24,2                | 6                   | 35,0                | 1                   | 47,5                | 6                   | 60,6                |
| 7                   | 13,7                | 2                   | 24,5                | 7                   | 35,3                | 1                   | 47,8                | 7                   | 60,8                |
| 8                   | 13,9                | 3                   | 24,7                | 8                   | 35,5                | 3                   | 48,1                | 8                   | 61,1                |
| 9                   | 14,2                | 4                   | 25,0                | 9                   | 35,8                | 4                   | 48,4                | 9                   | 61,4                |
| 1,0060              | 14,4                | 5                   | 25,2                | 1,0150              | 36,0                | 5                   | 48,7                | 1,0240              | 61,7                |
| 1                   | 14,6                | 6                   | 25,4                | 1                   | 36,2                | 6                   | 48,9                | 1                   | 62,0                |
| 2                   | 14,9                | 7                   | 25,7                | 2                   | 36,5                | 7                   | 49,2                | 2                   | 62,3                |
| 3                   | 15,1                | 8                   | 25,9                | 3                   | 36,7                | 8                   | 49,5                | 3                   | 62,6                |
| 4                   | 15,4                | 9                   | 26,2                | 4                   | 37,0                | 9                   | 49,8                | 4                   | 62,9                |
| 5                   | 15,6                | 1,0110              | 26,4                | 5                   | 37,2                | 1,0200              | 50,1                | 5                   | 63,2                |
| 6                   | 15,8                | 1                   | 26,6                | 6                   | 37,4                | 1                   | 50,4                | 6                   | 63,4                |
| 7                   | 16,1                | 2                   | 26,9                | 7                   | 37,7                | 2                   | 50,7                | 7                   | 63,7                |
| 8                   | 16,3                | 3                   | 27,1                | 8                   | 37,9                | 3                   | 51,0                | 8                   | 64,0                |
| 9                   | 16,6                | 4                   | 27,4                | 9                   | 38,2                | 4                   | 51,3                | 9                   | 64,3                |
| 1,0070              | 16,8                | 5                   | 27,6                | 1,0160              | 38,5                | 5                   | 51,6                | 1,0250              | 64,6                |
| 1                   | 17,0                | 6                   | 27,8                | 1                   | 38,8                | 6                   | 51,8                | -                   | -                   |
| 2                   | 17,3                | 7                   | 28,1                | 2                   | 39,1                | 7                   | 52,1                | -                   | -                   |
| 3                   | 17,5                | 8                   | 28,3                | 3                   | 39,4                | 8                   | 52,4                | -                   | -                   |
| 4                   | 17,8                | 9                   | 28,6                | 4                   | 39,7                | 9                   | 52,7                | -                   | -                   |
| 5                   | 18,0                | 1,0120              | 28,8                | 5                   | 40,0                | 1,0210              | 53,0                | -                   | -                   |
| 6                   | 18,2                | 1                   | 29,0                | 6                   | 40,2                | 1                   | 53,3                | -                   | -                   |

7	18,5	2	29,3	7	40,5	2	53,6	-	-
8	18,7	3	29,5	8	40,8	3	53,9	-	-
9	19,0	4	29,8	9	41,1	4	54,2	-	-
1,0080	19,2	5	30,0	1,0170	41,4	5	54,4	-	-
1	19,4	6	30,2	1	41,7	6	54,7	-	-
2	19,7	7	30,5	2	42,0	7	55,0	-	-
3	19,9	8	30,7	3	42,3	8	55,3	-	-
4	20,2	9	31,0	4	42,5	9	55,6	-	-

\*Densidade do vinho em g/ml a 20°C.

Fonte: Garoglio, (1953).

### 7. Extrato seco reduzido

O extrato seco reduzido corresponde ao extrato seco menos os açúcares totais excedentes de 1 g, o sulfato de potássio quando excedente de 1 g/l, cloreto de sódio quando excedente de 0,5 g/l, o manitol quando presente e todas as substâncias químicas eventualmente adicionadas ao vinho.

### 8. Potássio

O potássio é, quantitativamente, o cátion mais importante do vinho. O conhecimento da sua concentração é fundamental para informar ao enólogo o grau de estabilidade em relação ao bitartrato de potássio. O teor nos mostos é consequência da cultivar de videira, da evolução das condições climáticas, especialmente por ocasião da colheita.

#### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

#### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abcissa, conforme a Figura 3.

#### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de potássio normalmente encontrado no vinho varia entre 400 e 1500 mg/l.

### 9. Sódio

O sódio é um elemento natural encontrado nos vinhos. O seu teor está muito relacionado com o local de procedência da uva. Assim, vinhedos localizados em regiões próximas ao mar apresentam vinhos com teor de sódio mais elevado em relação àqueles de

regiões mais afastadas. Vinhos de regiões mais secas também apresentam teores de sódio mais elevados do que os de outras regiões mais úmidas. Outros fatores que concorrem para aumentar o teor de sódio nos vinhos são os produtos enológicos utilizados, principalmente as bentonites.

### **Princípio do método**

Espectrofotometria de emissão de chama.

### **Modo operatório**

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no trabalho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme a Figura 4.

### **Cálculo da concentração**

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrões pelo fator de diluição da amostra. O teor de sódio normalmente encontrado no vinho varia entre 5 e 50 mg/l.

## **10. Cálcio**

É importante o conhecimento da concentração de cálcio nos vinhos, uma vez que seu teor está relacionado com a precipitação do tartarato de cálcio, que acontece lentamente, geralmente, após o seu engarrafamento. O teor de cálcio nos vinhos é consequência das condições do solo, do tratamento dos mostos com carbonato de cálcio, da utilização de certos agentes filtrantes. A conservação em recipientes de concreto armado, a utilização de certas bentonites, são fatores que favorecem o aumento do teor de cálcio nos vinhos.

### **Princípio do método**

Espectrofotometria de absorção atômica.

### **Modo operatório**

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme Figura 5.

### **Cálculo da concentração**

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de cálcio normalmente encontrado no vinho, varia entre 60 e 110 mg/l.

## **11. Magnésio**

A concentração do magnésio nos vinhos está relacionada com o solo, agentes filtrantes, conservação em recipientes de concreto armado, tratamento com resinas pela concentração de álcool no vinho e outros constituintes, como no caso, tartaratos e sulfatos. O pH, o tempo e a temperatura de conservação, também exercem uma influência no teor de magnésio dos vinhos.

### **Princípio do método**

Espectrofotometria de absorção atômica.

### **Modo operatório**

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de magnésio na abscissa, conforme Figura 6.

### **Cálculo da concentração**

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de magnésio normalmente encontrado no vinho, varia entre 50 e 90 mg/l.

## **12. Manganês**

O manganês é encontrado em todos os vinhos em pequenas quantidades. Normalmente, os vinhos tintos apresentam teores mais altos desse cátion, uma vez que é encontrado em percentagem mais elevada na semente. Alguns produtos fitossanitários utilizados para controlar as doenças das videiras podem aumentar a sua concentração nos vinhos.

### **Princípios do método**

Espectrofotometria de absorção atômica.

### **Modo operatório**

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos na absorbância na ordenada e as concentrações de sódio na abscissa, conforme a Figura 7.

### **Cálculo da concentração**

O resultado é expresso em mg/l, conforme leitura na curva padrão. O teor de manganês normalmente encontrado no vinho varia entre 0,5 e 3,5 mg/l.

### 3. - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das análises básicas efetuadas nos vinhos da região Oeste de Santa Catarina são apresentados nas Tabelas 16 e 17. Nem todas as médias das variáveis enquadram-se nos limites estabelecidos nos padrões de identidade e qualidade da legislação. Os valores com cores vermelhas são as que estão fora dos limites estabelecidos por lei.

Tabela 16: Dados da análise dos vinhos branco da região Oeste de Santa Catarina, Fevereiro/2001, CNPUV-EMBRAPA-RS.

Variáveis	Vinho1	Vinhos2	Vinho 3	Vinho 4	Vinho 5	Média	Desvio Padrão
Densidade (20/20 °C)	0,994	0,9935	0,9941	0,9936	0,9987	0,9948	±0,0022
Álcool (% v/v)	10,3	10,5	10,2	9,7	7,2	9,58	±1,3627
Acidez total (meq/L)	66	66	60	68	62	64,4	±3,2863
Acidez volátil (meq/L)	11	11	17	15	13	13,4	±2,6077
PH	3,34	3,31	3,65	3,2	3,45	3,39	±0,1704
Extrato seco (g/L)	17,28	16,4	16,92	13,72	17,88	16,44	±1,6132
Relação peso-extrato seco reduzido	5,7523	6,0579	5,8753	7,242	5,5856	6,1026	±0,6599
K (mg/L)	786	751,6	854,9	491,1	850	746,72	±149,40
Na (mg/L)	110,8	103,1	22,5	87,1	24	69,5	±43,08
Ca (mg/L)	67,3	63,1	41,2	68,4	37,5	55,5	±14,932
Mg (mg/L)	34,9	35,8	28,4	24,4	29	30,5	±4,7781
Mn (mg/L)	1,4	1,4	0,9	1,3	0,9	1,18	±0,2588

Tabela 17: Dados da análise dos vinhos tinto da região Oeste de Santa Catarina, Fevereiro/2001, CNPUV-EMBRAPA-RS.

Variáveis	Vinho 1	Vinho 2	Vinho 3	Vinho 4	Vinho 5	Vinho 6	Vinho 7	Vinho 8	Vinho 9	Média	D.P.
Densidade (20/20 °C)	0,9939	0,9917	0,9934	0,9935	0,9962	0,9927	0,996	0,9938	0,9941	0,9939	0,0014
Álcool (% v/v)	10,40	10,40	10,60	10,53	9,38	10,10	10,30	10,00	10,50	10,25	0,3796
Acidez total (meq/L)	70	54	54	54	102	60	96	70	76	70,667	18,0278
Acidez volátil (meq/L)	14	16	6	6	29	15	10	14	11	13,444	6,8940
PH	3,23	2,93	2,77	2,76	2,9	3,06	3,23	3,12	3,25	3,0278	0,1952
Extrato seco (g/L)	16,96	11,24	18,68	18,6	18,32	12,96	20,08	15,2	17,6	16,627	2,9253
Relação peso-extrato seco reduzido	5,86	8,83	5,32	5,34	5,44	7,66	4,96	6,54	5,65	6,18	1,28
K (mg/L)	496	156,8	177,9	181,8	741,8	303,7	825,4	446,9	780,8	456,79	271,696
Na (mg/L)	65,2	51	113,2	136,9	70,6	62,3	6,3	56,9	59,2	69,067	37,2888
Ca (mg/L)	71	54	38,5	38,5	100	75,3	121,7	74,2	90,7	73,767	27,7510
Mg (mg/L)	26	10,1	9,3	9,3	57,5	19,5	94,5	36,7	52,9	35,089	28,7923
Mn (mg/L)	1	0,6	0,4	0,4	2,4	1	2,8	1,6	2,3	1,3889	0,91983

#### 1. Densidade

Tanto nos vinhos brancos como nos tintos analisados não ocorreu nenhum problema em relação à densidade. A densidade estará ligada ao açúcar residual e a quantidade de álcool.

## 2. Teor alcoólico

O teor alcoólico, além de ser componente responsável pela diluição dos constituintes fixos do vinho, participa do gosto adocicado e é um fator de conservação do mesmo.

Dos valores detectados apenas dois vinhos brancos n° 4 e 5 (9,7% e 7,2%) e um vinho tinto n° 5 (9,38%) não se enquadra nos parâmetros da legislação brasileira (10% v/v – 13% v/v).

## 3. Acidez total

A acidez total dos vinhos brancos encontra-se dentro dos limites (55 meq/l - 130 meq/l), e para três vinhos tintos n°s 2,3 e 4, os valores ficaram abaixo do limite legal em 1 meq/L.

Nos vinhos, a acidez total pode relacionar com o grau de conservação, se bem que por vezes não é possível explicar como é que vinhos ricos em acidez total apareciam, com o tempo, inutilizados pela ação bacteriana. **4. Acidez volátil**

A acidez volátil é constituída pelos ácidos graxos presentes no vinho, tais como fórmico, acético, butírico, etc. Um alto conteúdo de ácido acético tem menos importância em vinhos velhos do que em jovens, pois logo após sua elaboração, uma alta acidez volátil pode indicar a presença de organismos daninhos, particularmente a *Acetobacter* que eventualmente poderá converter o vinho em vinagre.

Em resumo, o elaborador de vinhos necessita conhecer a quantidade de acidez volátil presente, por três razões: estar dentro dos limites legais, seguir o desenvolvimento da acidez volátil durante o armazenamento e como uma medida de possível deterioração.

Os valores de acidez volátil das amostras dos vinhos brancos ficaram dentro do limite legal (< 20,0 mg/L), e em um vinho tinto n°5(29 meq/L), o valor foi muito superior a o limite máximo

## 5. pH

A determinação do pH dos vinhos é muito importante para o controle dos fabricantes. O pH está relacionado com a resistência às doenças, com a cor, sabor, percentagem do total de dióxido de enxofre, etc. Porém, o mais importante é a resistência às doenças. Os vinhos de mesa devem ter um pH inferior à 3,6.

O pH, junto com a acidez total, indica o grau de acidez dos vinhos. Apenas o vinho branco n° 3 encontram-se acima do limite normal, que é abaixo de 3,6.

## 6. Extrato-seco

O extrato-seco traduz-se pelo resíduo que fica de um vinho depois de evaporado a 100°C e engloba todas as substâncias fixas, minerais e orgânicas, como: a glicerina, matéria corante, sais, tanino, ácido succínico, etc. É variável com a natureza do vinho e tratamentos feitos; colagem, filtrações, correções, etc.; serve até certo ponto como indicador de fraudes, normalmente da adição com água.

O extrato-seco é reflexo da quantidade de açúcar inicial do mosto: quanto maior o açúcar inicial, maior é o resíduo não alcoólico do vinho resultante. Ele representa a estrutura e corpo do vinho.

As amostras apresentaram valores muito próximos da média. A relação peso e extrato-seco reduzido o vinho branco nº4 (7,24) encontra-se acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira que é de 6,5. Sendo que, para todos os vinhos tintos o limite máximo de 4,8 foi ultrapassado, com uma média de 5,65, indicando um teor baixo de extrato seco reduzido, originando um vinho de pouco corpo.

## 7. Minerais

A composição mineral do vinho se origina, essencialmente, da parte sólida da uva, embora operações tecnológicas de vinificação, estabilização, conservação e envelhecimento provoquem modificações acentuadas. Para a enologia são importantes, pois fazem parte da maior fração de matéria inorgânica (cinzas), participando do processo de clarificação e estabilização, além de contribuir para caracterizar os vinhos de uma determinada região. A maceração prolongada e a prensagem enérgica são responsáveis pelo aumento destes elementos e, conseqüente, do teor de cinzas. A fermentação alcoólica participa para diminuir seu teor. As precipitações conseqüentes do equilíbrio iônico, que asseguram a estabilização físico-química do vinho, são responsáveis pela diminuição destes cátions.

### 7.1. Potássio (K)

O potássio (K) é considerado o cátion mais importante do vinho. Para o enólogo a sua determinação é fundamental para informar o grau de estabilidade em relação ao bitartrato de potássio. O teor nos mostos é dependente do tipo de cultivar de videira e da evolução das condições climáticas, especialmente por ocasião da colheita.

O potássio é o cátion predominante dos mostos e vinhos. Por ser a videira uma planta que extrai muito potássio do solo, o vinho é uma solução saturada de potássio e ácido tartárico, fazendo com que 40% a 50% das cinzas sejam constituídas deste mineral. Nos vinhos brancos o teor deste cátion é menor que nos vinhos tintos devido à maceração.

Entre as amostras de vinhos brancos apenas a amostra nº 4 (491,1mg/L), e nos vinhos tintos as amostras nºs 1, 2, 3, 4, 6 e 8, (496 mg/L, 156,8 mg/L, 177,9 mg/L, 181,8 mg/L, 303,7 mg/L, 446,9 mg/L respectivamente) apresentaram valores abaixo do mínimo normalmente encontrado em literatura que é de 500 mg/L.

### 7.2. Sódio (Na)

O sódio (Na) é um elemento natural encontrado no vinho. O teor está relacionado ao local de procedência da uva. Vinhedos cultivados em locais próximos ao mar apresentam vinhos com teor de sódio mais elevado em relação àqueles de regiões mais afastadas. Vinhedos de regiões mais secas também apresentam teores de sódio mais elevados do que os de outras regiões mais úmidas. Outro fator que interfere para o aumento do teor de sódio nos vinhos são os produtos enológicos utilizados, principalmente as bentonites.

O teor de sódio encontrado na literatura varia de 20 mg/L a 200 mg/L. Já a legislação brasileira estabelece o máximo de 200 mg/L de cloreto de sódio. Os teores mais elevados são encontrados em vinhos provenientes de vinhedos localizados próximos ao mar, que não é o caso das amostras analisadas.

As amostras apresentam valores médios de 69,5 mg/L para os vinhos brancos e 69,067 mg/L para os vinhos tintos, estando dentro dos limites estabelecidos pela legislação e nas literaturas.

### 7.3. Cálcio (Ca)

A concentração de cálcio (Ca) nos vinhos é de suma importância por estar relacionado com a precipitação de tartarato de cálcio, que ocorre lentamente, geralmente após o seu engarrafamento. O teor de cálcio nos vinhos é consequência das condições do solo, do tratamento dos mostos com carbonato de cálcio e da utilização de certos agentes filtrantes. Alguns fatores favorecem o aumento da concentração de cálcio nos vinhos, tais como: a conservação em recipientes de concreto armado e a utilização de certas bentonites

O teor médio de cálcio dos vinhos é de 50 mg/L a 150 mg/L. É necessário saber seu teor para monitorar a precipitação do tartarato de cálcio, que ocorre lentamente, geralmente após o engarrafamento. O aumento do teor pode ser causado pelo uso de sulfato de cobre antes da colheita, utilizado como anti-fúngico.

Os vinhos apresentaram valores médios (55,5 mg/L para vinhos brancos e 73,77 para tintos) dentro dos limites estabelecidos pela legislação. As amostras de vinhos brancos n<sup>os</sup> 3 e 5, apresentaram valores abaixo desse limite mínimo (41,2 mg/L e 37,5 mg/L).

### 7.4. Magnésio (Mg)

O teor de magnésio (Mg) nos vinhos está relacionado com o tipo de solo, agentes filtrantes, conservação em recipientes de concreto armado, tratamento com resinas pela concentração de álcool no vinho e outros constituintes, como, tartaratos e sulfatos. O pH e a temperatura também influenciam o teor de magnésio nos vinhos.

Os teores de magnésio das amostras aparecem baixos, diferenciando do normal que se situa entre 80 mg/L e 120 mg/L. Apenas a amostra de vinho tinto n<sup>o</sup> 7 (94,5 mg/L) possui valores dentro deste limite.

### 7.5. Manganês (Mn)

O manganês (Mn) é encontrado em pequenas quantidades em todos os vinhos. Normalmente os vinhos tintos apresentam teores mais altos deste cátion, uma vez que é encontrado em percentagem mais elevada na semente. Alguns produtos fitossanitários utilizados para controlar as doenças das videiras podem aumentar a sua concentração nos vinhos.

O manganês (Mn) caracteriza a região de origem e se encontra em maior concentração nas sementes. O teor varia de 0,5 mg/L a 5 mg/L. Duas amostras de vinhos tintos (n<sup>os</sup> 3 e 4) possuem valores abaixo do limite inferior estabelecidos por lei.

#### 4. CONCLUSÕES

Verificamos que entre os vinhos brancos as amostras apresentaram de uma a três análises fora dos padrões exigidos pela legislação ou relatada pela bibliografia, com uma média por amostra de 2,2 análises fora dos padrões. Entre os vinhos tintos esse número varia de dois a cinco com uma média por amostra de 3,45 análises fora dos padrões exigidos pela legislação ou pela literatura. Entre todos, as amostras com mais de três análises fora dos padrões podem apresentar problemas que possam condenar o produto e prejudicar a saúde do consumidor.

Com uma análise físico-química mais detalhada, como por exemplo, análise dos açúcares redutores, nitrogênio total, prolina, dióxido de enxofre livre e total, demais elementos minerais, compostos voláteis dos vinhos, e uma análise sensorial mais criteriosa, poderíamos obter mais dados e parâmetros para analisar e discutir melhor os dados encontrados sobre as amostras de vinhos.

Em geral, muitas amostras foram definidas como um produto excessivamente trabalhado, com o uso sem critérios de bentonites e metabissulfito de potássio, o que permitiu também detectar deficiências no que se refere à qualidade da matéria-prima e à tecnologia empregada na vinificação.

## V. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U. DE; BORZANI, W. **Biotecnologia: Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo - SP, Ed. Edgard Blucher Ltda, vol.5, 243p., 1983.
  
- ALMEDA, I.; JAVALOY, S.; LOPEZ-ROCA, J.M.; FERNANDEZ LOPEZ, J.A. Características cromáticas de vinos tintos elaborados en la D. O. Jumilla. **Cong. Intern. Tec y Desar. Alimen.** Resumos, p. 219-224. 1992.
  
- AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. **Analisis de vinos y mostos**. Madrid. Ed. Acribia, 158 p. 1976.
  
- ARFELLI, G.; CHIAVARI, G.; CASTELLARI, M.; AMATI, A.; Influenza della tecniuca di vinificazione sul contenuto di sostanze polifenoliche di vini ottenuti da uve di cultivars diverse – Nota I. **Vignevini**. N. 6, p. 53-57. 1992.
  
- ARNOLD, R.A.; NOBLE, A.C. Bitterness and astringency of grape seed phenolics in model wine solution. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 29, n. 3, p. 150-152. 1978.
  
- AUW, J.M.; B., V.; O'KEFEE, S.F.; SIMS, C.A. Effect of processing on the phenolic and color of cabernet sauvignon, chambourcin, and noble wines and juices. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 47, n.3, p. 279-286, 1996.
  
- BAKKER, J.; TIMBERLAKE, C.F. The merchanism of color changes in aging port wine. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 37, n. 4, p. 288-292, 1986.
  
- BAKKER, J.; ARNOLD, G.M.; Analysis os sensory and chemical data for color evaluation of range of red port wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 44, n. 1, p. 27-34, 1993.
  
- BERG, H.W.; AKIYOSHI, M.A. Color behavior during fermentation and aging of wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 13, n. 2, p. 126-132, 1962.
  
- BERSELLI, E.; RIZZON, L.A. Caracterização analítica e sensorial do vinho Niágara
  
- BOSSI, G.; **Teoria e pratica della degustazione dei vini**. Dyanthus Edizioni, Roma - Italia, 175p., 1995.
  
- BOURZEIX, M.; WEYLAND, D.; HEREDIA, N. Étude des catéchine et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne. **Bull. De l'O I V**, n. 669-670, p. 1172-1254, 1986.
  
- CACHO, J.; CASTELLS, J.E. Fractionation of phenolic compounds from grapes by size exclusion liquid chromatography with HPLC instrumentation. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.42, n. 3, p. 327-335, 1995.

- CARANDO, S.; TEISSEDE, P.L.; CABANIS, J.C. Estimation de l'apport en catéchines et procyanidines relatif à une consommation modérée et régulière de vins en France. **Bull. l' OIV**, v. 72, p. 815-816, 1999.
- CARLES, J. **La química del vino**, Ed. Oikos-tau, Barcelona - Espanha, 123p., 1972.
- CATALUÑA, E. **Uvas e vinhos**. Rio de Janeiro - RJ, Ed. Globo, 230p., 1984.
- CHEYNIER, V.; RIGAUD, J. HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of *Vitis vinifera* var. Cinsault. **Am. J. Enol. Vitic.** v. 37, n. 4, p. 248-252. 1986.
- CHEYNIER, V.; ARELLANO, I.H.; SOUQUET, J.M.; MOUTOUNET, M. Estimation of the oxidative changes in phenolic compounds of carignane during winemaking. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 48, n. 2, p. 225-228. 1997.
- CRIPPEN, D.D., Jr.; MORRISON, J.C. The effects of sun exposure on the phenolic content of *Cabernet sauvignon* berries during development. **Am. J. Enol. Vitic.** v. 37, n. 4, p. 243-247, 1986
- CUINIER, C. Ceppi di lievito e composizione fenolica dei vini rossi. **Vignevini**, n. 7/8, p. 39-41. 1997.
- CURVELO-GARCIA, A.S. **Controle de qualidade dos vinhos: Química Enológica - Métodos analíticos**, Ed. Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa - Portugal, 420p., 1988.
- DALLAS, C.; LAUREANO, O. Effects of pH, sulphur dioxide, alcohol content, temperature and storage time on colour composition of a young portuguese red table wine. **J. Sci. Food Agric.**, v. 65, p. 477-485, 1994.
- DELANOE, D.; MAILLARD, C.; MAISONDIÉU D. **O vinho da análise á elaboração**, Publicações Europa-América, LBA, Portugal, 225p., 1989.
- DELCOUR, J.A.; VANDENBERGHE, M.M.; CORTEN, P.F.; DONDEYNE, P. Flavor thresholds of polyphenolics in water. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 35, n. 3, p. 134-136, 1984.
- Di STEFANO, R. Extraction of phenolics from grape solids during fermentation. **Acta Horticulturae**, n. 388, p. 163-170, 1995.
- DOKOOZLIAN, N.K.; KLIEWER, W.M. influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, v. 121, n. 5, p. 869-874, 1996.
- FERRARI, S.; GHERI, A.; ROSI, I.; TRIOLI, G. polisaccaridi del lievito e polifenoli. **Vignevini**, n. 7/8, p. 43-45, 1997.
- FRANCIS, F.J.; MARKAKIS, P.C. Food colorants; anthocyanins. **Cr. R. Food Science Nutrition**, v. 28, n.4, p. 273-315, 1989.
- GILABERT, E.J. **Medida del color**. Universidade Politécnica de Valencia, 1992, 177p.

- GUARDIOLA, S.; MASQUÉ, M.C.; IÑÍGUEZ, M. estudio del color de los vinos de las distintas denominaciones de origen de cataluña. In: **18<sup>a</sup> Jornada de Vitic. e Enol. De Tierras de Bajos, Almendralejo, Anais...**, p. 365-378, 1997.
- HEBRERO, E.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J.C. High performance liquid chromatography-diode array spectroscopy identification of anthocyanins of *Vitis vinifera* variety Tempranillo. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 39, n. 3, p. 227-233, 1988.
- HEBRERO, E.; GARCIA-RODRIGUES, C.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J.C. Analysis of anthocyanins by high performance liquid chromatography-diode array spectroscopy in a hybrid grape variety (*Vitis vinifera* X *Vitis berlandieri* 41B). **Am. J. Enol. Vitic.**, v.40, n. 4, p. 283-291, 1989.
- HECKTHEUER, L.H.R. **Envejecimiento en botella de vinos tintos varietales de Tempranillo, Bobal y Monastrell**. Tesis Doctoral. Univ. Politec. Valencia, 256p., 1996.
- IDE, G.M.; DAUDT, C.E. Evolução da cor durante a maturação das uvas tintas. **Ciência Rural**, v. 23, n.2, p. 227-231, 1993.
- JENSEN, F.L.; KISSLER, J.J.; PEACOCK, W.L.; LEAVITT, G.M. Effect of ethephon on color and fruit characteristics of Tokay and Emperor table grapes. **Am J. Enol. Vitic.**, v.26, n. 2, p. 79-81, 1975.
- JURD, L. Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 20, n.2, p. 191-195, 1969.
- KANNER, J.; FRANKEL, E.; GRANIT, R.; GERMAN, B.; KINSELLA, J.E. Natural antioxidants in grape and wines. **J. Agric. Food Chem.**, v.42, n.1, p. 64-69, 1994.
- KANTZ, K.; SINGLETON, V.L. Isolation and determination of polymeric polyphenols using sephadex LH-20 and analysis of grape tissue extracts. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 41, n.3, p.223-228, 1990.
- KINSELLA, J.E.; FRANKEL, E.; GERMAN, B.; KANNER, J. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. **Food Technology**, v. 47, n. 4, p. 85-89, 1993.
- KOVAC, V.; ALONSO, E.; BOURZEIX, M. REVILLA,E. Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wines. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, n. 10, p. 1953-1957, 1992.
- LAMUELA-RAVENTÓS, R.M.; WATERHOUSE, A.L. A direct HPLC separation of wine phenolics. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 45, n. 1, p. 1-5, 1994.
- LA NOTE, E.; LIUZZI, V.A.; GAMBACORTA, G. Il colore del vino in relazione alla frazione antocianica ionizzata influenza del sistema di macerazione. **Riv. Vitic. Enol.**, n. 3, p. 21-35, 1993.

MACHEIX, J.; SAPIS, J.; FLEURIET, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grape and wines. **Cr. R. Food Science Nutr.**, v. 30, n. 3, p. 441-486, 1991.

MAZZA, G. Anthocyanins in grape and grape products. **Cr. R. Food Science Nutr.**, v. 35, n. 4, p. 341-371, 1995.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton: CRC Press, 1993, 362 p.

MCDONALD, M.S.; HUGHES, M.; BURNS, J.; LEAN, M.E.J.; MATTHEWS, D.; CROZIER, A. Survey of the free and conjugated Myricetin and Quercetin content of red wines of different geographical origins. **J. Agric. Food Chem.**, v.46, n.2, p.368-375, 1998.

McMURROUGH, I.; McDOWELL, J. Chromatographic separation and automated analysis of flavonols. **Anal. Biochem.**, v. 91, p. 92-100, 1978.

MERIDA, J.; MOYANO, L.; MILLAN, C.; MEDINA, M. Extraction of phenolic compounds in controlled macerations of Pedro Ximenes Grapes. **Vitis**, v.30, p.117-127, 1991.

MORRIS, J.R.; SIMS, C.A.; CAWTHON, D.L. Effects of excessive potassium levels on pH, acidity and color of fresh stored grape juice. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.34, n.1, p.35-39, 1983.

MYERS, T.E.; SINGLETON, V.L. The nonflavonoid phenolic fraction of wine and its analysis, **Am. J. Enol. Vitic**, v. 30, n. 2, p. 98-102, 1979.

OSZMIANSKI, J.; ROMEYER, F.M.; SAPIS, J.C.; MACHEIX, J.J.; Grape seed phenolics: extraction as affected by some conditions occurring during wine processing. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 37, p. 7-12, 1986.

OSZMIANSKI, J.; SAPIS, J.C. Fractionation and identification of some low molecular weight grape seed phenolics. **J. Agric. Food Chem.**, v.37, n. 5, p. 1293-1297, 1989.

PARDO, F.; NAVARRO, G., Evolución de los compuestos fenólicos de vinos tintos obtenidos con diferente tiempo de maceración. **Vitic. /Enol. Profesional**, n 34, octubre/diciembre, p. 51-59, 1994.

PARODI, G. Aspetti tecnico/scientifici de la vinificazione in rosso, **Vignevini**, n. 3, p. 36-44, 1999.

PARONETTO, L. & PARONETTO, L. **Ausiliari chimici e biologici in Enologia: legislazione, codice delle pratiche Enologiche, merceologia, saggi di purezza – Documentazioni di sperimentazione e ricerche – Tecnia dei trattamenti**; Editrice INTEC, Verona, Italy, 1986. 925p.

PEYNAUD, É. **Sur la formation d' acétate d' éthyle par les levures de vin**. Industr. alim. agr. 73- Espanha, p.253-257, 1956.

- PEYNAUD, É. **Enología práctica: Conocimiento y Elaboracion del vino**, Ed. Mundi-Prensa, Madrid - Espanha, 414p. 1977.
- PIRIE, A.; MULLINS, M.G. Interrelationships of sugars, anthocyanins, total phenols and dry weight in the skin of grape berries during ripening. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 28, n.4, p. 204-209, 1977.
- POLENTA, G.A. **Evolução de compostos fenólicos durante a fermentação de mostos provenientes de três regiões do Rio Grande do Sul submetidos a diferentes tratamentos**. Santa Maria; UFSM, 1996. 140? P., Dissertação (Mestrado em Ciên. E Tecn. dos Alim.) - Universidade Fed. de Sta. Maria, Brasil, 1996.
- PRESA-OWENS, C. DE LA; LAMUEDA-RAVENTÓS, R.M.; BUXADERAS, S.; TORRE-BORONAT, M.C. DE LA. Differentiation and grouping characteristics of varietal grape musts from Penedès region **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 46, n.3, p. 283-291, 1995.
- RAMEY, D.; BERTRAND, A.; OUGH, C.S.; SINGLETON, V.L.; SANDERS, E. Effects of skin contact temperature on chardonnay must and wine composition. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 37, n.2, p. 99-106, 1986.
- RAPP, A.; BACHMANN, O.; STEFFAN, H. Les composés phénoliques du raisin et du vin effects sur la qualité (vins blancs). **Bull. l'OIV**, v.50, n. 553, p. 167-196, 1977.
- RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; SOUQUET, J.M.; MOUTOUNET, M. Influence of must composition on phenolic oxidation kinetics. **J. Sci. Food Agric.**, v. 57, n. 1, p. 55-63, 1991.
- RIBEREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; **Análisis de vinos**. 2º edição. Ed, Aguilar S.A.. Madri, Espanha, 1958.
- RIZZON, L.A.; **Incidence de la macération sur la composition chimique des vins**. França, 1985, 225p. tese (doutorado em Enologia-ampelologia), Universidade de Bordeaux II, 1985.
- RIZZON, L.A.; Teor de glicerol nos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul. Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - CNPUV - EMBRAPA, **Comunicado técnico nº 5**, Bento Gonçalves - RS, 5p. 1987.
- RIZZON, L.A.; Composição química dos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) - Compostos voláteis. Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - CNPUV - EMBRAPA, **Comunicado técnico nº 5**, nov, Bento Gonçalves - RS, 4 p., 1987.
- RIZZON, L.A.; GATTO, N.M. Características analíticas dos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) - Análises clássicas. Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - CNPUV - EMBRAPA, **Comunicado técnico nº 6**, nov, Bento Gonçalves - RS, 5p., 1987.

RIZZON, L.A.; SALVADOR, M.B.G. Teores de cátions dos vinhos da microrregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311). Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - CNPUV - EMBRAPA, **Comunicado técnico nº 4**, nov, Bento Gonçalves - RS, 4p.,1987.

RIZZON, L.A.; ROSIER, J.P.; SALVADOR, M.B.G. Características analíticas dos vinhos de Santa Catarina. Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - CNPUV - EMBRAPA, **Comunicado técnico** - Abril, Bento Gonçalves - RS, 5p.,1988.

RIZZON, L.A., ZANUZ, M.C.; MIELE, A., Evolução da acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícolas do Rio Grande do Sul. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 18(2):179-183, maio-jul, 1998.

RIZZON, L.A.; **Metodologia para análise de vinhos**. Bento Gonçalves, EMBRAPA/CNPUV. 68 p./Polígrafo, 1991.

RIZZON, L.A. Espectrofotometria de absorção atômica na análise de vinhos brasileiros. Bento Gonçalves, EMBRAPA/CNPUV. 13 p. [199-]. (não publicado).

RIZZON, L.A, ZANUZ, M.C., MANFREDINI, S. Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 1994, 36p.

RIZZON, L.A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J., Avaliação da uva cv. Isabel para elaboração de vinho tinto. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas - SP 20(1):115:121, jan-abr., 2000.

ROBICHAUD, J.L.; NOBLE, A.C. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. **J. Sci. Food Agric.**, v. 53, n. 3, p. 343-353, 1990.

ROBIN, J.P.; LOPEZ, F.; DE BOUBEE, D.R.; IGOUNET, O.; SUAVAGE, F.X.; PRADAL, M.; VERRIES, C. La coloration des baies du raisin Syrah au cours de leur maturation. Relations entre les descripteurs de la couleur, dynamique *in situ* et influence des facteurs de l'environnement. **J. Int. Sci. Vigne Vin.**, v. 30, n. 4. P. 187-199, 1996.

ROBINSON, W.B.; WEIRS, L.D.; BERTINO, J.J.; MATTICK, L.R. The relation of anthocyanin composition to color stability of New York state wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 17, n.2, p. 178-184, 1966.

SALAGOÏTY-AUGUSTE, M.; BERTRAND, A. Wine Phenolics – Analysis of low molecular weight components by high performance liquid chromatography. **J. Sci. Food Agric.**, v. 35, p. 1241-1247, 1984.

SARNI-MANCHADO, P.; FULCRAND, H.; SOUQUET, J.M.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. **J. Food Science**, v. 61, n. 5, p. 938-941, 1996.

SIMS, C.A.; BATES, R.P.; MORTENSEN, J.A. Effects of must polyphenoloxidase activity and timing of sulfite addition on the color and quality of *Vitis rotundifolia* and *Vitis hybrid* white wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 42, n.2, p. 128-132, 1991.

SINGLETON, V.L. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: observations and practical implications. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 38, n.1, p. 64-77, 1987.

SOLEAS, G.J.; DAM, J.; CAREY, M.; GOLBERG, D.M. toward the fingerprint of wines: cultivar-related patterns of polyphenolic constituents in Ontario wines. **J. Agric. Food Chem.** V. 45, p. 3871-3880, 1997.

SOMERS, T.C. Pigment profiles of grape and wines. **Vitis**, v. 7, p. 303-320, 1968.

SOMERS, T.C.; The polymeric nature of wine pigments. **Phytochemistry**, v. 10, p. 2175-2186, 1971.

SOMERS, T.C.; ZIEMELIS, G.; Spectral evaluation of total phenolic components in *Vitis vinifera*: grapes and wines. **J. Sci. Food Agric.**, v. 36, p. 1275-1284, 1985.

SPONHOLZ, W.R. L'attività enzimatica dei lieviti e la stabilità del colore rosso dei vini. **Vignevini**, n. 7/8, p. 34-36, 1997.

TEISSEDRE, P.L.; WATERHOUSE, A.L.; WALZEM, R.L.; GERMAN, J.B.; FRANKEL, E.N.; EBELER, S.E.; CLIFFORD, A.J. Composés phénoliques du raisin et du vin et santé. **Bull. l'OIV**, n. 781-782, p. 251-277, 1996

TRORNGATE III, J.H. Flavan-3-ols and their polymery. In: Beer and Wine Production, Barry H. Gump (Ed.), p. 51-63, 1993.

TIMBERLAKE, C.F.; BRIDLE, P.; Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 27, n. 3, p. 97-105, 1976.

USSEGLIO-TOMASSET, L. Los compuestos fenolíticos de los vinos y su evolución. In: II Jornada Universitaria de Viticultura y Enología en Jerez, 1989. Jerez. **Anales ...** - Servicio de Publicaciones, Universidad de Cadiz, 1989, p.19-25.

VALDÉS-SÁNCHEZ, M.E.; MATEOS C.A.R. Elaboración de tintos en presencia de enzimas pectolíticos: Evolución de compuestos polifenólicos. Incidencia de atributos cromáticos. **Alimentaria**, n. 10, p. 63-68, 1994.

YOKOTSUKA, K.; SINGLETON, V.L.; Interactive precipitation between graded peptides from gelatin and specific grape tannin fractions in wine-like model solutions. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 38, n. 3, p. 199-206, 1987.

WICKS, A.S.; KLIEWER, W.M. Further investigations into the relationship between anthocyanins, phenolics and soluble carbohydrates in grape berry skins. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 34, n. 2, p. 114-116, 1983.

WULF, L.W.; NAGEL, C.W. Analysis of phenolic acids and flavonoids by high-pressure liquid chromatographic. **J. of Chromat.**, v. 116, p. 271-279, 1976.

### **Outras atividades desenvolvidas durante o estágio**

- Saída a campo para coleta de amostras de uva para vinificação e posterior análise e caracterização da safra 2001 na região;
- Freqüente verificação da maturação da uva nos vinhedos da EMBRAPA – CNPUV, para verificar o grau Brix ideal para a colheita;
- Discussões freqüentes com pesquisadores sobre a postura que a EMBRAPA possui diante da sociedade, e aos que precisam dela. Bem como formas ideais para fornecer informações e possibilitar a prestação de assistência para os produtores da região, com o objetivo de melhorar a qualidade dos produtos;
- Visitaçãõ a cantina da EMBRAPA e a observação do processo de vinificação;
- Participação e ajuda em microvinificações para posterior análise do mosto e do vinho;
- Acompanhamento da defesa de tese de pós-graduação em Ciência a Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas, no auditório da EMBRAPA/CNPUV – Bento Gonçalves, pelo senhor Aguinaldo Parussolo, com o título: “Armazenamento e refrigeração de pêssegos var. cultivar Chiripá”, no dia 31/01/2001.
- Discussões sobre como a fiscalização deveria agir para combater fraudes e outros problemas que prejudiquem a qualidade e possam trazer riscos à saúde da população, com fiscais da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul e com os pesquisadores da EMBRAPA, Dr. Luiz A. Rizzon e Alberto Miele.
- Acompanhamento de cursos ministrados pelo Dr. Luiz A. Rizzon, sobre uvas e vinificação para produtores interessados.

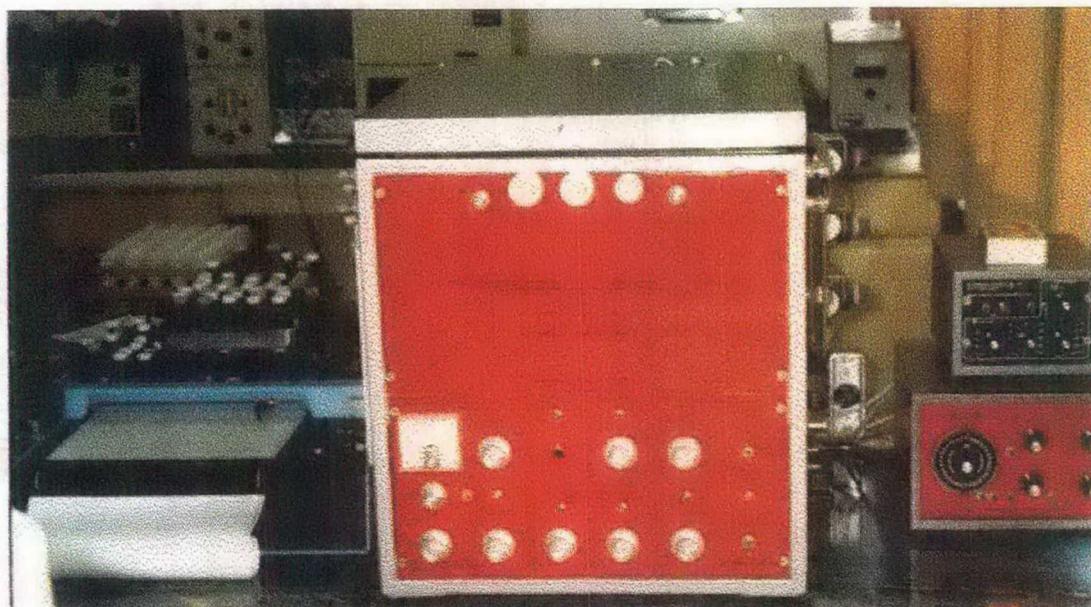
## **ANEXOS**

Anexo 1: Figuras

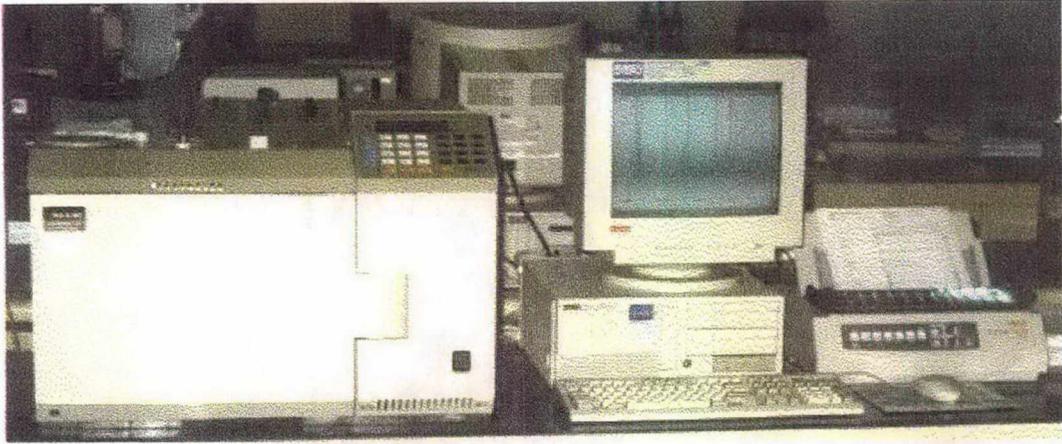
Anexo 2: Limites analíticos estabelecidos pela legislação brasileira para vinhos de mesa.

Anexo 3: Metodologia para análise de vinho.

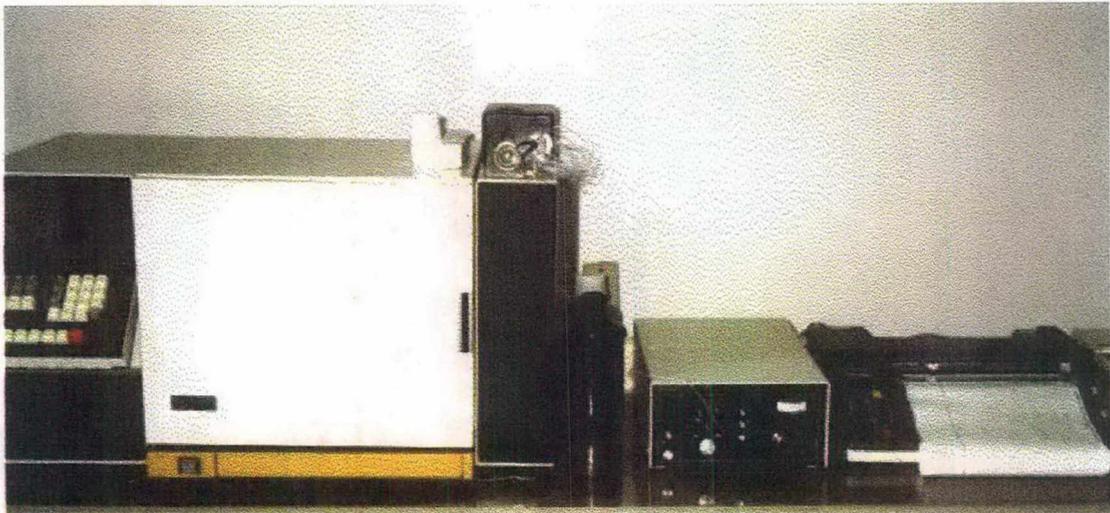
# Anexo 1



**Figura 1:** Cromatógrafo a gás, marca CG, modelos 3537 D e 3537 S equipado com coluna empacotada (clássica) e detector de ionização de chama, utilizado para determinação dos compostos voláteis do vinho que se encontram em concentração relativamente elevada, sendo possível separar e analisar através de injeção direta do vinho (aldeído acético, acetato de etila, metanol, etanol,  $\alpha$ -propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, glicerol, 2,3-butanodiol, acetoína e lactato de etila).



**Figura 2:** Cromatógrafo a gás marca Perkin-Elmer, modelo Autosystem XL, equipado com detector de ionização de chama, utilizado para determinação de compostos voláteis de vinho (ésteres etílicos, ésteres acetatos, ácidos voláteis e alguns álcoois superiores).



**Figura 3:** Cromatógrafo líquido marca Varian, modelo 5000, equipado com detector refratométrico, utilizado para determinação de açúcar e glicerol em mostos e vinhos.



**Figura 4:** Aparelho Cazenave-Ferre equipado com uma coluna de refrigeração de 40 cm, é usado para determinar a acidez volátil dos mostos e vinhos.



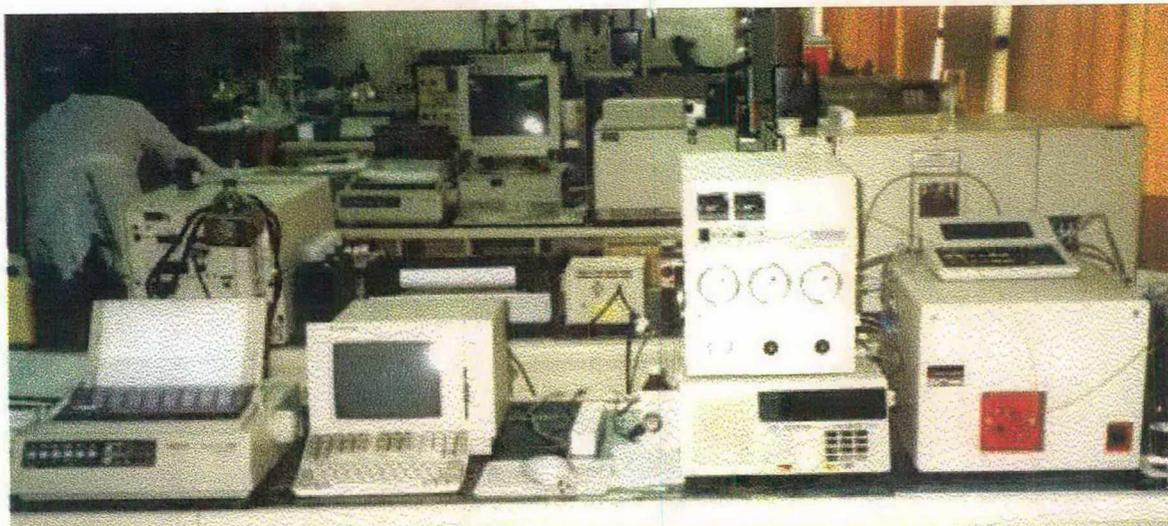
**Figura 5:** Densímetro Antor Paar DMA 45, fornece a densidade do mosto e do vinho.



**Figura 6:** Aparelho de destilação automática, Gibertini, modelo Vade 3, destilador eletrônico enoquímico, utilizado para determinar o grau alcoólico e acidez volátil.



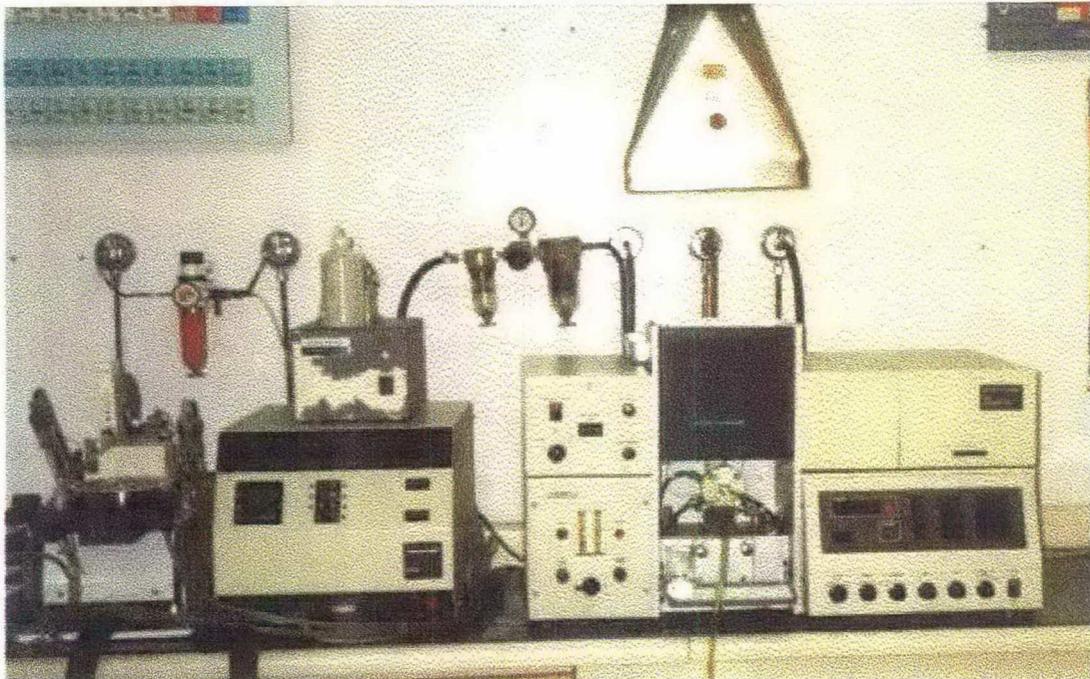
**Figura 7:** Cromatógrafo a gás marca Perkin-Elmer, modelo Autosystem XL, equipado com detector seletivo de massa (Q-MASS 910), utilizado para detectar compostos voláteis presentes no vinho em pequenas quantidades.



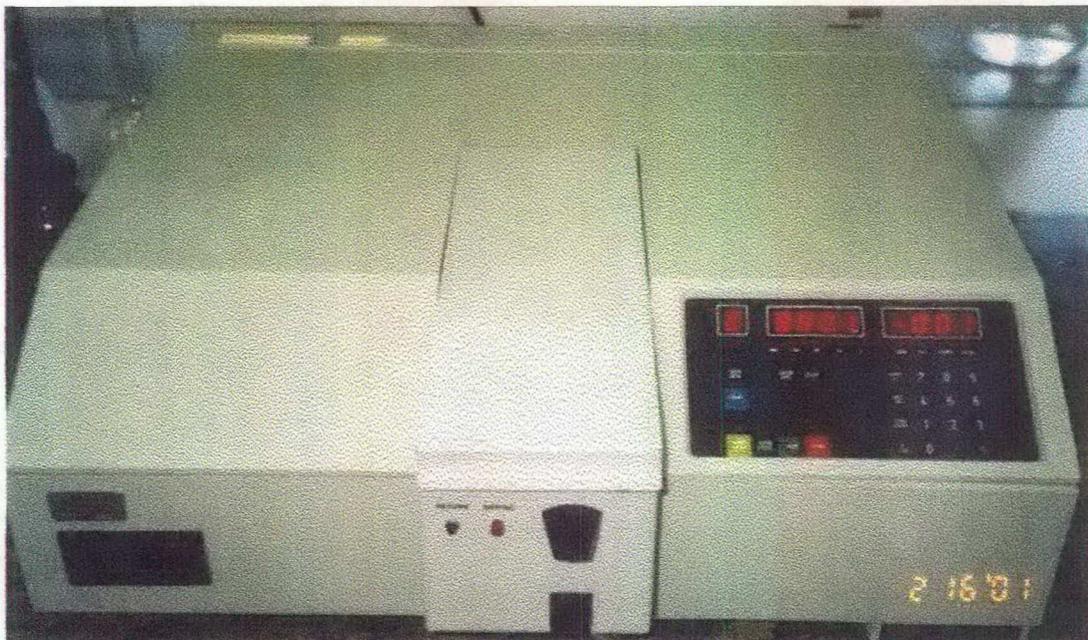
**Figura 8:** Cromatógrafo líquido, marca Perkin-Elmer, equipado com detector Diode Array, utilizado para determinação dos compostos fixos do vinho (ácido tartárico, ácido málico, compostos fenólicos e aminoácidos).



**Figura 9:** Aparelho de destilação Kjeldahl, usado para determinação do nitrogênio total e nitrogênio amoniacal de sucos, mostos, vinhos e outros.



**Figura 10:** Espectrofotômetro de absorção atômica marca Perkin-Elmer, modelo 2380, equipado com nebulizador (chama) e forno de grafite, utilizado para determinar os elementos minerais do vinho (K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Li, Rb, Pb, Cr, Ni).



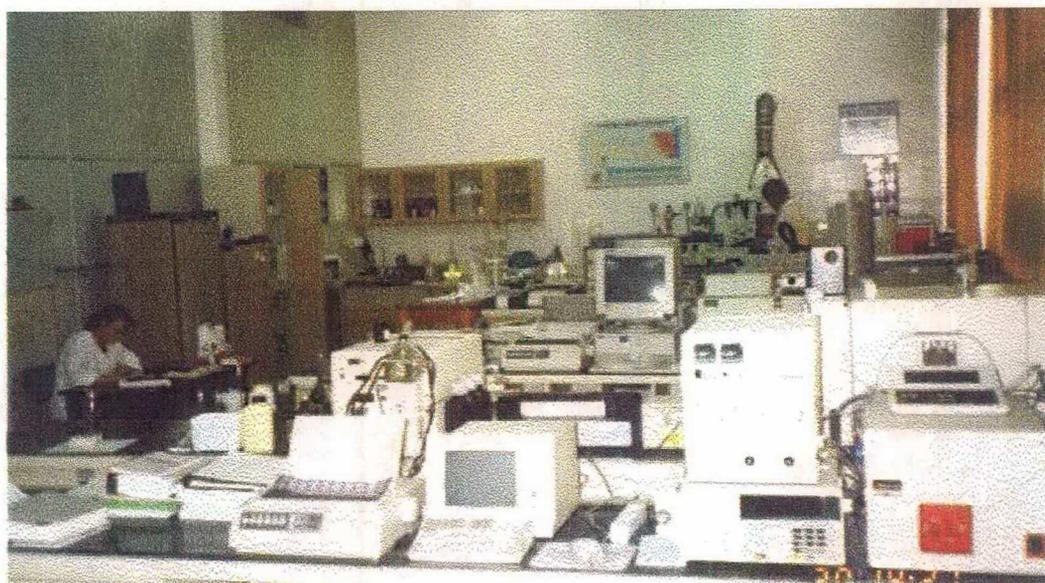
**Figura 11:** Espectrofotômetro, modelo Perkin-Elmer, Lambda 3, UV/VIS Spectrophotometer, densidade ótica -420, 520 nm de cor e da intensidade de cor, utilizado para determinar os taninos, antocianinas, polifenóis, prolina, sorbato de potássio, furfural, entre outros.



**Figura 12:** Peagâmetro, modelo Americam optical, Abbe refractometer, com escala de no mínimo 0,1 unidade de pH. Usado para aferir o pH de sucos, mostos, vinhos e outros líquidos.



**Figura 13:** Vista geral do laboratório de Instrumentação da EMBRAPA – CNPUV.



**Figura 14:** Vista geral do laboratório de Enoquímica e Instrumentação da EMBRAPA-CNPUV.

## Anexo 2

**Tabela 18: Limites analíticos estabelecidos pela legislação brasileira para vinhos de mesa.**

Variável	Limite máximo	Limite mínimo
Álcool etílico (°GL)	13.0	10.0
Álcool metílico (g/l)	0.35	55.0
Acidez total (meq/l)	130.0	55.0
Acidez volátil (meq/l)	20.0	-
Sulfatos totais, em sulfato de potássio (g/l)	1.0	-
Cloretos totais, em cloreto de sódio (g/l)	0.20	-
Anidrido sulfuroso total (g/l)	0.35	-
<b>Cinzas (g/l)</b>		
Vinhos comuns: tinto	-	1.5
Vinhos comuns: rosado e branco	-	1.3
<b>Relação álcool em peso- extrato seco reduzido</b>		
Vinhos comuns: tinto	4.8	-
Vinhos comuns rose	6.0	-
Vinhos comuns branco	6.5	-
Vinhos finos e especiais: tinto	5.2	-
Vinhos finos e especiais: rosado	6.5	-
Vinhos finos e especiais: branco	6.7	-
<b>Açúcares totais (g/l)</b>		
Vinho seco	5.0	-
Vinho meio seco	20.0	5.1
Vinho suave ou doce	-	20.1

Fonte: Ministério da Agricultura- Portaria n°84, de 25 de abril de 1989.

## Anexo 3

### Metodologia Para Análise Do Vinho – EMBRAPA - CNPUV

#### 1. TEOR ALCOÓLICO

##### Definição

O grau alcoólico corresponde ao número de litros de álcool etílico em 100 litros de vinho. A medida deve ser efetuada a 20°C. Para transformar o álcool em volume, em peso deve-se multiplicar o valor por 0,79423. Na prática, é adotado o fator oito.

##### Princípio do método

Destilação do vinho previamente alcalinizado e posterior medida do grau alcoólico por densimetria (Densímetro ANTON PAAR).

##### Material

- Aparelho de destilação.
- Termômetro.
- Balão volumétrico de 50 ml.
- Densímetro ANTON PAAR DMA 45.

##### Reagentes

- Óxido de cálcio (120 g/l).

##### Modo operatório

Medir 50 ml de amostra num balão volumétrico, aferir a temperatura a 20°C. Transferir a amostra para o balão destilatório. Lavar o balão com água destilada e juntar ao conteúdo do balão de destilação. Adicionar 10 ml da solução de Óxido de cálcio, para neutralizar a acidez do vinho e evitar a passagem dos ácidos voláteis ao destilado, o que provocaria um aumento da densidade e, conseqüente diminuição do grau alcoólico. Conectar ao condensador e mergulhar até o fundo do balão volumétrico anteriormente empregado, já com 2 ml de água destilada. Recolher 3/4 partes do volume inicial. Resfriar o balão mergulhando-o em água com gelo. Completar o volume, à mesma temperatura inicial, com água destilada e agitar. Determinar a densidade do destilado a 20°C no densímetro ANTON PAAR DMA 45 e fazer a leitura do grau alcoólico do vinho na Tabela 1.

TABELA 1. Percentagem de álcool em relação densidade da solução hidroalcoólica a 20°C.

Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)
1.0000	0.00	0.9930	4.84	0.9860	10.36
0.9999	.07	29	.91	59	.44
98	.13	28	.98	58	.53
97	.20	27	5.06	57	.61
96	.27	26	.13	56	.69
95	.33	25	.21	55	.78
94	.40	24	.28	54	.76
93	.46	23	.36	53	.94
92	.53	22	.43	52	11.03
91	.60	21	.51	51	.11
90	.66	20	.58	50	.19

Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)
89	.73	19	.66	49	.28
88	.80	18	.73	48	.36
87	.87	17	.81	47	.45
86	.93	16	.88	46	.53
85	1.00	15	.96	45	.61
84	.07	14	6.03	44	.70
83	.14	13	.11	43	.78
82	.20	12	.18	42	.87
81	.27	11	.26	41	.95
80	.34	10	.34	40	12.04
79	.41	09	.41	39	.12
78	.48	08	.49	38	.21
77	.54	07	.57	37	.29
76	.61	06	.65	36	.38
75	.68	05	.73	35	.47
74	.75	04	.80	34	.55
73	.81	03	.88	33	.64
72	.88	02	.96	32	.73
71	.95	01	7.04	31	.81
70	2.02	00	.12	30	.90
69	.09	0.9899	.19	29	.99
68	.15	98	.27	28	13.07
0.9967	2.22	.97	7.35	0.9827	.16
66	.29	96	.43	26	.25
65	.36	95	.51	25	.34
64	.43	94	.59	24	.43
63	.50	93	.67	23	.51
62	.57	92	.75	22	.60
61	.64	91	.82	21	.68
60	.70	90	.90	20	.77
59	.77	89	.98	19	.86
58	.84	88	8.06	18	.95
57	.91	87	.15	17	14.04
56	.98	86	.23	16	.13
55	3.05	85	.31	15	.22
54	.12	84	.39	14	.30
53	.19	83	.47	13	.39
52	.26	82	.55	12	.48
51	.33	81	.63	11	.57
50	.40	80	.71	10	.66
49	.47	79	.79	09	.75
48	.54	78	.88	08	.84
47	.61	77	.96	07	.93
46	.68	76	9.04	06	15.02
45	.76	75	.13	05	.11
44	.83	74	.21	04	.20
43	.90	73	.29	03	.28
42	.97	72	.38	02	.37
41	4.04	71	.46	01	.46
40	.11	70	.54	00	.55

Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)	Densidade g/ml a 20°C	Álcool (%)
39	.18	69	.62	0.9799	.64
38	.26	68	.70	98	.73
37	.33	67	.79	97	.82
36	.40	66	.87	96	.91
35	.48	65	.95	95	16.00
34	.55	64	10.03	94	.10
33	.62	63	.11	93	.19
32	.69	62	.20	92	.28
31	.77	61	.28	91	.37

Fonte: Horwitz, W. ed. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 13.ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1980.

## 2. ACIDEZ TOTAL

### Definição

A acidez total corresponde à soma dos ácidos tituláveis quando se neutraliza o vinho até pH 7,0 com solução alcalina. O anidrido carbônico e o anidrido sulfuroso livre e combinado não devem ser incluídos na acidez total. Uma maneira de eliminar o anidrido carbônico dos vinhos é através da agitação a frio com uma trompa de vácuo.

### Princípio do método

Titulação química utilizando o azul de bromotimol como indicador do final da reação. Uma solução de normalidade conhecida de Hidróxido de sódio (NaOH) é adicionada até a viragem o que corresponde a uma coloração azul a pH 7,0.

### Material

- Erlenmeyer de 250 ml.
- Pipeta de 5 ml.
- Bureta de 25 ml.

### Reagentes

- Hidróxido de sódio 0,1 N.
- Azul de bromotimol: 4 g/l diluído no álcool a 20%.

### Modo operatório

Num erlenmeyer de 250 ml adicionar 5 ml de vinho ou de mosto e algumas gotas de azul de bromotimol. Titular com hidróxido de sódio 0,1 N até o aparecimento da coloração azul, tendo o cuidado de anotar o volume gasto (ml).

### Cálculo

A acidez total é expressa em meq/l através da multiplicação dos ml gastos por 20. Para transformar a acidez total de meq/l para g/l de ácido tartárico deve-se multiplicar o valor obtido por 0,075.

### 3. ACIDEZ VOLÁTIL

#### Definição

A acidez volátil é constituída pelos ácidos graxos da série acética que se encontram nos vinhos no estado livre ou salificados. Além do ácido acético, a acidez volátil é formada por pequenas quantidades de ácido propiônico e butírico.

#### Princípio do método

A separação dos ácidos voláteis acontece através do arraste do vapor da água. O vinho deve ser acidificado de uma pequena quantidade de ácido tartárico, aproximadamente 0,25 g para 10 ml, antes do arraste pelo vapor. Deve-se evitar a presença de gás carbônico no vinho. A acidez do anidrido sulfuroso livre e combinado destilado não deve fazer parte da acidez volátil e deve ser subtraído da acidez do destilado, assim como a acidez do ácido sórbico, eventualmente presente.

#### Material

Aparelho Cazenave-Ferre equipado com uma coluna de refrigeração de 40 cm.

#### Reagentes

- Hidróxido de sódio 0,1 N.
- Solução alcoólica de fenolftaleína a 1%.
- Ácido tartárico em cristais.

#### Modo operatório

Colocar 250 a 300 ml de água no balão do aparelho, 10 ml de vinho e alguns cristais de ácido tartárico no tubo borbulhador. Colocar um erlenmeyer de 250 ml na saída do condensador. Aquecer com a torneira de vapor aberta, para retirar o ar que se encontra no aparelho. Um pouco antes de começar a ferver, fechar a torneira. Assim, o vapor d'água borbulha na amostra, arrastando os ácidos voláteis. Parar o aquecimento quando for recolhido 100 ml do destilado no erlenmeyer. Acrescentar algumas gotas de fenolftaleína e neutralizar com Hidróxido de sódio 0,1 N, até o aparecimento da cor rosada.

#### Cálculo

O volume gasto em (ml) multiplicado por 10 corresponde ao valor da acidez volátil meq/l. Para transformar a acidez volátil de meq/l para g/l deve-se multiplicar o valor obtido por 0,06.

### 4. pH

#### Definição

O pH do vinho corresponde à concentração de íons de hidrogênio dissolvido no mesmo. O valor do pH dos vinhos brasileiros é variável de 3,0 até 3,6 dependendo do tipo (branco, tinto) da cultivar e da safra.

#### Princípio do método

Efetua-se a medida da diferença de potencial entre dois eletrodos mergulhados na amostra estudada. Um destes eletrodos tem um potencial que é função do pH da amostra a analisar, o outro tem um potencial fixo, conhecido e corresponde ao eletrodo de referência.

### Material e equipamentos

- Peagômetro com escala de, no mínimo, 0,1 unidade de pH.
- Eletrodos: os eletrodos de vidro devem ser conservados na água destilada. Enquanto aqueles de calomel são conservados numa solução saturada de cloreto de potássio.

### Reagentes

- Solução tampão de pH 3,0
- Solução tampão de pH 4,0

Uma solução saturada de tartarato ácido de potássio (5,7 g/l) possui um pH igual a 3,57 a 20°C. Esta solução pode se conservar, por um período de até 2 meses em presença de 0,1 g de timol para cada 200 ml.

### Modo operatório

O aparelho deve ser calibrado com a solução tampão de pH 3,0 de preferência numa temperatura de 20°C. Lavar bem o eletrodo com água destilada.

Colocar o eletrodo na solução tampão de pH 4,0, a temperatura de 20°C o aparelho deve indicar o mesmo valor. Lavar novamente o eletrodo.

Depois de calibrado o aparelho, colocar num copo de bequer de 100 ml, 20 ml de vinho. Agitar lentamente com o auxílio de um agitador magnético e mergulhar o eletrodo no líquido. Uma vez estabilizado, fazer a leitura do pH no aparelho.

## 5. EXTRATO SECO

### Definição

O extrato seco do vinho corresponde ao resíduo que permanece após a evaporação dos compostos voláteis, sob condições físicas determinadas, de modo que os componentes do extrato seco sofram o mínimo de alterações possíveis.

### Princípio do método

O extrato seco é calculado indiretamente através do valor da densidade do resíduo sem álcool, ou do vinho mais o álcool de onde foi retirado e cujo volume foi substituído pela água. O extrato seco assim obtido corresponde à quantidade de sacarose, que dissolvida numa quantidade de água suficiente para um litro, corresponde a uma solução de mesma densidade que o resíduo sem álcool. Esta quantidade é fornecida pela Tabela 2 e 3.

### Modo operatório

A densidade do resíduo sem álcool a 20/20 (dr) é calculada pela fórmula de Tabaré:

$$dr = dv - da + 1000, \text{ onde:}$$

dv= densidade do vinho a 20°C em relação à densidade da água a 20°C.

da= densidade a 20 °C da mistura hidroalcoólica, (com o mesmo grau do vinho) em relação

com a densidade de água a 20°C. Esta medida é obtida através do densímetro ANTON PAAR DMA 45.

TABELA 2. Tabela de Ackermann para o cálculo do extrato seco (g/l), em vinhos secos.

Densidade*	Extrato seco	Densidade	Extrato seco						
1,0040	9,6	1,0085	20,4	1,0130	31,2	1,0175	42,9	1,0220	55,9
1	9,8	6	20,6	1	31,4	6	43,1	1	56,2
2	10,1	7	20,9	2	31,7	7	43,4	2	56,5
3	10,3	8	21,1	3	31,9	8	43,7	3	56,8
4	10,6	9	21,4	4	32,2	9	44,0	4	57,1
5	10,8	1,0090	21,6	5	32,4	1,0180	44,3	5	57,4
6	11,0	1	21,8	6	32,6	1	44,6	6	57,6
7	11,3	2	22,1	7	32,9	2	44,9	7	57,9
8	11,5	3	22,3	8	33,1	3	45,2	8	58,2
9	11,8	4	22,6	9	33,4	4	45,5	9	58,5
1,0050	12,0	5	22,8	1,0140	33,6	5	45,8	1,0230	58,8
1	12,2	6	23,0	1	33,8	6	46,0	1	59,1
2	12,5	7	23,3	2	34,1	7	46,3	2	59,4
3	12,7	8	23,5	3	34,3	8	46,6	3	59,7
4	13,0	9	23,8	4	34,6	9	46,9	4	60,0
5	13,2	1,0100	24,0	5	34,8	1,0190	47,2	5	60,3
6	13,4	1	24,2	6	35,0	1	47,5	6	60,6
7	13,7	2	24,5	7	35,3	1	47,8	7	60,8
8	13,9	3	24,7	8	35,5	3	48,1	8	61,1
9	14,2	4	25,0	9	35,8	4	48,4	9	61,4
1,0060	14,4	5	25,2	1,0150	36,0	5	48,7	1,0240	61,7
1	14,6	6	25,4	1	36,2	6	48,9	1	62,0
2	14,9	7	25,7	2	36,5	7	49,2	2	62,3
3	15,1	8	25,9	3	36,7	8	49,5	3	62,6
4	15,4	9	26,2	4	37,0	9	49,8	4	62,9
5	15,6	1,0110	26,4	5	37,2	1,0200	50,1	5	63,2
6	15,8	1	26,6	6	37,4	1	50,4	6	63,4
7	16,1	2	26,9	7	37,7	2	50,7	7	63,7
8	16,3	3	27,1	8	37,9	3	51,0	8	64,0
9	16,6	4	27,4	9	38,2	4	51,3	9	64,3
1,0070	16,8	5	27,6	1,0160	38,5	5	51,6	1,0250	64,6
1	17,0	6	27,8	1	38,8	6	51,8	-	-
2	17,3	7	28,1	2	39,1	7	52,1	-	-
3	17,5	8	28,3	3	39,4	8	52,4	-	-
4	17,8	9	28,6	4	39,7	9	52,7	-	-
5	18,0	1,0120	28,8	5	40,0	1,0210	53,0	-	-
6	18,2	1	29,0	6	40,2	1	53,3	-	-
7	18,5	2	29,3	7	40,5	2	53,6	-	-
8	18,7	3	29,5	8	40,8	3	53,9	-	-
9	19,0	4	29,8	9	41,1	4	54,2	-	-
1,0080	19,2	5	30,0	1,0170	41,4	5	54,4	-	-
1	19,4	6	30,2	1	41,7	6	54,7	-	-
2	19,7	7	30,5	2	42,0	7	55,0	-	-
3	19,9	8	30,7	3	42,3	8	55,3	-	-
4	20,2	9	31,0	4	42,5	9	55,6	-	-

\*Densidade do vinho em g/ml a 20°C.

Fonte: Garoglio, P.G. Nuovo trattato di enologia, v.3. 1953.

TABELA 3. Tabela de Windisch para o cálculo do extrato seco (g/l), em vinhos suaves.

Densidade*	Extrato seco	Densidade	Extrato seco						
1,0040	10,3	1,0090	23,2	1,0140	36,2	1,0190	49,1	1,0240	62,0
1	10,5	1	23,5	1	36,4	1	49,4	1	62,3
2	10,8	2	23,8	2	36,7	2	49,6	2	62,5
3	11,1	3	24,0	3	36,9	3	49,9	3	62,8
4	11,3	4	24,3	4	37,2	4	50,1	4	63,1
5	11,6	5	24,5	5	37,5	5	50,4	5	63,3
6	11,8	6	24,8	6	37,7	6	50,6	6	63,6
7	12,1	7	25,0	7	38,0	7	50,9	7	63,8
8	12,4	8	25,3	8	38,2	8	51,1	8	64,1
9	12,6	9	25,6	9	38,5	9	51,4	9	64,4
1,0050	12,9	1,0100	25,8	1,0150	38,7	1,0200	51,7		
1	13,2	1	26,1	1	39,0	1	51,9		
2	13,4	2	26,3	2	39,3	2	52,2		
3	13,7	3	26,6	3	39,5	3	52,5		
4	13,9	4	26,9	4	39,8	4	52,7		
5	14,2	5	27,1	5	40,0	5	53,0		
6	14,5	6	27,4	6	40,3	6	53,2		
7	14,7	7	27,6	7	40,6	7	53,5		
8	15,0	8	27,9	8	40,8	8	53,8		
9	15,2	9	28,2	9	41,1	9	54,0		
1,0060	15,5	1,0110	28,4	1,0160	41,3	1,0210	54,3		
1	15,7	1	28,7	1	41,6	1	54,5		
2	16,0	2	28,9	2	41,9	2	54,8		
3	16,3	3	29,2	3	42,1	3	55,1		
4	16,5	4	29,4	4	42,4	4	55,3		
5	16,8	5	29,7	5	42,6	5	55,6		
6	17,0	6	30,0	6	42,9	6	55,8		
7	17,3	7	30,2	7	43,1	7	56,1		
8	17,6	8	30,5	8	43,4	8	56,4		
9	17,8	9	30,7	9	43,7	9	56,6		
1,0070	18,1	1,0120	31,0	1,0170	43,9	1,0220	56,9		
1	18,3	1	31,2	1	44,2	1	57,1		
2	18,6	2	31,5	2	44,4	2	57,4		
3	18,8	3	31,3	3	44,7	3	57,7		
4	19,1	4	32,0	4	45,0	4	57,9		
5	19,4	5	32,3	5	45,2	5	58,2		
6	19,6	6	32,6	6	45,5	6	58,4		
7	19,9	7	32,8	7	45,7	7	58,7		
8	20,1	8	33,1	8	46,0	8	58,9		
9	20,4	9	33,3	9	46,3	9	59,2		
1,0080	20,7	1,0130	33,6	1,0180	46,5	1,0230	59,4		
1	20,9	1	33,8	1	46,8	1	59,7		
2	21,2	2	34,1	2	47,0	2	60,0		
3	21,4	3	34,3	3	47,3	3	60,2		
4	21,7	4	34,6	4	47,5	4	60,5		
5	21,9	5	34,9	5	47,8	5	60,7		
6	22,2	6	35,1	6	48,1	6	61,0		
7	22,5	7	35,4	7	48,3	7	61,2		
8	22,7	8	35,6	8	48,6	8	61,5		
9	23,0	9	35,9	9	48,8	9	61,8		

\*Densidade do vinho em g/ml a 20°C.

Fonte: Garoglio, P.G. *Nuovo trattato di enologia*, v.3. 1953.

## 5. EXTRATO SECO REDUZIDO

### Definição

O extrato seco reduzido corresponde ao extrato seco menos os açúcares totais excedentes de 1 g, o sulfato de potássio quando excedente de 1 g/l, cloreto de sódio quando excedente de 0,5 g/l, o manitol quando presente e todas as substâncias químicas eventualmente adicionadas ao vinho.

## 6. AÇÚCARES REDUTORES

### Definição

Açúcares redutores são aqueles que, quando aquecidos em meio alcalino contendo alguns metais, geralmente o cobre, têm a propriedade de reduzir estes metais.

### Princípio do método

Uma amostra de vinho é colocada a reagir com uma solução cupro-alcalina. Os íons cúpricos em excesso são determinados por iodometria.

### Material

- Erlenmeyer de 250 ml.
- Bureta graduada de 25 ml.
- Copo de bequer.
- Funil de vidro.
- Bico de Bunsen.

### Reagentes

- Fehling A - Diluir 69,3 g de sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) num balão volumétrico de 1000 ml, com água destilada.
- Fehling B - Diluir 346 g de Sal de Seignette (tartarato duplo de sódio e potássio) e 103 g de hidróxido de sódio num balão volumétrico de 1000 ml, com água destilada.
- Solução de iodeto de potássio a 30%.
- Solução de ácido sulfúrico ( $D= 1,84$ ) a 17%.
- Solução de tiussulfato de sódio 0,1 N.
- Solução de amido a 1%.

### Modo operatório

Num erlenmeyer de 250 ml adicionar 10 ml de Fehling A, 10 ml de Fehling B e 20 ml do vinho previamente diluído conforme Tabela 4.

TABELA 4. Fator de diluição do vinho ou mosto para determinação do açúcar.

Açúcar (g/l)	Amostra (ml)	Volume final (ml)	Fator para multiplicação
9,0	50	100	1
18,0	25	100	2
45,0	10	100	5
90,0	5	100	10
180,0	2,5	100	20
450,0	2,5	250	50

Fonte: Meyer, C.R. & Leygue-Alba, N.M.R. Manual de métodos analíticos enológicos, UCS, 1991.

Colocar sobre o erlenmeyer um funil de vidro para refrigeração em refluxo, aquecer até a fervura sobre tela de amianto, prolongar por mais dois minutos. Esfriar a solução no mínimo até 15°C.

Adicionar 3 ml de iodeto de potássio a 30%, 10 ml de ácido sulfúrico a 17%, lavar as paredes do erlenmeyer com água destilada. Titular com tiussulfato de sódio 0,1 N, utilizando como indicador 2 ml de amido, que forma um complexo de cor azul e que passa para uma coloração esbranquiçada no momento da viragem, anotando os ml gastos (n').

O amido deve ser adicionado quando o meio é suficientemente pobre em iodo (no final da reação), uma vez que com o excesso de iodo forma um complexo irreversível que consome iodo e torna a viragem menos nítida.

Para determinar a quantidade de íons de  $\text{Cu}^{++}$  existentes na solução cuproalcalina procede-se da mesma forma substituindo a amostra do vinho diluída por água destilada, anotando os ml de tiussulfato de sódio gastos (n).

### Cálculo

O teor de açúcares redutores totais é expresso em g/l corresponde a diferença entre o número de ml gastos com a titulação da amostra (n) e com a titulação do branco (n'), fornecido pela Tabela 5.

TABELA 5. Correspondência entre o volume de solução de tiussulfato de sódio 0,1 N (n - n') e a quantidade de açúcares redutores em g/l).

Volume gasto (ml) (n - n')	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	0,00	0,04	0,08	0,12	0,16	0,20	0,24	0,27	0,31	0,34
1	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,54	0,58	0,61	0,65	0,68
2	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,92	0,95	0,98	1,02
3	1,05	1,09	1,12	1,15	1,19	1,22	1,26	1,29	1,32	1,36
4	1,39	1,43	1,46	1,49	1,53	1,56	1,60	1,63	1,66	1,70
5	1,73	1,76	1,79	1,83	1,87	1,90	1,93	1,96	2,00	2,03
6	2,06	2,10	2,14	2,17	2,21	2,24	2,27	2,31	2,34	2,37
7	2,40	2,44	2,48	2,51	2,54	2,57	2,61	2,65	2,68	2,71
8	2,74	2,78	2,81	2,84	2,88	2,91	2,95	2,99	3,02	3,05
9	3,08	3,12	3,16	3,19	3,23	3,26	3,30	3,34	3,37	3,41
10	3,44	3,47	3,51	3,54	3,58	3,62	3,65	3,69	3,72	3,76
11	3,80	3,83	3,87	3,90	3,93	3,97	4,00	4,04	4,07	4,11
12	4,15	4,18	4,22	4,25	4,29	4,32	4,35	4,39	4,42	4,46
13	4,50	4,53	4,57	4,60	4,64	4,68	4,71	4,75	4,78	4,81
14	4,85	4,88	4,92	4,96	4,99	5,03	5,06	5,10	5,14	5,17
15	5,21	5,25	5,29	5,33	5,36	5,40	5,43	5,47	5,51	5,54
16	5,58	5,61	5,65	5,69	5,72	5,76	5,79	5,83	5,87	5,91
17	5,95	5,98	6,02	6,06	6,09	6,13	6,16	6,20	6,24	6,27
18	6,31	6,34	6,38	6,42	6,45	6,49	6,53	6,57	6,61	6,64
19	6,68	6,72	6,75	6,79	6,82	6,86	6,90	6,93	6,97	7,00
20	7,04	7,08	7,11	7,15	7,19	7,23	7,27	7,30	7,34	7,37

Volume gasto (ml) (n - n')	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
21	7,41	7,45	7,48	7,52	7,56	7,60	7,64	7,68	7,72	7,76
22	7,80	7,84	7,88	7,92	7,95	7,99	8,03	8,07	8,11	8,15
23	8,19	8,23	8,27	8,31	8,35	8,39	8,43	8,47	8,51	8,55
24	8,59	8,63	8,66	8,70	8,74	8,78	8,82	8,86	8,90	8,94
25	8,98	9,01	9,05	9,09	9,12	9,16	9,19	9,23	9,27	9,31

Fonte: Meyer, C.R.; Leygue-Alba, N.M.R. Manual de métodos analíticos enológicos. UCS, 1991.

## 8. CINZAS

### Definição

As cinzas correspondem ao conjunto dos produtos obtidos da incineração do resíduo de evaporação do vinho, conduzido de modo a obter a totalidade dos cátions, com exceção da amônia, sob a forma de carbonatos ou outros sais minerais anidro.

### Princípio do método

Incineração do extrato do vinho numa temperatura de 500 a 550°C até a combustão completa do carbono.

### Material

- Cápsula de platina de 70 mm de diâmetro e 25 mm de altura de fundo chato.
- Pipeta volumétrica de 20 ml.
- Bastão de vidro.
- Chapa aquecedora ou banho-maria.
- Dessecador com sílica gel.
- Balança analítica.
- Bico de Bunsen.
- Mufla.

### Modo operatório

Aquecer a cápsula de platina ao redor de 600°C durante alguns minutos, resfriar no dessecador e pesar. Pipetar 20 ml da amostra na cápsula, evaporar até a secura no banho-maria ou na chapa aquecedora. Queimar em bico de Bunsen e passar a cápsula para a mufla a 525 ±25°C até que o resíduo fique branco. Caso depois de 3 horas as cinzas ainda não estejam brancas, umedecer com algumas gotas de água destilada as partes ainda escuras e quebrar a crosta com um bastão de vidro, tomando o cuidado e lavar o bastão com algumas gotas de água destilada, levar a cápsula ao banho-maria ou placa aquecedora até a secura e colocar novamente na mufla até o resíduo ficar completamente branco. Esfriar a cápsula no dessecador e pesar rapidamente numa balança de precisão.

### Cálculo

As cinzas são expressas em gramas por litro de amostra pela fórmula:

$$\text{Cinzas (g/l)} = 50 \times (a - b)$$

onde:

a= peso do cadinho com as cinzas

b= peso do cadinho

## 9. ALCALINIDADE DAS CINZAS

### Definição

A alcalinidade das cinzas mede a quantidade de ácidos orgânicos encontrados no vinho na forma de sal mais ou menos dissociados e que são transformados em carbonatos através da calcinação. O valor da alcalinidade das cinzas acrescido da acidez total dos vinhos corresponde a um valor aproximado da concentração total do vinho em ácidos orgânicos.

### Princípio do método

Titulação com o hidróxido de sódio após o aquecimento das cinzas do restante do ácido sulfúrico adicionado.

### Material

- Cápsula de platina.
- Bureta de 25 ml.
- Pipeta volumétrica de 10 ml.
- Bastão de vidro.
- Banho-maria.

### Reagentes

- Solução padrão de ácido sulfúrico 0,1 N.
- Solução padrão de hidróxido de sódio 0,1 N.
- Metilorange a 0,2%.

### Modo operatório

Adicionar 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N na cápsula onde foram determinadas as cinzas do vinho, aquecer ligeiramente no banho-maria para favorecer o ataque do ácido e desprender o gás carbônico. Homogeneizar com o auxílio de um bastão de vidro e passar o líquido para um erlenmeyer evitando as perdas e lavando várias vezes a cápsula com água destilada.

Adicionar algumas gotas da solução de metilorange como indicador e titular o excesso de ácido com o hidróxido de sódio 0,1 N. A cor vira do vermelho ao amarelo no pH 4,0.

### Cálculo

A alcalinidade das cinzas é dada pelas fórmulas:

- Alcalinidade das cinzas em meq/l =  $5 (10 - n)$
  - Alcalinidade das cinzas em g/l de carbonato de potássio ( $K_2CO_3$ ) =  $0,345 (10 - n)$
  - Alcalinidade das cinzas em g/l de tartarato ácido de potássio =  $0,94 (10 - n)$
- n= número de ml da solução de hidróxido de sódio

## 10. NITROGÊNIO TOTAL

### Definição

No vinho se encontra normalmente de 1 a 4 g/l de substâncias nitrogenadas, que participam da estabilidade, da limpidez e, também, no valor alimentar do mesmo. O nitrogênio se encontra

principalmente nas formas de: proteína, polipeptídeo, aminoácido e amônia. As substâncias nitrogenadas podem representar até 20% do teor de extrato seco do vinho.

### Princípio método

O nitrogênio é mineralizado através do ácido sulfúrico, destilado na forma de amônia e titulado através da alcalimetria.

### Material

- Tubos de ensaio grandes.
- Pipetas 2, 5 e 10 ml.
- Funis pequenos.
- Bloco digestor.
- Aparelho de destilação Kjeldahl.
- Erlenmeyer 250 ml.
- Proveta 100 ml.
- Bureta 6 ml.

### Reagentes

- Ácido sulfúrico PA.
- Dióxido de selênio.
- Hidróxido de sódio 30%.
- Solução de ácido bórico.
- Ácido sulfúrico 0,01 N ou 0,05 N.

### Solução ácido bórico

Dissolver 40 gramas de ácido bórico em 1.400 ml de água quente, esfriar, transferir para um balão volumétrico de 2000 ml, contendo 400 ml de etanol 95% e 40 ml de uma solução obtida pela dissolução de 0,660 gramas de verde de bromocresol e 0,330 gramas de vermelho de metila em 1 litro de etanol 95%, misturar as soluções em um balão volumétrico e adicionar cuidadosamente NaOH 0,05 N até que se observe uma leve mudança de cor roxa para verde clara ao adicionar 1 ml de água destilada a 1 ml do indicador, completar o volume até 2000 ml com água destilada.

### Modo operatório

Pipetar 2 ml da amostra, nos tubos de ensaio e 4 ml de ácido sulfúrico P.A., adicionar uma pequena quantidade de selênio ( $\pm$  uma ponta de espátula). Adaptar os tubos de ensaio, ao bloco digestor, colocando em cada tubo um pequeno funil, que evitará possíveis perdas. Ajustar inicialmente o bloco digestor a uma temperatura de 150°C, que será elevada gradativamente até 380°C, acompanhando o comportamento da amostra. Caso as paredes dos tubos ficarem com resíduos da amostra, pode-se lavá-las com algumas gotas de ácido sulfúrico. Este processo de digestão leva aproximadamente 3 horas. A amostra digerida apresentará uma coloração levemente amarelada que se tornará incolor ao esfriar. Com a amostra previamente digerida procede-se uma destilação, na qual são adicionados 5 ml de água destilada, 5 a 6 gotas de fenolftaleína e NaOH 30% até neutralizar a amostra (aproximadamente 20 ml). Recolher 50 ml do destilado em erlenmeyer contendo 10 ml da solução de ácido bórico. Proceder uma titulação do destilado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 N ou 0,05 N.

$$\text{Cálculo - N total (mg/l)} = \frac{n \times N \times 14 \times 1000}{V}$$

onde:

n= volume  $H_2SO_4$  gastos  
N= normalidade  $H_2SO_4$   
V= volume amostra analisada

## 11. CLORETOS

### Definição

O teor de cloretos nos vinhos é muito variável, normalmente inferior a 50 mg/l. Os vinhos obtidos de vinhedos situados mais próximos do mar apresentam teores mais elevados. O teor de cloretos nos vinhos pode aumentar em função de colagens realizadas ou também devido a adição de ácido clorídrico que não é permitida.

### Princípio do método

Todos os métodos utilizam o nitrato de prata como reagente, somente o modo operatório e a defecação da amostra que difere. A matéria orgânica da amostra é eliminada pelo permanganato de potássio e ácido nítrico. Os cloretos são, inicialmente, precipitados pelo excesso de uma solução titulada de nitrato de prata. Este excesso de nitrato de prata é, a seguir, determinado pelo tiocianato de amônio em presença de íons férricos, que apresentam a propriedade de formar um complexo vermelho que indica o ponto de viragem.

### Material

- Balão volumétrico de 200 ml.
- Pipeta volumétrica de 100 ml.
- Pipetas de 20 ml, 5 ml e 2 ml.
- Erlenmeyer de 250 ml.
- Papel de filtro e funil.

### Reagentes

- Solução saturada de permanganato de potássio a 6,5%.
- Solução de nitrato de prata 0,1 N.
- Solução de ácido nítrico a 20%.
- Solução de tiocianato de potássio 0,1 N.
  - Solução de alumem de ferro e amônia a 15% ou solução de nitrato férrico a 10%.
- Solução de hidróxido de bário a 5%.
- Fenolftaleína a 1% como indicador.
- Éter etílico.
- Solução de peridrol a 3% (água oxigenada a 30 volumes).

### Modo operatório

Colocar 100 ml da amostra num balão volumétrico de 200 ml. Neutralizar com a solução saturada de hidróxido de bário em presença de fenolftaleína. Completar o volume com água destilada, agitar e filtrar em papel de filtro. Transferir 100 ml do líquido filtrado (correspondente a 50 ml da amostra) para um erlenmeyer, adicionar 20 ml de ácido nítrico e 2 ml de solução saturada de permanganato de potássio. Agitar e deixar em repouso alguns minutos até o desaparecimento da cor violeta. Caso o líquido não se tornar claro, juntar algumas gotas de água oxigenada até o desaparecimento completo da cor. No caso de amostras de coloração intensa, repetir o tratamento, adicionando-se ainda alguns

militros de permanganato de potássio e algumas gotas de água oxigenada, até completa clarificação. No líquido assim preparado, acrescentar 5 ml de solução nitrato férrico, como indicador 10 ml de éter etílico e 5 ml de solução de nitrato de prata 0,1 N. Esta quantidade é suficiente, desde que o vinho encerre menos de 500 mg/l de cloreto de sódio. Medir o excesso de nitrato de prata por meio da solução de tiocinato de potássio 0,1 N até o aparecimento da cor tijolo-clara, que deve durar, no mínimo, cinco segundos. O número (n) de ml de tiocianato de potássio gastos deve ser anotado.

### **Cálculo**

A quantidade de cloreto de sódio por litro é obtida através da fórmula:

$$\text{cloreto de sódio (mg/l)} = (5 - n) \times 0,117$$

onde,

n= corresponde ao número de ml de tiocianeto de potássio gastos na titulação.

## **12. CROMATOGRAFIA DE PAPEL DO ÁCIDO MÁLICO DO VINHO**

### **Definição**

Trata-se apenas de uma avaliação semi-quantitativa que permite acompanhar o andamento do processo de fermentação malolática. O método é simples e possibilita a determinação de um elevado número de amostras, em série. É de grande interesse prático ao enólogo.

### **Princípio do método**

Os principais ácidos orgânicos do vinho (tartárico, málico, láctico e succínico) migram originando distâncias diferentes o que permite a sua identificação qualitativa.

### **Material**

- Papel Watman nº 1.
- Cuba para cromatografia.
- Micropipeta.
- Proveta.
- Balão volumétrico.
- Pipetas.

### **Reagentes**

- Butanol.
- Azul de bromotimol: 1 g/l diluído com butanol.
- Ácido acético 50%.
- Ácido málico 2 g/l numa solução hidroalcoólica a 10%.

### **Solução reveladora**

A solução utilizada para revelação é preparada misturando 50 ml de butanol com azul de bromotimol e 20 ml de ácido acético a 50% numa proveta graduada.

### Modo operatório

Numa folha de papel Watman número 1, de aproximadamente 20 cm de largura e cuja altura deve ser um pouco menor que a altura da cuba utilizada para cromatografia.

Traça-se uma linha a lápis a 4 cm da borda inferior na qual serão marcados os pontos a cada 3 cm de distância, onde deverá ser aplicada a solução padrão e as amostras de vinho a serem analisadas. Com uma micropipeta colocam-se 0,2 ml da amostra. No caso dos vinhos que apresentem pouco ácido málico para melhorar a sensibilidade, recomenda-se dobrar o volume. Deixar secar e colocar no recipiente a ser utilizado para cromatografia que já recebeu previamente o volume da solução reveladora. O papel normalmente é disposto de forma cilíndrica, preso nas duas extremidades com dois grampos de alumínio, tendo o cuidado de não encostar as duas bordas do papel. Durante o tempo da cromatografia o recipiente deve permanecer hermeticamente fechado. Logo que a linha do solvente chegue a aproximadamente 1 cm da borda superior da folha de papel que demora geralmente 3 horas, a folha é retirada do frasco e suspensa num local arejado seco e sem fumaça de vapores ácidos. Pode-se utilizar um ventilador para acelerar a evaporação. À medida que o papel vai secando, a cor passa do amarelo ao verde e, depois, ao azul, com manchas amarelas que correspondem aos ácidos orgânicos. Os ácidos se separam na seguinte ordem: ácido tartárico corresponde a primeira mancha mais baixa, ácido málico a mancha intermediária e, depois na parte superior aparecem os ácidos láctico e succínico.

## 13. PRESENÇA DE HÍBRIDOS EM VINHOS TINTOS DE *Vitis vinifera*

### Definição

O método permite detectar a presença de antocianinas do tipo diglicosídeos em vinhos de *Vitis vinifera*. A presença deste tipo de antocianinas é uma propriedade das uvas e vinhos originados de *Vitis riparia* e *Vitis rupestris*.

O carácter "presença de diglicosídeos" se transmite de forma dominante por ocasião dos cruzamentos enquanto que a sua ausência é um fator recessivo, por isso, é possível depois de duas hibridações sucessivas, obter indivíduos sem esta característica.

### Princípio do método

A presença de diglicosídeos é constatada através da formação, pelo diglicosídeo de malvidina especificamente na presença de nitrito de sódio, de um composto de fluorescência verde em meio amoniacal, observando através de uma lâmpada ultravioleta (luz de Wood). Este composto seria possivelmente uma malvona, proveniente da abertura do heterociclo das antocianinas.

### Material

- Tubos de ensaio.
- Pipetas volumétricas de 1 ml, 2 ml, 5 ml e 10 ml.
- Funis com 5 cm de diâmetro.
- Papel de filtro.
- Lâmpada ultra-violeta (luz de Wood) de 365,8 nm.

### Reagentes

- Nitrito de sódio a 1%.
- Ácido clorídrico 1 N.
- Álcool amoniacal-etanol a 96% contendo 5% de hidróxido de amônio.

### **Modo operatório**

Num tubo de ensaio colocar: 1 ml de vinho tinto ou 5 ml de vinho rosado, 1 gota de ácido clorídrico N e 1 ml da solução de nitrito de sódio a 1%. Agitar e esperar dois minutos, para que a oxidação se efetue. A seguir, adicionar 10 ml de álcool amoniacal, agitar e deixar em repouso 10 minutos.

Filtra e observar os resultados numa lâmpada ultra-violeta (luz de Wood) de 365,8 nm.

### **Resultado**

A fluorescência verde indica sempre a presença de diglicosídeo de malvidina característica dos vinhos de híbridos.

## **14. PROLINA**

### **Definição**

A prolina é um dos principais aminoácidos encontrado nos vinhos. Durante o processo fermentativo não sofre variações acentuadas, uma vez que não é utilizado normalmente pelas leveduras. Os vinhos tintos de algumas cultivares de viníferas se caracterizam por apresentar teores mais elevados de prolina em relação aqueles de americanas.

### **Princípio do método**

A prolina existente na amostra de vinho reage a quente, em meio ácido e em presença de Ninidrina, originando uma coloração violeta, com um máximo de absorção a 517 nm, proporcional a quantidade existente na amostra.

### **Material**

- Tubos de ensaio de 20 ml com tampa de rosca.
- Pipetas de 0,25, 0,5, 1,0, 5,0 e 10,0 ml.
- Balão volumétrico de 50 ml.
- Banho-maria.
- Espectrofotômetro.

### **Reagentes**

- Ninidrina a 3% em metilcelosolve (glicol etileno monometil éter)
- Isopropanol diluído a 50% com água destilada.
- Ácido fórmico puro.
- Padrão de prolina a 100 mg/l.

### **Preparo da curva padrão**

A partir de uma solução de 100 mg/l de prolina preparar os padrões de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg/l completando o volume com água destilada.

### **Preparo da amostra**

O vinho a ser analisado deve ser diluído a 10% para ficar no limite em que apresenta uma resposta linear na leitura espectrofotométrica. Retira-se uma alíquota de 0,5 ml, coloca-se no tubo de

ensaio de 20 ml com tampa de rosca, acrescenta-se 0,25 ml de ácido fórmico e 1,0 ml de solução de ninidrina. Enrosca-se a tampa, agita-se e coloca-se o tubo em banho-maria em ebulição por 15 minutos. A seguir, esfria-se o tubo a 20°C por 5 a 10 minutos. Durante o resfriamento acrescenta-se 5,0 ml da solução de isopropanol e faz-se a leitura a 517 nm no período compreendido até 30 minutos do fim do aquecimento. Procede-se da mesma maneira com relação às soluções para estabelecimento da curva padrão. O branco é preparado do mesmo modo substituindo a amostra pelo mesmo volume de água destilada.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no espectrofotômetro, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações da prolina na abcissa, conforme Figura 1.

### Cálculo

O resultado é expresso em mg/l de prolina, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra.

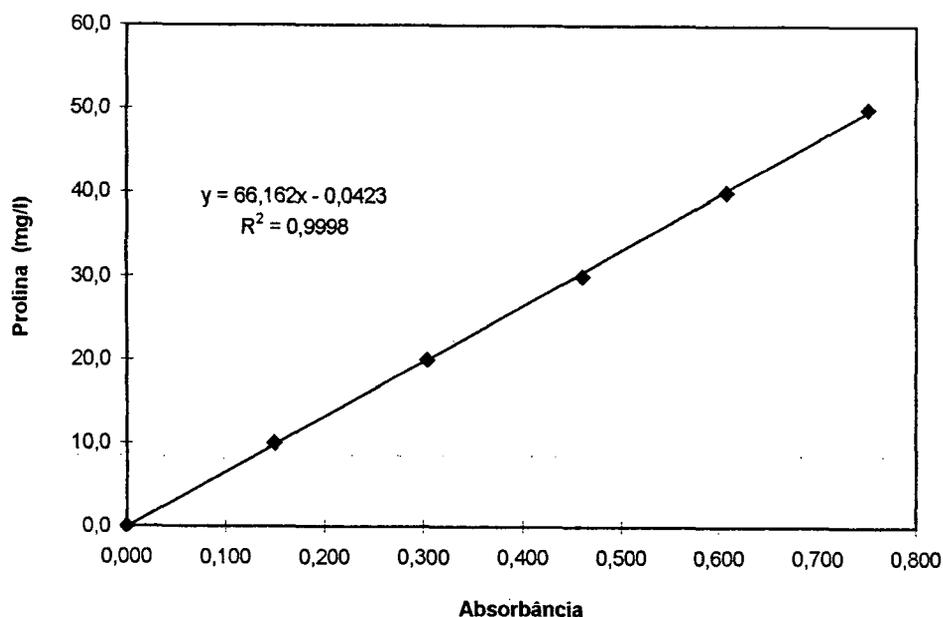


Figura 1. Curva de calibração para determinação da prolina.

## 15. ANIDRIDO SULFUROSO LIVRE

### Definição

O anidrido sulfuroso livre corresponde ao anidrido sulfuroso encontrado no estado de  $\text{SO}_2$  e de combinações minerais do tipo  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{HSO}_3^-$  e  $\text{SO}_3^-$ . Para evitar a oxidação do anidrido sulfuroso livre pelo oxigênio do ar a análise deve ser realizada imediatamente após a abertura da amostra.

### Princípio do método

Depois de uma acidificação enérgica, o  $\text{SO}_2$  é oxidado diretamente pelo iodo até alcançar coloração azulada, utilizando o amido como indicador.

### Material

- Erlenmeyer de 250 ml com tampa esmerilhada.
- Bureta graduada de 25 ml.
- Pipetas volumétricas de 2 ml e 50 ml.

### Reagentes

- Solução de iodo 0,02 N.
- Ácido sulfúrico a 60%.
  - Solução de amido a 1%. Fazer uma suspensão com 10 g de amido num pouco de água fria, diluir em 800 ml de água quente, ferver por mais cinco minutos. Deixar esfriar, decantar e completar o volume a 1000 ml.

### Modo operatório

Num erlenmeyer colocar 50 ml de vinho, 2 ml de ácido sulfúrico a 60% e 2 ml da solução de amido. A seguir, titular com a solução de iodo 0,02 N até o aparecimento da cor azulada persistente, anotar os ml gastos (n).

### Cálculo

A quantidade de anidrido sulfuroso livre, expressa em ml, é obtida através da multiplicação do número de ml de iodo gasto por 12,8.

## 16. ANIDRIDO SULFUROSO TOTAL (Ripper)

### Definição

O anidrido sulfuroso total corresponde a soma do anidrido sulfuroso livre mais o combinado existente no vinho.

### Princípio do método

O anidrido sulfuroso é liberado de suas combinações num meio alcalino e titulado diretamente pelo iodo como no caso do anidrido sulfuroso livre.

### Material

- Erlenmeyer de 250 ml com tampa esmerilhada.
- Bureta graduada de 25 ml.
- Pipetas volumétricas de 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml e 50 ml.

### Reagentes

- Solução de iodo.
- Solução de hidróxido 0,02 N de potássio 56 g/l.
- Solução de ácido sulfúrico a 20%.
- Solução de amido a 1%.

### Modo operatório

Pipetar 50 ml de vinho num erlenmeyer de 250 ml, com tampa esmerilhada, adicionar 25 ml da solução de hidróxido de potássio, fechar, agitar e deixar em repouso por um período de 15 minutos. A seguir, adicionar 15 ml de ácido sulfúrico a 20% e 2 ml de amido. Titular com iodo 0,02 N e anotar os ml gastos (n).

### Cálculo

A quantidade de anidrido sulfuroso total expressa em mg/l é obtida através da multiplicação do número de ml gastos de iodo por 12,8.

## 17. ANIDRIDO SULFUROSO TOTAL

### Definição

O anidrido sulfuroso total corresponde a soma do anidrido sulfuroso livre mais o combinado existente no vinho.

### Princípio do método

A amostra previamente acidificada é destilada. O anidrido sulfuroso liberado é absorvido numa solução de iodo cujo excesso é titulado com tiocianato de potássio.

### Material

- Aparelho de destilação.
- Bureta graduada de 25 ml.
- Pipeta volumétrica de 2,5 ml, 5 ml, 25 ml e 50 ml.
- Proveta graduada de 200 ml.
- Erlenmeyer com tampa esmerilhada de 250 ml.

### Reagentes

- Ácido clorídrico concentrado.
- Solução saturada de bicarbonato de sódio.
- Solução de iodo 0,02 N.
- Solução de tiosulfato de sódio 0,05 N.
- Solução de amido a 1% como indicador.

### Modo operatório

Pipetar 50 ml da amostra no balão de destilação. Acrescentar 125 ml de água destilada, 5 ml de solução saturada de bicarbonato de sódio, 5 ml de ácido clorídrico concentrado e conectar o balão ao destilador. Destilar uma amostra em branco da mesma maneira que a amostra, usando água destilada.

Mergulhar a extremidade inferior do condensador num erlenmeyer, contendo 25 ml de solução de iodo 0,02 N onde se recolherá cerca de 75 ml de destilado. Resfriar este erlenmeyer mergulhando-o em água e gelo. No final da destilação, lavar a extremidade do tubo com água destilada.

Titular o iodo residual da amostra e do branco com solução de tiosulfato de sódio a 0,05 N, em presença de 2,5 ml da solução de amido.

## Cálculo

O anidrido sulfuroso total é expresso em mg/l pela fórmula:

$$\text{Anidrido sulfuroso total (mg/l)} = \frac{(a - b) \times N \times 32 \times 100}{V}$$

onde:

- a= ml de tiussulfato gasto para titular o branco
- b= ml de tiussulfato gasto para titular a amostra
- N= normalidade do tiussulfato
- V= volume de amostra usado

## 18. ÁCIDO SÓRBICO

### Definição

O ácido sórbico é um ácido graxo insaturado, cuja fórmula química é:  $\text{CH}_3 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH} = \text{CH} - \text{COOH}$

É permitida a sua utilização no vinho até o limite máximo de 200 mg/l. É um produto fungistático (inibe o crescimento das leveduras) e não apresenta nenhuma ação inibidora contra as bactérias acéticas e lácticas que podem degradar o produto causando cheiro desagradável. Não apresenta ação antioxidante. Apresenta eficiência prática em associação com uma proporção de álcool e uma certa dose de anidrido sulfuroso.

### Princípio do método

O ácido sórbico é separado do vinho através do arraste com vapor d'água e determinado por espectrofotometria a 256 nm.

### Material

- Espectrofotômetro ultravioleta.
- Aparelho Cazenave-Ferré (utilizado para determinação da acidez volátil).
- Balão volumétrico de 100 ml.
- Pipeta automática de 1 ml.

### Reagente

- Padrão de ácido sórbico a 200 mg/l (268 mg/l de sorbato de potássio).
- Ácido clorídrico 0,1 N.

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 200 mg/l de ácido sórbico (268 mg/l de sorbato de potássio) preparar os padrões de 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 mg/l de ácido sórbico, em balões volumétricos de 100 ml com 0,3 ml de ácido clorídrico 0,1 N, completando o volume com água deionizada e homogeneizar.

### Preparo da amostra

Pipetar 1 ml de vinho no aparelho de destilação (Cazenave-Ferré). Recolher o destilado num balão volumétrico de 100 ml, que contém 0,3 ml de ácido clorídrico 0,1 N. Quando o volume estiver próximo ao traço de aferição, parar a destilação, retirar o balão e completar o nível com água deionizada. Fazer a leitura em espectrofotômetro a 256 nm (UV).

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no espectrofotômetro, utilizando a água deionizada como branco, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações de ácido sórbico na abcissa conforme Figura 2.

### Cálculo

O resultado é expresso em mg/l de ácido sórbico, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra.

Para indicar os valores em sorbato de potássio, multiplicar o teor de ácido sórbico por 1,34.

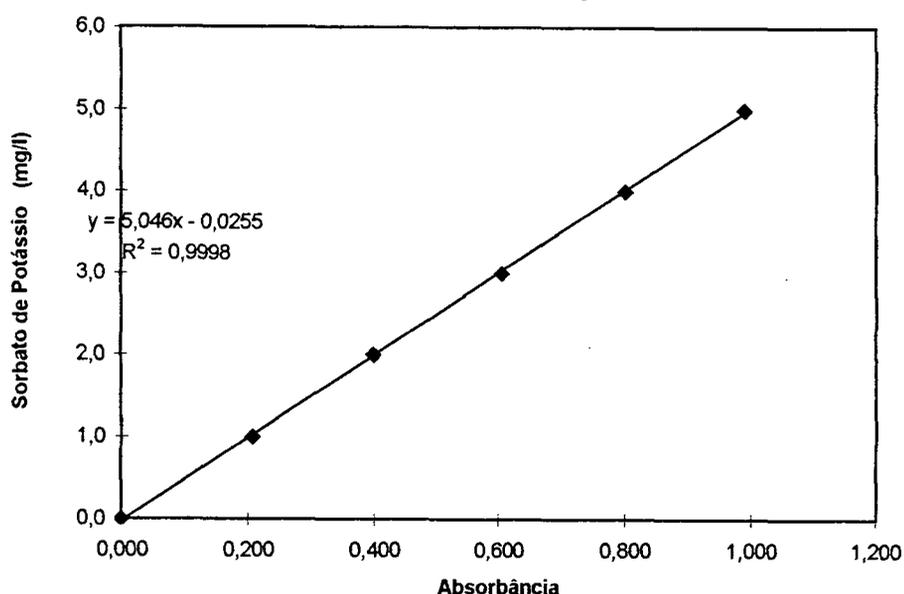


Figura 2. Curva de calibração para determinação do ácido sórbico.

## 19. POTÁSSIO

### Definição

O potássio é, quantitativamente, o cátion mais importante do vinho. O conhecimento da sua concentração é fundamental para informar ao enólogo o grau de estabilidade em relação ao bitartarato de potássio. O teor nos mostos é consequência da cultivar de videira, da evolução das condições climáticas, especialmente por ocasião da colheita.

### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

### Reagente

Padrão de potássio com concentração definida (KCl).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

- Comprimento de onda: 766,8 nm.
- Abertura da fenda: 0,2 nm.
- Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de potássio de 1 g/l, preparar os padrões de - 30,0 - 60,0 - 90,0 - 120,0 e 150,0 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

O vinho deve ser diluído na proporção de 10% com água deionizada, fazendo com que a concentração fique nos limites da curva.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abcissa, conforme a Figura 3.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de potássio normalmente encontrado no vinho varia entre 400 e 1500 mg/l.

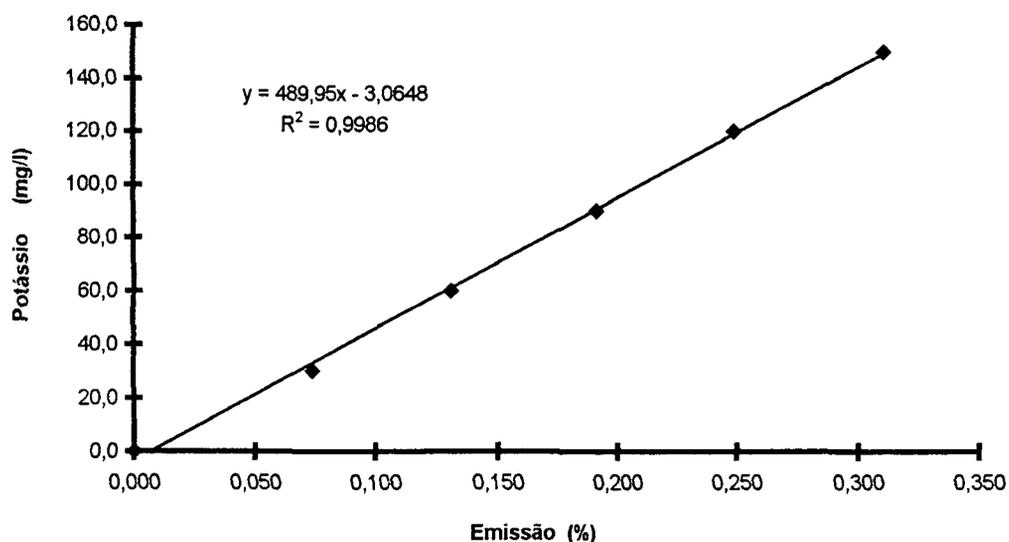


Figura 3. Curva de calibração para determinação do potássio.

## 20. SÓDIO

### Definição

O sódio é um elemento natural encontrado nos vinhos. O seu teor está muito relacionado com o local de procedência da uva. Assim, vinhedos localizados em regiões próximas ao mar apresentam vinhos com teor de sódio mais elevado em relação àqueles de regiões mais afastadas. Vinhos de regiões mais secas também apresentam teores de sódio mais elevados do que os de outras regiões mais úmidas. Outros fatores que concorrem para aumentar o teor de sódio nos vinhos são os produtos enológicos utilizados, principalmente as bentonites.

### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

### Reagente

Padrão de sódio com concentração definida (NaCl).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda = 589,1 nm.

Abertura da fenda (slit) = 0,2 nm.

Chama = ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de sódio de 10 mg/l preparar os padrões de 0,2 - 0,4 - 0,8 - 1,2 - 1,6 - 2,0 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

O vinho deve ser diluído na proporção de 10% com água deionizada, fazendo com que a concentração fique nos limites da curva.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no trabalho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme a Figura 4.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrões pelo fator de diluição da amostra. O teor de sódio normalmente encontrado no vinho varia entre 5 e 50 mg/l.

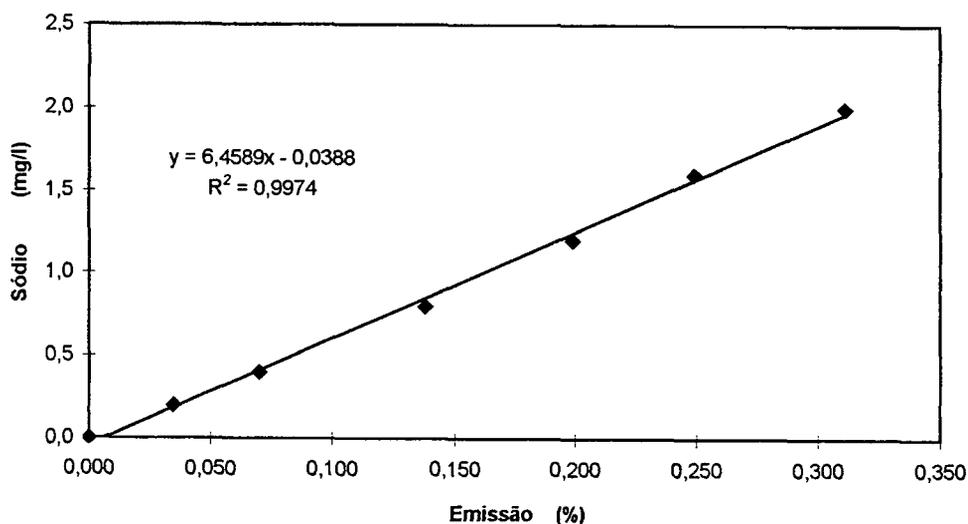


Figura 4. Curva de calibração para determinação do sódio.

## 21. CÁLCIO

### Definição

É importante o conhecimento da concentração de cálcio nos vinhos, uma vez que seu teor está relacionado com a precipitação do tartarato de cálcio, que acontece lentamente, geralmente, após o seu engarrafamento. O teor de cálcio nos vinhos é consequência das condições do solo, do tratamento dos mostos com carbonato de cálcio, da utilização de certos agentes filtrantes. A conservação em recipientes de concreto armado, a utilização de certas bentonites, são fatores que favorecem o aumento do teor de cálcio nos vinhos.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de cálcio com concentração definida ( $\text{CaCl}_2$ ), óxido de Lantano ( $\text{La}_2\text{O}_3$ ) para absorção atômica - solução a 2,5% contendo 8% de ácido clorídrico, completar com água deionizada.

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda: 433,8 nm.

Abertura da fenda: 0,7 nm.

Chama: ar e acetileno (reductor).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg/l de cálcio, preparar padrões de - 1,0 - 2,0 - 3,0 - 4,0 - 5,0 e 6,0 mg/l adicionando 10% da solução de óxido de lantano a 2,5% e completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

O vinho deve ser diluído na proporção de 4% em balão volumétrico contendo 20% da solução de óxido de lantano. Completar o volume com água deionizada.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme Figura 5.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. o teor de cálcio normalmente encontrado no vinho, varia entre 60 e 110 mg/l.

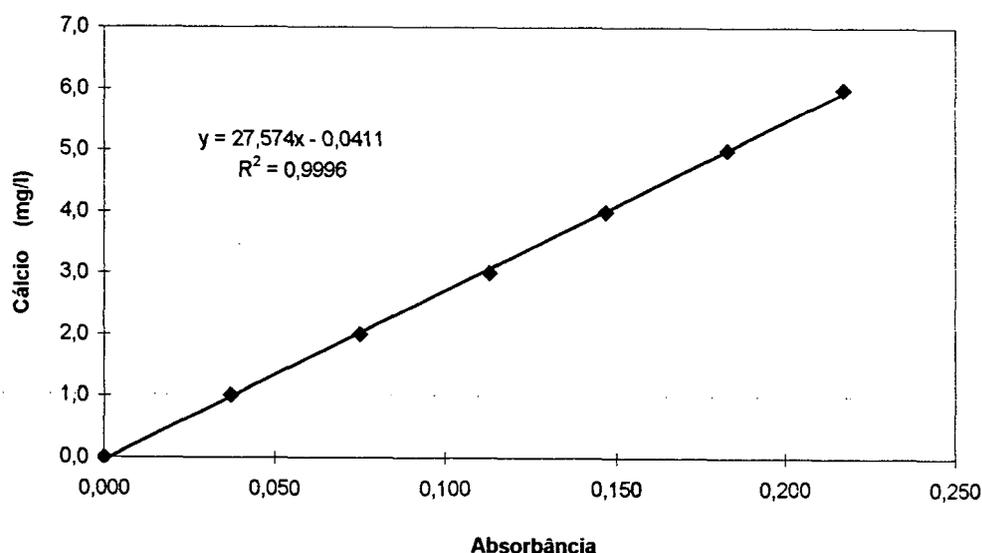


Figura 5. Curva de calibração para determinação de cálcio.

## 22. MAGNÉSIO

### Definição

A concentração do magnésio nos vinhos está relacionada com o solo, agentes filtrantes, conservação em recipientes de concreto armado, tratamento com resinas pela concentração de álcool no vinho e outros constituintes, como no caso, tartaratos e sulfatos. O pH, o tempo e a temperatura de conservação, também exercem uma influência no teor de magnésio dos vinhos.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### **Reagente**

Padrão de magnésio em concentração, definida ( $\text{MgCl}_2$  em 6% HCl).

### **Aparelhagem**

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### **Parâmetros de operação atômica**

Comprimento de onda: 285,2 nm (ultravioleta).

Abertura da fenda: 0,7 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### **Preparo da curva padrão**

A partir de uma solução de 20 mg/l de magnésio, preparar os padrões de - 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 e 1,0 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### **Preparo da amostra**

O vinho deve ser diluído na proporção de 1% com água deionizada, fazendo com que a concentração fique nos limites da curva.

### **Modo operatório**

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de magnésio na abscissa, conforme Figura 6.

### **Cálculo da concentração**

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra. O teor de magnésio normalmente encontrado no vinho, varia entre 50 e 90 mg/l.

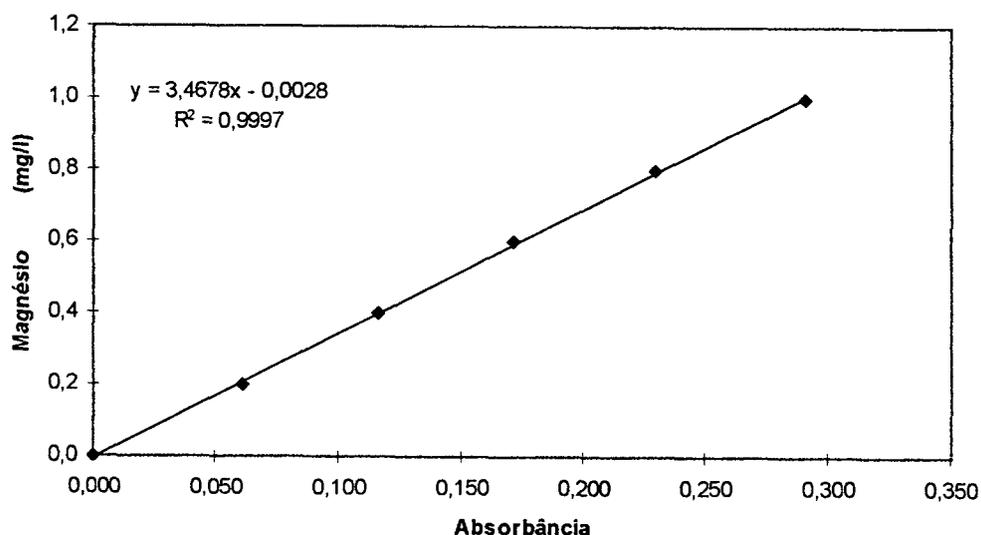


Figura 6. Curva de calibração para determinação do magnésio.

## 23. MANGANÊS

### Definição

O manganês +e encontrado em todos os vinhos em pequenas quantidades. Normalmente, os vinhos tintos apresentam teores mais altos desse cátion, uma vez que é encontrado em percentagem mais elevada na semente. Alguns produtos fitossanitários utilizados para controlar as doenças das videiras podem aumentar a sua concentração nos vinhos.

### Princípios do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de manganês com concentração definida ( $MnCl_2$ ).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento da onda: 279 nm.

Abertura da fenda: 0,2 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg/l de manganês, preparar os padrões de 0,50 - 1,00 - 1,50 - 2,00 - 2,50 e 3,00 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos na absorbância na ordenada e as concentrações de sódio na abscissa, conforme a Figura 7.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, conforme leitura na curva padrão. O teor de manganês normalmente encontrado no vinho varia entre 0,5 e 3,5 mg/l.

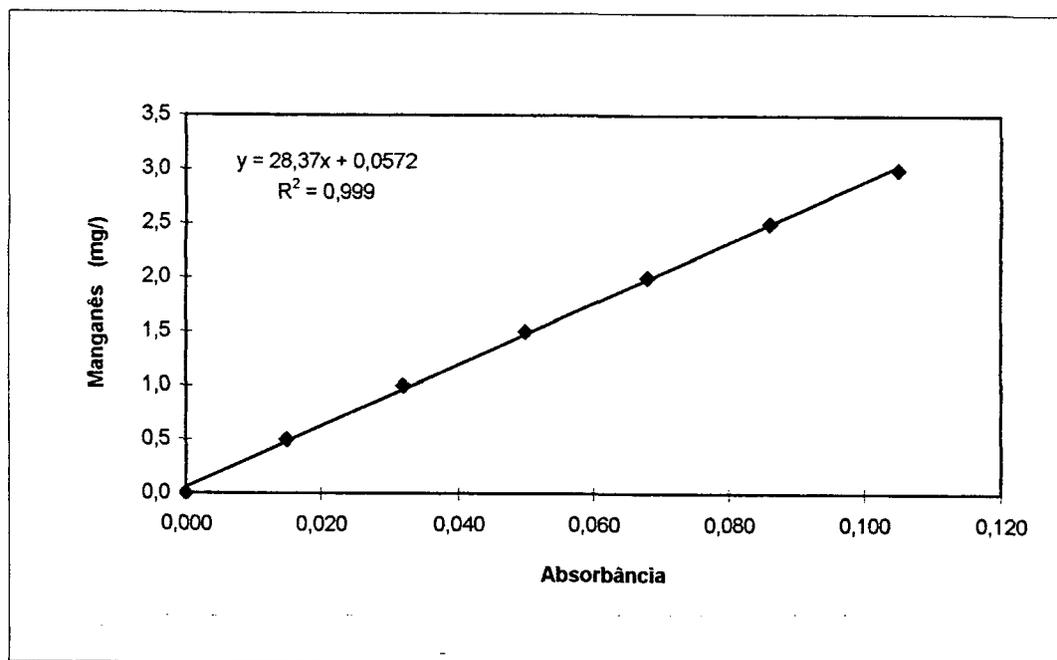


Figura 7. Curva de calibração para determinação do manganês.

## 24. FERRO

### Definição

O ferro é um cátion encontrado em todos os vinhos. É importante o conhecimento da sua concentração, uma vez que participa dos processos de turvação e oxidação nos vinhos quando em concentrações elevadas. A presença de terra na uva é um dos fatores principais que contribui para o aumento do seu teor no vinho, embora a participação mais importante seja devida ao contato do mosto ou do vinho com materiais e equipamentos de ferro.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de ferro com concentração definida ( $\text{FeCl}_2$ ).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda: 248 nm.

Abertura de fenda: 0,2 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg/l de ferro, preparar os padrões de 1,0 - 2,0 - 4,0 - 6,0 - 8,0 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de ferro na abscissa, conforme Figura 8.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, conforme a leitura na curva padrão. O teor de ferro normalmente encontrado no vinho varia entre traços e 15 mg/l.

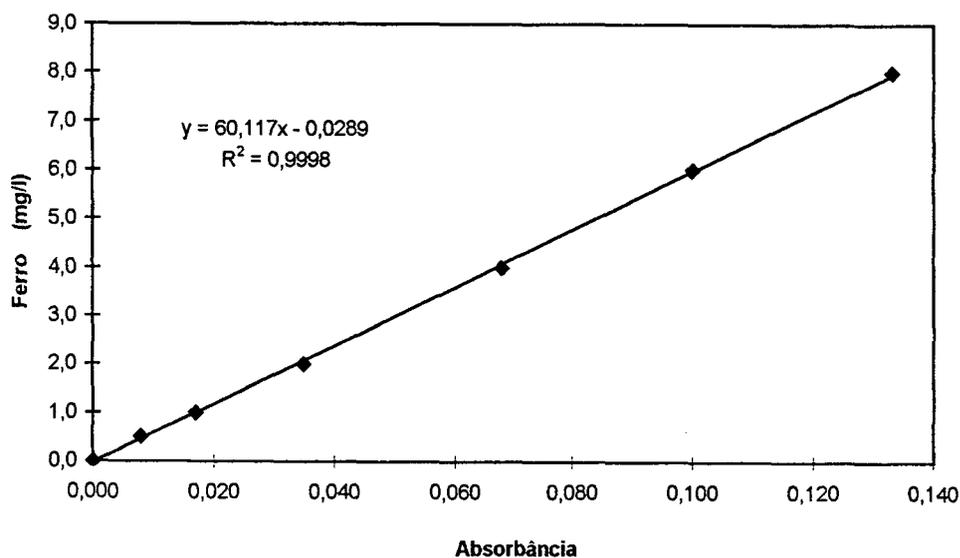


Figura 8. Curva de calibração para determinação do ferro.

## 25. COBRE

### Definição

O teor de cobre nos vinhos está relacionado com os processo de turvação e oxidação dos mesmos. A sua concentração pode estar relacionada com os tratamentos fitossanitários utilizados na videira ou do contato do vinho com materiais e recipientes que contêm cobre. Durante a fermentação alcoólica, as leveduras fixam e precipitam a maior parte do cobre existente no mosto.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagentes

Padrão de cobre com concentração definida ( $\text{CuCl}_2$ ).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda: 325 nm (ultravioleta).

Abertura da fenda: 0,7 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg/l de cobre, preparar os padrões de 0,5 - 1,0 - 2,0 - 3,0 - 4,0 e 5,0 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de cobre na abscissa, conforme a Figura 9.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, conforme a leitura na curva padrão. O teor de cobre normalmente encontrado no vinho varia entre traços e 5 mg/l.

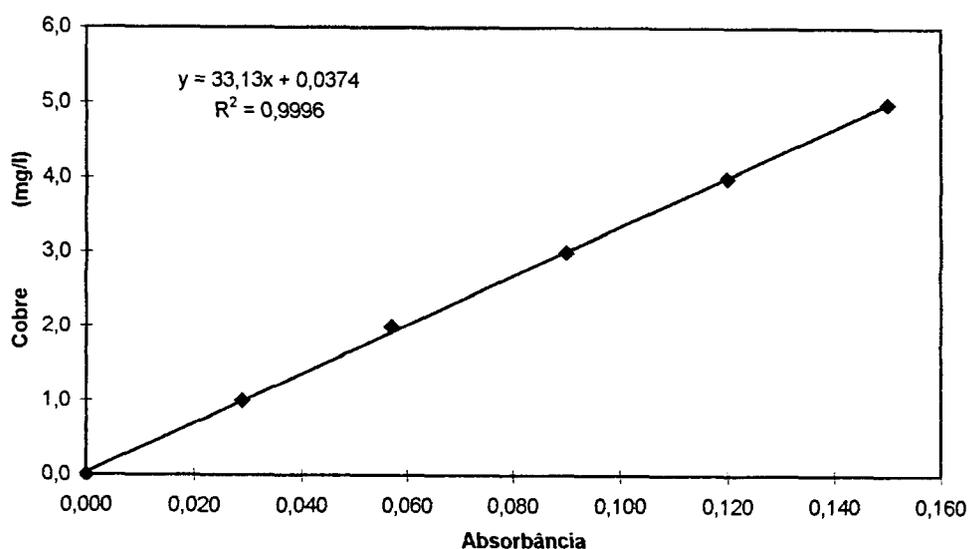


Figura 9. Curva de calibração para determinação do cobre.

## 26. ZINCO

### Definição

O zinco é encontrado nos vinhos em níveis muito baixos e um aumento eventual pode ser consequência do contato com certos materiais galvanizados ou de certas ligas com este metal. Alguns produtos fitossanitários utilizados na videira, podem contribuir para aumentar o teor de zinco nos vinhos.

### Princípio do método

Espectrofotometria de absorção atômica.

### Reagente

Padrão de zinco com concentração definida ( $ZnCl_2$ ).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda: 213,9 nm (ultravioleta).

Abertura de fenda: 0,7 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 10 mg/l de zinco, preparar padrões de - 0,10 - 0,25 - 0,50 - 1,00 e 1,50 mg/l, completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A leitura é feita diretamente na amostra.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva colocando os valores da absorbância na ordenada e as concentrações na abscissa, conforme a Figura 10.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, conforme leitura na curva padrão. O teor de zinco, normalmente encontrado no vinho, varia entre 0,4 e 2,0 mg/l.

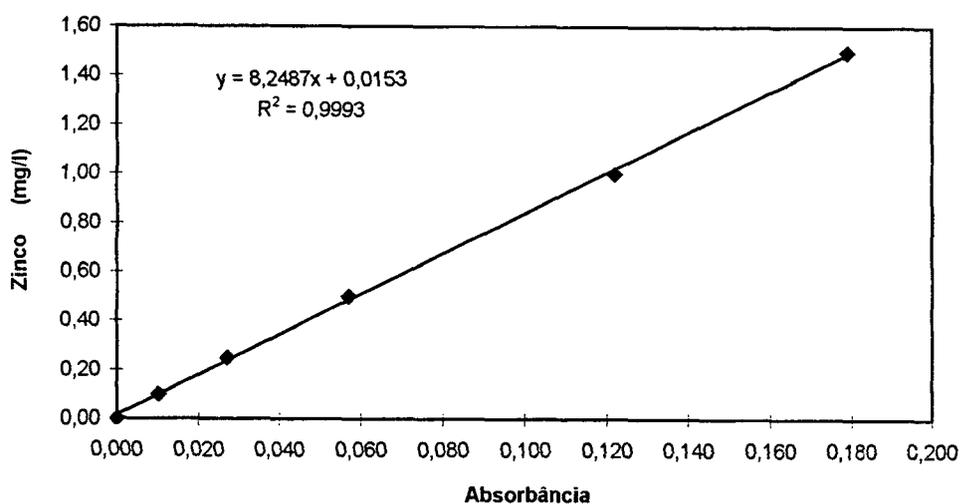


Figura 10. Curva de calibração para determinação do zinco.

## 27. LÍLIO

### Definição

Lítio é um cátion que está sempre presente nos vinhos em pequenas quantidades ( $\mu\text{g/l}$ ). Segundo alguns autores, a sua presença estaria relacionada com o tipo de solo onde é cultivada a videira e do pH do mesmo. Esse elemento apresenta um certo valor discriminante para a diferenciação dos vinhos das várias regiões vitícolas. Para outros autores, a sua presença, em maior quantidade em alguns vinhos, seria considerada como uma poluição, adicionada através da sacarose, no momento da correção do mosto.

### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

### Reagente

Padrão de lítio com concentração definida (LiCl).

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do aparelho

Comprimento de onda: 670,8 nm.

Abertura da fenda: 0,2 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 1 mg/l de lítio, preparar os padrões de 5,0 - 10,0 - 15,0 - 20,0 e 25,0 µg/l, adicionando-se 20% do volume de uma solução de hidróxido de potássio a 10 g/l e completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração na abscissa, conforme a Figura 11.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em µg/l, conforme a leitura na curva padrão. O teor de lítio normalmente encontrado no vinho varia entre traços a 30 µg/l.

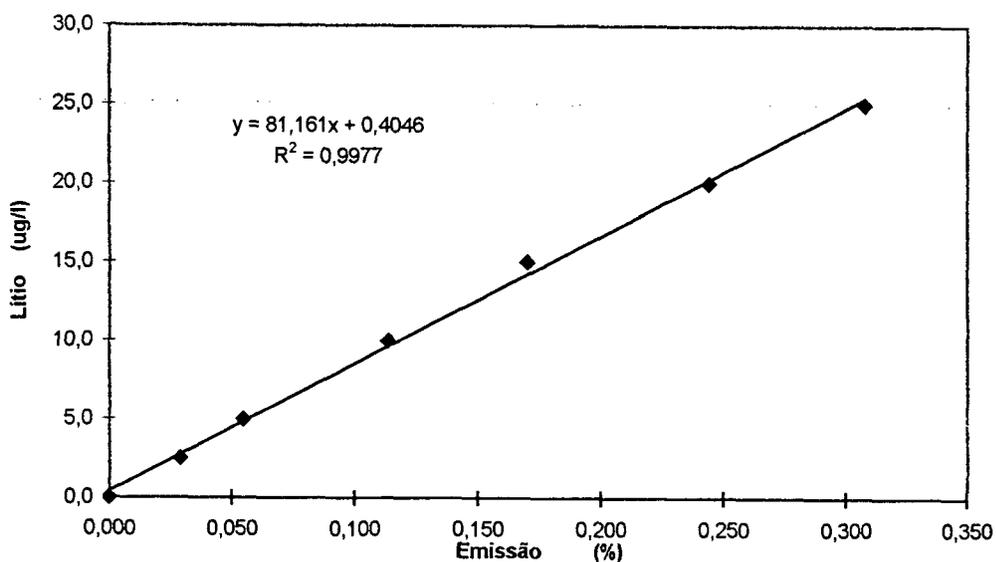


Figura 11. Curva de calibração para determinação do lítio.

## 28. RUBÍDIO

### Definição

O rubídio é um metal do grupo dos alcalino terrosos encontrado em todos os vinhos sempre em pequenas quantidades. Em alguns casos, esse elemento tem sido útil para diferenciar vinhos provenientes de diferentes regiões vitícolas.

### Princípio do método

Espectrofotometria de emissão de chama.

### Reagente

- Padrão de rubídio com concentração definida.
- Hidróxido de potássio.

### Aparelhagem

Espectrofotômetro de absorção atômica.

### Parâmetros de operação do espectrofotômetro

Comprimento de onda: 780 nm.

Abertura da fenda: 0,2 nm.

Chama: ar e acetileno (oxidante).

### Preparo da curva padrão

A partir de uma solução de 100 mg/l, preparar os padrões de 1,0 - 2,0 - 4,0 - 6,0 mg/l, adicionando 10% de uma solução de hidróxido de potássio a 10 g/l e completando o volume com água deionizada.

### Preparo da amostra

A amostra é lida diretamente.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no espectrofotômetro de absorção atômica, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e a concentração de rubídio na abscissa, conforme a Figura 12.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, conforme a leitura na curva. Os teores de rubídio normalmente encontrado nos vinhos, variam entre traços e 8 mg/l.

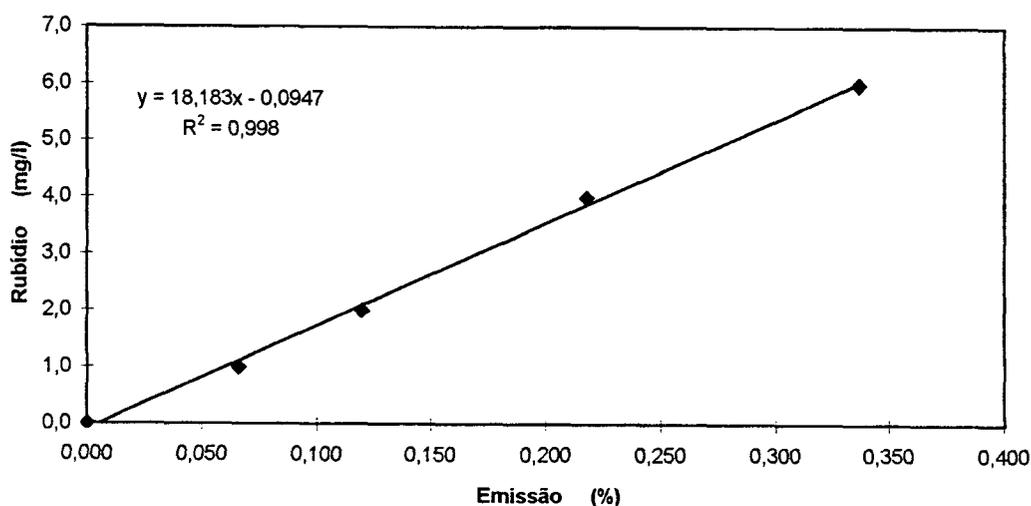


Figura 12. Curva de calibração para determinação do rubídio.

## 29. FÓSFORO

### Definição

O fósforo existe naturalmente nos vinhos, na forma mineral e orgânica. Esse elemento tem participação importante, principalmente quando os teores são elevados, na formação de precipitados de fosfato-férrico, causando turvação nos vinhos. Muitas vezes, ele é adicionado ao mosto na forma de fosfato de amônio, com o objetivo de facilitar a fermentação alcoólica.

### Princípio do método

Fotocolorimetria.

### Reagente

- Padrão de fósforo com concentração conhecida.
- Solução sulfomolibdica: dissolver 1 g de subcarbonato de bismuto em 200 ml de água deionizada, acrescentar 138 ml de ácido sulfúrico concentrado, agitar até dissolver e deixar esfriar; dissolver 20 g de molibdato de amônio em 300 ml de água deionizada.
- Transferir as duas soluções para um balão volumétrico de 1000 ml e completar o volume com água deionizada a 20°C.

### Aparelhagem

Espectrofotômetro.

### Parâmetros de operação do espectrofotômetro

Comprimento de onda: 725 nm.

### Preparo da curva padrão

Em balão volumétrico de 50 ml, adicionar 10 ml de água deionizada, 5 ml de solução sulfomolibdica, 2 ml de ácido ascórbico a 2% e os padrões de fósforo de 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 e 1,0 mg/l, obtidos a partir de uma solução de 10 mg/l, completar o volume com água deionizada, agitar e esperar 15 minutos para efetuar a leitura, utilizando cubetas de 10 mm de espessura ótica. Tratar o branco da mesma forma que para a curva padrão, substituindo a solução de fósforo por água deionizada.

### Preparo da amostra

Seguir o mesmo procedimento da curva padrão, substituindo a solução de fósforo por 2 ml do vinho diluído a 20%.

### Modo operatório

A partir dos padrões estabelecidos e da sua leitura no aparelho, traçar a curva, colocando os valores obtidos da absorbância na ordenada e as concentrações de fósforo na abscissa, conforme a Figura 13.

### Cálculo da concentração

O resultado é expresso em mg/l, multiplicando o valor encontrado na curva padrão pelo fator de diluição da amostra.

Para expressar os valores obtidos em fosfato, multiplicar o valor obtido por 3,065.

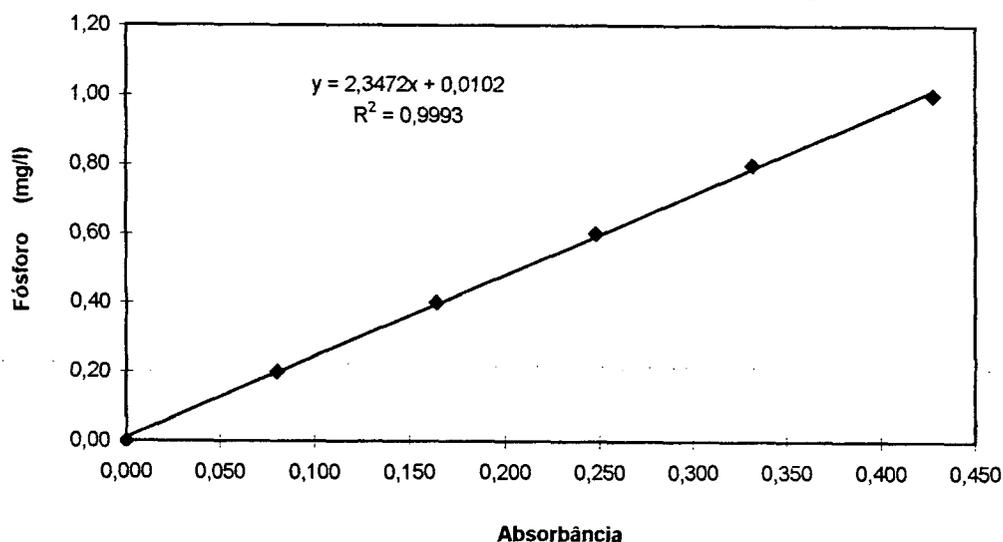


Figura 13. Curva de calibração para determinação do fósforo.

## 30. ALDEÍDO ACÉTICO, ACETATO DE TILA, METANOL E ÁLCOOIS SUPERIORES

### Definição

Exceto o metanol, os compostos voláteis determinados são considerados produtos secundários da fermentação alcoólica e contribuem para a qualidade dos vinhos, principalmente no caso dos brancos. Um grande número de substâncias fazem parte dos composto voláteis dos vinhos. Quantitativamente, quatro álcoois superiores (propanol - C, metil - 2 propanol -1, metil - 2 butanol - 1 e metil - 3 butanol - 1) juntamente com um éter (acetato de etila) são os mais importantes. O metanol é formado através da

hidrólise das pectinas pela ação de uma enzima. O aldeído acético, produto de oxidação do etanol, está intimamente ligado aos processos de oxirredução dos vinhos.

### Princípio do método

Cromatografia gasosa.

### Aparelhagem

Cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama, coluna "carbowax 600" de aço inoxidável, de 3,2 m de comprimento por 3/4" de diâmetro.

### Parâmetros de operação do aparelho

- Temperatura de coluna - 98° em isoterma.
- Temperatura do vaporizador (injetor) - 140°C.
- Temperatura do detector - 160°C.
- Vazão do gás de arraste (nitrogênio - 40 ml) min.
- Volume da amostra a ser injetado - 3 - 4 µl.

### Reagentes

- Aldeído acético.
- Acetato de etila.
- Metanol.
- Propanol - 1.
- Metil - 2 propanol - 1.
- Metil 2 + metil - 3 butanol - 1.
- Metil 4 pentanol - 2.
- Etanol.

### Preparo dos padrões

Preparar as seguintes soluções padrão com: - metanol 100 mg/l; propanol - 1 50 mg/l; metil - 2 propanol - 1 100 mg/l; e metil - 2 + metil - 3 butanol - 1 200 mg /l, diluída numa solução de etanol a 10%; - aldeído acético a 50 mg/l, diluída numa solução hidroalcoólica a 10%; - acetato de etila a 100 mg/l, diluída numa solução hidroalcoólica a 10%; - metil - 4 pentanol - 2 a 1,25 g/l, diluída numa solução hidroalcoólica a 10%.

### Preparo da amostra

Tomar uma amostra de 20 ml do vinho a ser analisado, colocar num erlenmeyer de 125 ml, com tampa de rosca, adicionar 2 ml de solução de metil - 4 pentanol - 2 (standard interno) e homogeneizar a amostra por 5 minutos com auxílio de um agitador magnético. Assim, a amostra está em condições de ser injetada no aparelho. A Figura 14 corresponde ao cromatograma de um vinho analisado.

### Cálculo da concentração

A concentração (C) de uma substância no vinho é obtida através da fórmula:

$$C = c \cdot \frac{h_i}{H_i}$$

onde:

$c$  = concentração da substância na solução padrão de referência.

$h$  = altura do pico da substância no vinho.

$H$  = altura do pico da substância na solução padrão de referência.

$I$  = altura do pico do standard interno na solução padrão de referência.

$i$  = altura do pico do standard interno da substância no vinho.

Na prática, para analisar uma série de amostra, utiliza-se uma regra simplificada:

$$C = K \cdot \frac{h}{i}$$

onde:

$K$  = constante para uma dada substância calculada ao seguinte modo:

$$K = C \cdot \frac{I}{H}$$

Esse método de cálculo é aplicado no caso da utilização de um standard interno. O resultado é expresso em mg/l para cada substância analisada. Os valores normalmente encontrados no vinho variam de: traços a 50 mg/l para o aldeído acético; 40 - 180 mg/l para o acetato de etila; 40 - 250 mg/l para o metanol; 1 - 40 mg/l para o propanol - 1; 20 - 120 mg/l para o metil - 2 propanol - 1 e 80 - 250 mg/l para a soma do metil - 2 + metil - 3 butanol - 1.

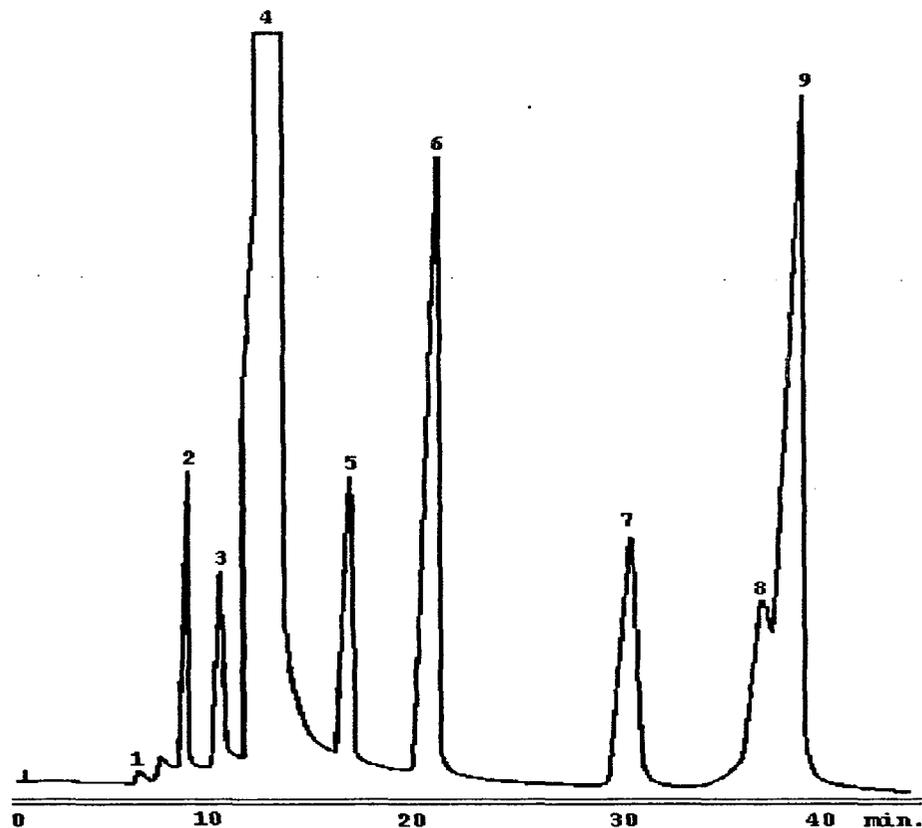


Figura 14. Cromatograma dos compostos voláteis de um vinho.

Identificação dos picos: 1. aldeído acético; 2. acetato de etila; 3. metanol; 4. etanol; 5. propanol-1; 6. metil-2 propanol-1 (isobutanol); 7. metil-4 pentanol-2 (standard interno); 8. metil-2 + metil-3 butanol-1.

## 32. GLICEROL

### Definição

O glicerol é, depois da água e do álcool, quantitativamente, o componente mais importante do vinho. Por ser formado durante o processo fermentativo, é considerado um produto secundário da fermentação alcoólica. O seu teor no vinho está relacionado com a quantidade inicial de açúcar no mosto, com o estado sanitário da uva, a natureza das leveduras e as condições de fermentação (temperatura, acidez, aeração e sulfitação).

### Princípio do método

Cromatografia gasosa.

### Reagentes

- Glicerol.
- Hexanodiol - 1,6.
- Etanol.

### Aparelhagem

Cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama; e coluna de aço inoxidável, de 2,0 m de comprimento por 3/4" de diâmetro, com "Tenax".

### Parâmetros de operação do aparelho

- Temperatura da coluna- 170°C.
- Temperatura do vaporizador (infetor) - 240°C.
- Temperatura do detector - 260°C.
- Vazão do gás de arraste (nitrogênio) - 40 ml/min volume da amostra a ser injetado - 3-4 µl.

### Preparo dos padrões

Preparar uma solução de glicerol de 9 g/l diluída numa solução hidroalcoólica a 10%.  
- hexanodiol - 1,6 a 40 g/l diluído numa solução hidroalcoólica a 20% (standard interno).

### Preparo da amostra

Tomar uma alíquota de 20 ml do vinho a ser analisado e colocar em um erlenmeyer de 125 ml, com tampa de rosca. Adicionar 2 ml de uma solução de hexanodiol - 1,6 (standard interno) e homogeneizar por 5 minutos com o auxílio de um agitador magnético. Assim, a amostra estará em condições de ser injetada no aparelho.

Para preparar o padrão de glicerol, seguir o mesmo procedimento utilizando 20 ml da solução de glicerol a 9,0 g/l em lugar do vinho. Os demais passos são idênticos aos usados para o reparo da amostra a ser analisada. Antes de efetuar as análises, uma série de injeções de uma solução de glicerol é necessária para saturar a coluna. A Figura 15 corresponde a um cromatograma obtido.

### Cálculo da concentração

A concentração (C) do glicerol no vinho é obtida através da fórmula:

$$C = c \cdot \frac{h}{I}$$

$H$   $i$

onde:

$c$ = concentração do glicerol na solução padrão de referência.

$h$ = altura do pico do glicerol na amostra do vinho.

$H$ = altura do pico do glicerol na solução padrão de referência.

$I$ = altura do pico do standard interno na solução padrão de referência.

$i$ = altura do pico do standard interno na análise do vinho.

Na prática, para analisar uma série de amostras, utiliza-se uma regra simplificada:

$$C = K \cdot \frac{h}{i}$$

onde:

$K$ = constante para o glicerol, calculada ao seguinte modo:

$$K = c \cdot \frac{I}{H}$$

Este método de cálculo é aplicado no caso da utilização de um standard interno.

Os valores normalmente encontrados nos vinhos variam de 7 a 11 g/l.

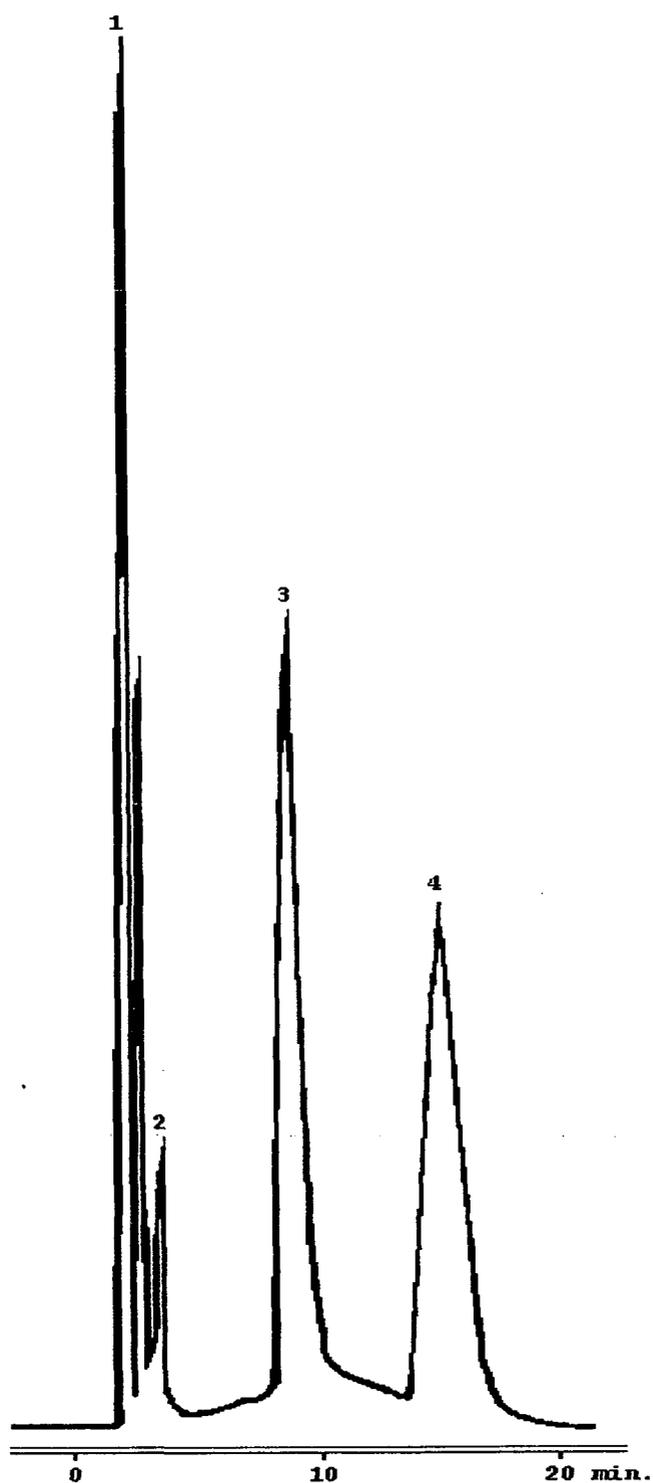


Figura 15. Cromatograma do glicerol de um vinho.  
Identificação dos picos; 1. etanol + substâncias voláteis, 2. butanodiol-2,3; 3. glicerol; 4. hexanodiol-1,6 (padrão interno).

## 33. BIBLIOGRAFIA

- AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. Análisis de vinos y mostos. Zaragoza: Acribia, 1974. 158p.
- AMORIM, H.V. de; ZAGO, E.A.; OLIVEIRA, J.A. Novos métodos analíticos para o controle da fermentação alcoólica. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1982. 57p.
- ANGELUCCI, E.; CARVALHO, C.R.L.; CARVALHO, P.R.N.; FIGUEIREDO, I.B.; MANTOVANI, D.M.B.; MORAIS, M.R. DE. Análises químicas de alimentos. manual técnico. Campinas: ITAL, 1987. 123p.
- BARCELÓ, J.G. Metodología de analisis de vinos y derivados. Vilafranca del Penedés. Barcelona: Sociedad Expendedora del Panedés, 1976. 285p.
- BERTRAND, A. Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse. Bordeaux: Université de Bordeaux I, 1975. 291p. Thèse Docteur d'Etat - Sciences.
- BLOUIN, J. Manuel pratique d'analyses des moûts & des vins. Bordeaux: Chambre d'Agriculture de la Gironde-Service de la vigne et du vin. Bordeaux: 1977. 205p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. Metodologia de análise de bebidas e vinagres. Brasília, 1986. 69p.
- CATALUÑA E. Uvas e vinhos. Rio de Janeiro: Globo, 1984. 230p.
- CANTAGREL, R.; SYMONDS, P.; CARLES, J. Dosage du glycerol dans les vins par chromatografie en phase gazeuse. Revue Française d'Oenologie, (72): 37-39, 1978.
- DELANDE, D.; MATILLARD, C.; MAISONDIEU, D.; MICONI, C. Il controllo tecnologico del vino attraverso l'analisi. Brescia: AEB, 1989, 217p.
- GAROGLIO, P.G. Enciclopedia vitivinicola mondiale. Firenze: Edizioni Tellus, 1973. v.5, 118p.
- GAROGLIO, P.G. Nuovo trattato di enologia. Firenze: Ed. Scientifiche, 1953. v.3, 1453p.
- GIANNESI, P.; MATTA, M. Trattato de scienza e tecnica enologica. Analisi e controllo dei mosti e dei vini. Brescia: AEB, 1987. v.1, 349p.
- HORWITS, W. ed. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13 ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1980. 1017p.
- LACASTA, F. Dosage de quelques metaux dans les vins par espectrometrie d'absorption et d'emission de flamme. Bordeaux: Université de Bordeaux II - Station Agronomique et Oenologique, 1982. 66p. Rapport de Stage B.T.A.O.
- MEYER, C.R.; LEYGUE-ALBA, N.M.R. Manual de métodos analíticos enológicos. Caxias do Sul: U.C.S. 1991. 49p.
- MORI, L. Metode razionali di analisi nella moderna tecnica enologica. Roma: Luigi Scialpi Editore, 1975. 211p.
- NAVARRÉ, C. L'oenologie. Paris: Technique et documentation (Lavoisier), 1988. 302p.
- OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN. Recuril des méthodes internationales d'analyse des vins. Paris: 1978. 348p.
- PERKIN-ELMER. Analytical methods for atomic absorption espectrophotometry. Connecticut, USA: Norwalk, 1976.
- RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P. SCIENCES ET TECHNIQUES DU VIN. PARIS: DUNOD, 1976. V.1, 676P.
- UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II, INSTITUT D'OENOLOGIE. Cahier de travaux pratiques. Bordeaux: 1982. 130p.
- TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. Análises de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre. UFRGS - Faculdade de Agronomia - Departamento de Solos, 1985. 190p. (UFRGS-Faculdade de Agronomia. Boletim Técnico, 5).