



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS-CAMPUS CURITIBANOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ECOSISTEMAS AGRÍCOLAS E  
NATURAIS**

**KÉTLIN SCHNEIDER**

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E DINÂMICA POPULACIONAL DE  
MICROORGANISMOS AUTÓCTONES DURANTE A FERMENTAÇÃO  
ESPONTÂNEA DO MOSTO DE CABERNET SAUVIGNON DAS REGIÕES DE  
ALTITUDE CATARINENSES**

**CURITIBANOS  
2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ECOSISTEMAS AGRÍCOLAS E NATURAIS**

**KÉTLIN SCHNEIDER**

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E DINÂMICA POPULACIONAL DE  
MICRORGANISMOS AUTÓCTONES DURANTE A FERMENTAÇÃO  
ESPONTÂNEA DO MOSTO DE CABERNET SAUVIGNON DAS REGIÕES DE  
ALTITUDE CATARINENSES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Prof<sup>o</sup>. Dr. Miguel Pedro Guerra

**Co-orientador:** Prof<sup>o</sup> Dr. Cristian Soldi

**CURITIBANOS  
2022**

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

Schneider, Ketlin

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E DINÂMICA POPULACIONAL  
DE MICRORGANISMOS AUTÓCTONES DURANTE A FERMENTAÇÃO  
ESPONTÂNEA DO MOSTO DE CABERNET SAUVIGNON DAS REGIÕES DE  
ALTITUDE CATARINENSES / Ketlin Schneider ; orientador,  
Miguel Pedro Guerra, coorientador, Cristian Soldi, 2022.  
77 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Campus Curitibanos, Programa de Pós-Graduação em  
Ecossistemas Agrícolas e Naturais, Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Ecossistemas Agrícolas e Naturais. 2. Composição  
química dos Vinhos de Altitude de Santa Catarina. 3.  
Metoxipirazinas. 4. Fermentação Espontânea. 5. Isolamento de  
Leveduras. I. Guerra, Miguel Pedro . II. Soldi, Cristian.  
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de  
Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais. IV. Título.

KÉTLIN SCHNEIDER

**Título: Características Físico-químicas e Dinâmica Populacional de Microrganismos Autóctones Durante a Fermentação Espontânea do Mosto de Cabernet Sauvignon das Regiões de Altitude Catarinenses**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof., Dr. Miguel Pedro Guerra  
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente  
Miguel Pedro Guerra  
Data: 06/06/2022 15:13:16-0300  
CPF: 232.451.740-04  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Prof., Dr. Leocir José Welter  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof., Dr. Alberto Fontanella Brighenti  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Ciências



Documento assinado digitalmente  
Alexandre Siminski  
Data: 06/06/2022 14:23:50-0300  
CPF: 022.101.149-85  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Documento assinado digitalmente  
Miguel Pedro Guerra  
Data: 06/06/2022 15:14:11-0300  
CPF: 232.451.740-04  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

Prof., Dr. Miguel Pedro Guerra  
Orientador(a)

Curitiba, 2022

Dedico esse trabalho aos meus pais e a  
Nathalia por todo o amor, compreensão e  
suporte.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais-PPGEAN pela estrutura e aporte para a realização das etapas deste projeto, as Vinícolas Abreu Garcia e Villaggio Basseti por fornecerem a matéria-prima para a realização deste trabalho, a FAPESC, CNPQ e FINEP pelo apoio financeiro e infraestrutura.

A Deus por ter me fortalecido ao ponto de superar as dificuldades enfrentadas, por toda saúde que me deu e que permitiu alcançar esta etapa tão importante da minha vida.

Ao meu Orientador Professor Dr. Miguel Pedro Guerra e ao meu Coorientador Professor Dr. Cristian Soldi, obrigada por terem me orientado, pelo comprometimento com a realização deste trabalho e por compartilharem seus conhecimentos e me incentivarem a melhorar a cada dia.

A minha família e a Nathalia Castagna Caon por toda paciência, amor, carinho e respeito as minhas escolhas e decisões em mais uma etapa da minha vida.

A todos os professores do PPGEAN por compartilharem seus conhecimentos, por sua dedicação e por incentivarem a busca do conhecimento. Agradeço em especial aos professores Dr. Leocir José Welter e Dr. Tancredo Augusto F. de Souza pela confiança e por todas as experiências compartilhadas durante o mestrado. Agradeço também aos professores Dr<sup>a</sup>. Gloria R. Botelho e Dr. Joni Stolberg pelos conhecimentos compartilhados.

Aos colegas pelo conhecimento, angústias e conquistas compartilhadas durante a realização do mestrado agradeço em especial a Monalisa Ribeiro Camargo, Wilson Taybar Assumpção por deixarem os momentos de convivência mais descontraídos e por acreditarem na minha capacidade para realização deste. Agradeço aos técnicos de Laboratório e a todos os técnicos da UFSC-Campus Curitibanos por todo auxílio prestado para a realização deste.

## RESUMO

A fermentação espontânea é um processo complexo que envolve diversas espécies de leveduras e as populações predominantes no mosto de uvas são caracterizadas como não *Saccharomyces*. O presente trabalho objetivou-se comparar as características do processo fermentativo e as características enológicas em vinhos elaborados por fermentação espontânea com vinhos elaborados com levedura comercial a partir de uvas originadas de São Joaquim (SJ) e Campo Belo do Sul (CBS), SC. Foram elaborados vinhos utilizando fermentação espontânea (CBSFE e SJFE) e para efeito comparativo, com fermentação utilizando levedura comercial (CBSFC e SJFC). O processo fermentativo foi acompanhado pelo decréscimo da densidade até a estabilização da fermentação. Foram realizados isolamentos de leveduras e quantificado os teores de açúcares residuais e teor alcoólico. Foram avaliadas as características enológicas após a fermentação malolática: acidez total e volátil, pH, teor alcoólico, açúcares residuais, extrato seco total, índices de tonalidade e de intensidade de cor, teor de antocianinas, atividade redutora e teor de metoxipirazinas. Entre as fases da fermentação foram observadas diferenças no decréscimo da densidade e foi possível distinguir a fase de adaptação, fase II e fase III. Os vinhos CBSFE apresentaram acidez, teor alcoólico, extrato seco total, índice de cor e índice de tonalidade menores e acidez volátil, pH, teor de antocianinas e polifenóis mais elevados, não apresentando diferenças no açúcar residual em relação CBSFC. A fermentação espontânea influenciou a cinética da fermentação, apresentando maior número de UFC.mL<sup>-1</sup>, maior teor de açúcares residuais e menor teor alcoólico. As fases do processo de fermentação espontânea apresentaram baixa similaridade e entre a fermentação espontânea e a fermentação com fermento comercial, diferentes colônias são responsáveis pelo processo fermentativo em cada fase. O vinho SJFE apresentou maiores teores de acidez volátil, açúcares residuais e índice de cor, e menor teor alcoólico e polifenóis comparativamente ao vinho SJFC. A acidez total, o pH, os açúcares residuais, a tonalidade e o conteúdo de antocianinas não apresentaram diferenças entre os vinhos. Os teores de IPMP, SBMP e IBMP foram significativamente menores nos vinhos CBSFE, e IPMP e IBMP significativamente menores nos vinhos SJFE. A fermentação espontânea modifica a cinética da fermentação alcoólica e o processo de fermentação ocorre por sucessão microbiana nas fases da fermentação alcoólica, exercendo influência nas características enológicas dos vinhos elaborados evidenciando as características únicas dos “*terroirs*” nos vinhos.

**PALAVRAS CHAVES:** Isolamento de Leveduras, Cinética da Fermentação, Composição Química. Metoxipirazinas.

## ABSTRACT

Spontaneous fermentation is a complex process that involves several yeast species and as predominant populations in the grape must are characterized as non-Saccharomyces. The present work aimed to compare the characteristics of the fermentation process and the oenological characteristics in wines produced by spontaneous fermentation with wines produced with commercial yeast from grapes originated from São Joaquim (SJ) and Campo Belo do Sul (CBS), SC. Microvinifications were elaborated using spontaneous fermentation (CBSFE and SJFE) and for comparative effect fermentation with commercial yeast (CBSFC and SJFC). The fermentation process was accompanied by a decrease in density until fermentation stabilization, yeast isolations were carried out and the residual sugar and alcohol content quantified, wine samples after malolactic fermentation were evaluated for oenological characteristics: total and volatile acidity, pH, alcohol content, residual sugars, total dry extract, color tone and intensity indices, anthocyanin content and reducing activity, and methoxypyrazines content. Between the fermentation phases, statistical differences were observed in the decrease of density and it was possible to distinguish the adaptation phase, phase II and phase III. The CBSFE wines showed lower acidity, alcohol content, total dry extract, color index and hue index and higher volatile acidity, pH, anthocyanin and polyphenol content, with no differences in residual sugar in relation to CBSFC. Spontaneous fermentation influenced the fermentation kinetics, showing a higher number of CFU.mL<sup>-1</sup>, higher residual sugar content and lower alcohol content. The phases of the process from spontaneous fermentation to spontaneous fermentation showed low similarity and between spontaneous fermentation and fermentation with commercial yeast, different colonies are responsible for the fermentation process in each phase. SJFE wine had higher volatile acidity, residual sugars and color index, and lower alcohol and polyphenol content compared to SJFC wine. Total acidity, pH, residual sugars, hue and anthocyanin content did not differ between wines. The contents of IPMP, SBMP and IBMP were significantly lower in CBSFE wines, and IPMP and IBMP significantly lower in SJFE wines. Spontaneous fermentation modifies the kinetics of alcoholic fermentation and the fermentation process occurs by microbial succession in the phases of alcoholic fermentation, exerting influence on the oenological characteristics of the wines produced, highlighting the unique characteristics of the “terroirs” in the wines.

**KEYWORDS:** Spontaneous Fermentation, Isolation of Yeasts, Fermentation Kinetics, Oenological Characteristics, Chemical Composition. Methoxypyrazines.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estrutura, Limites De Percepção E Descritor Aromático Das Principais Metoxipirazinas Presentes Em Vinhos Tintos.....	14
Tabela 2: Acompanhamento Do Decréscimo Da Densidade Durante A Fermentação Do Mosto De Cabernet Sauvignon Nos Tratamentos De Fermentação Espontânea (Fe) E Fermentação Com Fermento Comercial (Fc) .....	28
Tabela 3: Morfologia Das Colônias Isoladas Durante A Fermentação Alcoólica De Vinhos Elaborados Por Fermentação Espontânea E Com Fermento Comercial Com Uvas Provenientes De Campo Belo Do Sul-Sc E São Joaquim-Sc.....	32

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema Das Reações Químicas Que Ocorrem Durante A Fermentação.....	8
Figura 2: Descarboxilação do Ácido d-Málico a Ácido l-Lático Promovida pela Bactéria do Ácido Lático <i>Oenococcus Oeni</i> , tendo como Metabólitos Secundários Dióxido de Carbono, Diacetil, Ésteres e Ácido Acético.....	11
Figura 3: Fórmula Estrutural da Molécula de Pirazina: (A) Substituição dos C1, C4 do Anel Benzênico por N na Molécula da Pirazina. (B) Posição onde são Inseridos os Radicais na Molécula da Pirazina. (C) Fórmula Estrutural da 2-Metoxipirazina.....	14
Figura 4: Variação na Densidade Durante a Fermentação Alcoólica dos Mostos de Cabernet Sauvignon dos Tratamentos com Fermentação Espontânea (FE) e Fermentação Comercial (FC) A Partir de Uvas Provenientes de A: Campo Belo Do Sul (CBS) e B: São Joaquim (SJ) Originando Os Tratamentos CBSFE, CBSFC, SJFE E SJFC.....	28
Figura 5: Contagem de Colonias (UFC.mL <sup>-1</sup> ) Durante a Fermentação dos Mostos. A: Contagem De Colonias Dos Mostos Dos Tratamentos CBSFE e CBSFC. B: Contagem De Colonias Dos Mostos Dos Tratamentos SJFE e SJFC.....	29
Figura 6: Concentração De Açúcares Residuais (G.L <sup>-1</sup> ) Durante O Processo Fermentativo. A: Açúcares Residuais Dos Mostos CBSFE E CBSFC. B: Açúcares Residuais Dos Mostos SJFE E SJFC.....	30
Figura 7: Formação do Etanol (%v/v) Durante a Fermentação Espontânea e com Fermento Comercial. A: Formação do Etanol nos Mostos CBSFC E CBSFE. B: Formação Do Etanol Durante a Fermentação dos Mosotos SJFC e SJFE.....	31
Figura 8: Comparação dos Valores de Acidez Total (mEq. L <sup>-1</sup> ), Acidez Volátil (mEq. L <sup>-1</sup> ) e pH dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e com Fermento Comercial. 8a) Valores de Acidez Total Titulável dos Vinhos Elaborados com Uvas de Campo Belo Do Sul-SC, 8b) Valores de Acidez Total Titulável dos Vinhos Elaborados com Uvas de São Joaquim-SC, 8c) Valores de Acidez Volátil dos Vinhos Elaborados com Uvas de Campo Belo do Sul-SC, 8d) Valores de Acidez Volátil dos Vinhos Elaborados com Uvas de São Joaquim-SC. 8e) Valores de pH dos Vinhos Elaborados com Uvas de Campo Belo do Sul-SC, 8f) Valores de pH dos Vinhos Elaborados com Uvas de São Joaquim-SC.....	38

Figura 9: Comparação do Teor Alcoólico (%v/v), Teor de Açúcares Residuais (g.L <sup>-1</sup> ) e Extrato Seco Total (g.L <sup>-1</sup> ) dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e com Fermento Comercial de Uvas Provenientes de Campo Belo do Sul-SC e São Joaquim-SC.	
Figura 9a: Teor Alcoólico dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Fermento Comercial com Uvas Provenientes de Campo Belo do Sul-SC,	
Figura 9b: Teor Alcoólico dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Fermento Comercial de Uvas Provenientes de São Joaquim-SC.	
Figura 9c: Teores de Açúcares Residuais e Extrato Seco Total dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Fermento Comercial com Uvas de Campo Belo do Sul-SC.	
Figura 9d: Açúcares Residuais e Extrato Seco Total dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Com Fermento Comercial Utilizando Uvas Provenientes de São Joaquim-SC.....	39
Figura 10: Índices de Tonalidade e Intensidade de Cor dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea (FE) e Utilizando Fermento Comercial (FC) de Uvas Provenientes de Campo Belo do Sul-SC e São Joaquim-SC.	
Figura 10a: Comparação dos Índices de Tonalidade e Intensidade de Cor dos Vinhos CBSFE E CBSFC Elaborados com Uvas Provenientes de Campo Belo do Sul-Sc.	
Figura 10b: Comparação dos Índices de Tonalidade e Intensidade de Cor dos Vinhos SJFE E SJFC Elaborados com Uvas Provenientes de São Joaquim-SC.....	41
Figura 11: Teores De Antocianinas (mg <sub>(Malvidina)</sub> . L <sup>-1</sup> ) dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea (FE) E Fermento Comercial. (FC) Figura 11a: Teor de Antocianinas dos Vinhos CBSFE E CBSFC Elaborados com Uvas de Campo Belo do Sul-Sc.	
Figura 11b: Teor de Antocianinas dos Vinhos SJFE e SJFC Elaborados com Uvas de São Joaquim.....	42
Figura 12: Comparação da Atividade Redutora (mg <sub>(Ácido Gálico)</sub> . L <sup>-1</sup> ) dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea (FE) E (FC) Fermento Comercial.	
Figura 10a: Atividade Redutora dos Vinhos CBSFE E CBSFC Elaborados com Uvas de Campo Belo do Sul.	
Figura 10b: Atividade Redutora dos Vinhos SJFE e SJFC Produzido com Uvas de São Joaquim.....	42
Figura 13: Teor de Metoxipirazinas dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Fermento Comercial de Uvas Provenientes de Campo Belo do Sul-SC.....	43
Figura 14: Teor de Metoxipirazinas dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Com Fermento Comercial De Uvas Provenientes De São Joaquim-SC.....	44

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
3.1 A UVA E O VINHO CABERNET SAUVIGNON.....	4
3.2 O TERROIR.....	4
3.3 MICROBIOMA E TERROIR.....	6
3.3.1 A fermentação alcoólica.....	7
3.4 A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS VINHOS.....	9
3.5 AS METOXIPIRAZINAS.....	13
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>16</b>
4.1 ÁREA DE ESTUDO.....	16
4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MOSTO E ACOMPANHAMENTO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	19
4.3 ISOLAMENTO DE LEVEDURAS AUTÓCTONES DO MOSTO.....	20
4.4 QUANTIFICAÇÃO DE AÇÚCARES RESIDUAIS DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	20
4.5 PRODUÇÃO DE ÁLCOOL DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	21
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
4.7 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS VINHOS.....	22
4.7.1 Determinação de Acidez e pH.....	22
4.7.2 Açúcares Residuais e Álcool em volume.....	22
4.7.3 Extrato Seco Total.....	23
4.7.4 Índice de Intensidade de Cor e Tonalidade dos Vinhos Obtidos.....	23
4.7.5 Capacidade Antioxidante dos vinhos obtidos.....	23
4.7.7 Determinação do teor de antocianinas.....	24
4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE METOXIPIRAZINAS.....	25
4.4.1 Extração das amostras por HS/SPME.....	25
4.4.2 Condições Cromatográficas.....	25
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
5.1 COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E UTILIZANDO FERMENTO COMERCIAL DOS MOSTOS PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL-SC E SÃO JOAQUIM-SC.....	27
5.2 CONTAGEM DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	28
5.3. CONSUMO DE AÇÚCARES REDUTORES DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	30
5.4 PRODUÇÃO DE ÁLCOOL DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	31
5.5 ISOLAMENTO DE COLÔNIAS DURANTE O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E FERMENTAÇÃO UTILIZANDO FERMENTO COMERCIAL.....	32
5.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MOSTO DE CABERNET SAUVIGNON PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM.....	36

5.7 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO VINHOS CABERNET SAUVIGNON ELABORADOS POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E COM FERMENTO COMERCIAL.....	36
5.7.1 Comparação da Acidez Total Titulável, Acidez Volátil e pH dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e por Fermento Comercial.....	36
5.7.2 Comparação do Teor Alcoólico, Açúcares Residuais e Extrato Seco Total dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Fermento Comercial.....	39
5.7.3 Comparação da Tonalidade e Índice de Cor dos vinhos elaborados por Fermentação espontânea e Fermento Comercial.....	40
5.7.4 Teor de antocianinas e atividade redutora de vinhos elaborados por fermentação espontânea em comparação a vinhos elaborados com fermento comercial.....	41
5.5 METOXIPIRAZINAS NOS VINHOS ELABORADOS POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E COM FERMENTO COMERCIAL COM UVAS DE CAMPO BELO DO SUL -SC E SÃO JOAQUIM-SC.....	43
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
6.1 CARACTERÍSTICAS COMPARATIVAS DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E UTILIZANDO FERMENTO COMERCIAL DOS MOSTOS PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM.....	45
6.2 COMPARAÇÃO DA CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E FERMENTAÇÃO COM FERMENTO COMERCIAL.....	45
6.3 DIVERSIDADE DE LEVEDURAS ISOLADAS DO MOSTO DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DE UVAS PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM.....	46
6.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS MOSTOS E VINHOS CABERNET SAUVIGNON PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM.....	47
6.5 TEORES DE METOXIPIRAZINAS NOS VINHOS ELABORADOS POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E COM FERMENTO COMERCIAL COM UVAS DE CAMPO BELO DO SUL -SC E SÃO JOAQUIM-SC.....	49
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>

## 1. INTRODUÇÃO

No Estado de Santa Catarina a produção vitivinícola iniciou a partir da colonização italiana no século XIX, sendo cultivadas principalmente a *Vitis labrusca* e híbridos e somente a partir da década de 1970 iniciou a produção de variedades oriundas de *Vitis vinifera*.

A produção de uvas no Brasil no ano de 2020 foi de 1.416.398 t, e o Estado de Santa Catarina produziu 60.388 t representando 4,26% da produção de uvas do país. Das 60.388 t produzidas, 18.892 t correspondem a uva *Vitis vinifera* (IBGE, 2021).

A produção de vinhos em Santa Catarina pode ser dividida em três regiões: i) a região tradicional, que compreende o vale do Rio do Peixe, no Meio Oeste, e a região Carbonífera, no Sul do estado, onde são elaborados vinhos comuns ou coloniais e uma produção pouco expressiva de vinhos finos; ii) a região nova, que compreende as cidades de Rodeio, Nova Trento e o Leste do estado onde são elaborados vinhos comuns e coloniais e; iii) a região super nova ou região de Altitude no Planalto Catarinense que apresenta como sua principal característica a produção de vinhos finos (BRDES, 2005)

A região do Planalto Catarinense apresenta características edafo-climáticas adequadas para o cultivo de *Vitis vinifera* (BRIGHENTI *et al.*, 2016). A elevada amplitude térmica, com cultivo entre 900 e 1400 metros acima do nível do mar, os solos cambissolos álicos de origem basáltica, nitossolos brunos e latossolos bruno, com horizontes húmicos e textura argilo-arenosa, possuem elevado teor de matéria orgânica, e pH ácidos contribuem para a produção de vinhos com qualidade reconhecida e aspectos de tipicidade única (ROSIER, 2018). No âmbito dessa região, no biênio 2019/2020 foram elaborados 20.483.729 L de vinho e o município de São Joaquim produziu 53.975 L. O município de Campo Belo do Sul produziu 24.970 L, representando 0,4% da produção de vinhos do estado de Santa Catarina (EPAGRI, 2021).

Este *terroir* de altitude produz vinhos com características diferenciadas das demais regiões, uma vez que a maior luminosidade, associada à elevada amplitude térmica proporciona, entre outros, um incremento no conteúdo de polifenóis e antocianinas, produzindo vinhos com características cromáticas intensas e aromas diferenciados (ROSIER, 2018; WELTER *et al.*, 2017).

Um dos desafios atuais da vitivinicultura no Planalto Catarinense é a consolidação da indicação geográfica (IG) dos Vinhos de Altitude de Santa Catarina (BRASIL, 2021). A

aprovação pelo INPI da indicação de procedência (IP) para vinhos elaborados com uvas cultivadas em região com elevada altitude é um indicativo de que o Planalto Catarinense concentra produtores de uva e vinho e que esses produtos apresentam reconhecida qualidade. No entanto, ainda faltam estudos que explorem as características deste *terroir* que possam enaltecer a peculiaridade dos produtos. Vinhedos da variedade Cabernet Sauvignon representam a maior área plantada nas regiões de altitude de Santa Catarina com cerca de 37% da área total cultivada no ano de 2009 (VIANA *et al.*, 2016).

Ao elaborar vinhos que conservem características relacionadas ao *terroir* é importante considerar que o processo fermentativo leve em conta a combinação dos componentes químicos já presentes na uva e os metabólitos secundários elaborados pelas leveduras na fermentação, que, em conjunto, resultam em um produto com uma complexa composição química (RIBERÉAU-GAYON *et al.*, 2006; COMITINI *et al.*, 2017).

O uso de leveduras comerciais pode empobrecer as características do vinho por inibir a atividade de diferentes grupos de microrganismos presentes na uva (FRANCESCA *et al.* 2016) resultando em um vinho com características previsíveis e homogêneas independente das características do *terroir* (COMITINI *et al.* 2017). Adicionalmente, as características sensoriais de vinhos provenientes do microbioma do *terroir* podem ser suprimidas devido ao uso de culturas iniciadoras comerciais, tais como a *Saccharomyces cerevisiae* (LLEIXA *et al.*, 2016).

O intuito de retornar as origens da elaboração de vinho busca resgatar os componentes sensoriais elaborados no processo fermentativo pela diversidade microbiana associada a uva e seu *terroir* (VONTROBOVÁ *et al.* 2019). Assim, o uso de leveduras autóctones por meio da fermentação espontânea traz novas perspectivas para elaboração de vinhos com alta complexidade e características únicas (PIKERIN *et al.*, 2008).

Neste contexto, o presente trabalho pretende avaliar o processo de fermentação e a qualidade do vinho elaborado com leveduras autóctones isoladas de vinhedos da região do Planalto Catarinense.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a dinâmica populacional e a qualidade do vinho obtido por fermentação espontânea de uvas Cabernet Sauvignon, comparativamente ao uso de levedura comercial.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir vinho por microvinificação utilizando fermentação espontânea e tradicional.
- Aferir o consumo de açúcar e diminuição da densidade durante o processo fermentativo.
- Comparar as características físico-químicas dos vinhos elaborados.
- Determinar o teor de metoxipirazinas nos vinhos elaborados.
- Isolar leveduras autóctones dos vinhos elaborados por fermentação espontânea.
- Determinar o número de UFC.mL<sup>-1</sup> (unidade formadora de colônia por mL) durante o processo de fermentação.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A UVA E O VINHO CABERNET SAUVIGNON

Os primeiros registros da variedade Cabernet Sauvignon surgiram na França no século XVII. Essa variedade originou-se de cruzamento espontâneo entre a variedade Cabernet Franc e Sauvignon Blanc, hipótese sustentada por estudos com marcadores microssatélites realizados por Bowers e Meredith (1997).

Cabernet Sauvignon é uma das variedades mais difundidas no mundo e no Brasil ela foi introduzida na década de 1920. Na região sul seu cultivo recebeu um impulso a partir do início na década de 1980 (RIZZON; MIELLE, 2002).

O cacho de Cabernet Sauvignon é de tamanho médio com bagas pequenas. Apresenta brotação e maturação tardia, sua produtividade é média, produz uvas com teores de açúcar e acidez tituláveis com potencial para produção de vinhos de qualidade e de guarda com potencial para envelhecimento e amadurecimento (RIZZON; MIELLE, 2002).

O vinho Cabernet Sauvignon é emblemático e marcante, apresenta coloração rubi intensa com aspecto brilhante, podendo variar do acastanhado ao violáceo, em seu aroma podem ser perceptíveis notas de frutas vermelhas com destaque para amora, ameixa preta, framboesas e groselha e notas de cassis. Apresenta sabor herbáceo de pimentão e seu sabor característico e de acidez elevada e taninos intensos proporciona uma sensação de adstringência ao degustar.

#### 3.2 O TERROIR

Terroir pode ser definido como um ecossistema onde o ambiente físico, os fatores bióticos e as práticas vitícolas aplicadas em um determinado lugar, com geografia, topografia e características do solo específicas, em conjunto com a cultivar e o porta enxerto utilizados contribuem para a produção de vinhos com características únicas (SEGUIN, 1986. OIV, 2008).

Do *terroir* provem os principais precursores químicos que caracterizam os vinhos e uvas de determinadas regiões e as condições climáticas adequadas para o desenvolvimento dos vinhedos (SEGUIN, 1986). Os fatores climáticos apresentam efeitos diretos sobre os

atributos de sabor, aroma e cor dos vinhos, climas frios produzem uvas com teores adequados de açúcar, acidez e taninos, além de proporcionarem um bom desenvolvimento de pigmentos e precursores aromáticos.

As terras altas do Planalto Catarinense apresentam potencial para o cultivo de *Vitis vinifera* devido às características associadas ao *terroir* (MARCON FILHO *et al.* 2019). Na década de 1990 do século passado foram iniciados os estudos para a implantação de vinhedos com variedades de uvas viníferas em Santa Catarina, e nas regiões de altitude a variedade Cabernet Sauvignon apresentou um desenvolvimento promissor tendo os primeiros vinhedos implementados a partir do ano 2000 (ROSIER, 2018).

O *terroir* de vinhos de altitude do Planalto Catarinense estende-se por altitudes compreendidas entre 900-1400 m e latitude de 28°S (BRIGHENTI *et al.*, 2016). Essas características permitem que a região apresente índices elevados de radiação solar e amplitude térmica (PANDOLFO *et al.*, 2018) contribuindo para a ampliação do ciclo vegetativo da variedade, e assim aumentando o tempo de maturação dos frutos o que gera uma melhor maturação fenólica (MARCON FILHO *et al.* 2019).

O deslocamento do ciclo vegetativo da videira nos climas subtropicais com altitudes elevadas influencia os períodos de brotação e floração atrasando a maturação num período compreendido entre 30 e 48 dias em relação a regiões de menor altitude (BRIGHENTI *et al.*, 2016, ROSIER, 2018).

Nessas regiões, a mineralização da matéria orgânica é reduzida devido às temperaturas baixas que propiciam o desenvolvimento de entrenós curtos, maior número de folhas e películas das bagas mais espessas. A baixa precipitação no período de maturação, contribui também para a diminuição do crescimento vegetativo, aumentando o acúmulo de energia nos frutos (ROSIER, 2018). Por sua vez, os altos índices de radiação solar ocorrentes nessa região contribuem para um maior acúmulo de açúcares produzindo vinhos de teor alcoólico elevado.

A planta responde à radiação ultravioleta por meio do seu sistema imunológico produzindo frutos com teores elevados de polifenóis e antocianinas (WELTER *et al.* 2017). Essas características contribuem para que o vinho produzido nessa região apresente qualidade de cor e aroma que os diferenciam dos vinhos elaborados em outras regiões (BRIGHENTI *et al.*, 2016).

Borghezan, Malinovski e Silva (2020) observaram que videiras cultivadas em regiões de altitudes têm favorecidas a diferenciação do ciclo fenológico que é mais tardio e o desenvolvimento da maturação em conjunto com a paralisação do ciclo vegetativo que proporciona teores de açúcar, acidez, coloração intensa e concentrações de compostos

fenólicos mais elevados em particular as antocianinas. As características particulares destas áreas possibilitam identificar um *terroir* onde a videira apresenta boa adaptação e que resulta na produção de uvas e vinhos finos de elevada qualidade.

### 3.3 MICROBIOMA E *TERROIR*

O microbioma do *terroir* pode ser definido como o estudo da biodiversidade microbiana em um determinado tempo e espaço, seu padrão de dispersão e as relações entre as condições ambientais, os fenômenos macroscópicos e a comunidade microbiana (VAN LEEUWEN, SEGUIN 2006, BOKULICH *et al.*, 2014).

O vinho reverbera as características do *terroir* e o uso da diversidade microbiana associada reproduz essa identidade com a produção de diversos compostos relacionados ao seu metabolismo (JARA *et al.*, 2016; PADILLA *et al.*, 2016).

O microbioma associado às uvas é diverso e agrupa microrganismos procarióticos, tendo como principais representantes as bactérias ácido lácticas e acéticas (BOKULICH *et al.*, 2014) e microrganismos eucarióticos representados por leveduras convencionalmente divididas em dois grandes grupos: *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* (ROMANO *et al.* 2003, COMITINI *et al.* 2017). Nos últimos anos a compreensão sobre a ecologia, bioquímica, fisiologia, genética e os impactos elaborados por leveduras no processo de fabricação de vinho tem evoluído significativamente (CAPOZZI *et al.* 2015, COMITINI *et al.* 2017, VONTROBOVÁ *et al.* 2019).

No processo fermentativo ocorrem os principais impactos promovidos pelas leveduras, associados à qualidade do vinho e o desenvolvimento de novas formas de conduzir o processo (WHITENER *et al.*, 2015). Os metabólitos primários obtidos por meio do metabolismo de açúcares presentes no mosto por leveduras são o etanol e o dióxido de carbono e apresentam grande importância do ponto de vista tecnológico (ENGLEZOS *et al.* 2015).

Outro fator a ser considerado é a presença de compostos voláteis, ácidos graxos de cadeia curta e aminoácidos. Esses compostos podem atuar de maneira a contribuir para a qualidade sensorial do produto, bem como serem responsáveis pelo aparecimento de *off-flavors* nos vinhos (FLEET, 2008). A contribuição de leveduras autóctones para a elaboração do vinho vem sendo elucidada, e uma das principais características dessas leveduras é contribuir para a complexidade dos compostos de aroma (FLEET, 2008, WHITENER *et al.*, 2015).

O gênero *Saccharomyces* é o mais empregado para a fermentação alcoólica. No entanto, o mosto de uva apresenta na sua microbiota vários gêneros, tais como: *Hanseniaspora* (*Kloeckera*), *Pichia*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Torulaspora*, *Dekkera*, *Kluyveromyces* e *Schizosaccharomyces*, (DEL CARMEN PORTILLO *et al.* 2016, COMITINI *et al.* 2017). Essa microbiota contribui de maneira positiva para o desenvolvimento do vinho agregando complexidade e qualidade (MEDINA *et al.* 2012) e ocasionalmente podem contribuir para formação de *off-flavors* durante o processo fermentativo (COMITINI *et al.* 2017).

As leveduras presentes nas películas das cascas das bagas são transportadas para o meio pelo processo de maturação, essas leveduras são comumente identificadas como leveduras apiculadas, uma das principais características dessas leveduras é a competição com a *S. cerevisiae* e a produção de ésteres (Ciani; Comitini 2018).

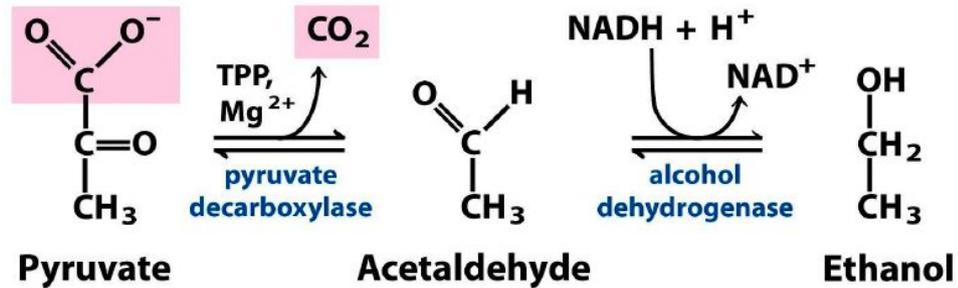
Moreira *et al.* (2011) propôs a utilização de fermentação mista utilizando leveduras do gênero *Hanseniaspora* que contribuem para a melhoria sensorial dos vinhos, uma vez que levedura desse gênero contribuem para o aumento da concentração de ésteres como o 1-propanol, acetato de 2-feniletila e ácido 3-(metiltio)propiónico e quantidades inferiores de hexanoato de etila, ácido pentanóico, ácidos graxos livres, 2-metiltetra-hidrotiofen-3-ona e ácido acético-3-(metiltio)propil éster, melhorando o caráter floral e frutado dos vinhos.

As dinâmicas populacionais envolvendo a sucessão microbiana durante a elaboração do vinho vêm sendo elucidadas. Apesar da concentração inicial de células de espécies de leveduras não- *Saccharomyces* ser considerada baixa ( $10^{-6}$  a  $10^{-8}$  UFC.mL<sup>-1</sup>) (ENGLEZOS *et al.* 2015), estas apresentam dominância na fase inicial da fermentação (CLAVIJO *et al.*, 2010). Após o terceiro dia do início da fermentação ocorre a dominância de *Saccharomyces cerevisiae* devido ao aumento da graduação alcoólica do mosto e da produção de CO<sub>2</sub>, sendo responsáveis pelo incremento da graduação alcoólica até o final do processo fermentativo (CLAVIJO *et al.*, 2010).

As interações metabólicas entre leveduras *Saccharomyces* e não- *Saccharomyces* contribuem para que compostos químicos presentes no vinho apresentem as características relativas ao *terroir* (COMITINI *et al.* 2017).

### 3.3.1 A fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é um processo de obtenção de energia que ocorre em duas fases. Na fase inicial o ácido pirúvico é descarboxilado por intermédio da catálise da enzima piruvato descarboxilase a acetaldeído. Na segunda fase da reação o acetaldeído é reduzido por meio da catálise da enzima álcool desidrogenase a etanol na presença de NADH, conforme esquema representado na Figura 1 (NELSON, COX, 2015).



Fonte: NELSON, COX (2015)

Figura 1: Esquema das reações químicas que ocorrem durante a fermentação

Em 1855 Louis Pasteur estudava defeitos na produção de álcool em uma cervejaria tentando responder qual a natureza do processo de fermentação. Com o uso do polarímetro, observou que o mosto era opticamente ativo identificando a presença do álcool isoamílico, o qual não é derivado da degradação do álcool, sendo uma substância estranha ao processo. Assim, Pasteur concluiu que ocorreu uma contaminação por bactérias, o que foi confirmado por sua observação em microscópio com a presença de estruturas finas e alongadas (*Acetobacter*) além da habitual presença de glóbulos esféricos (*Saccharomyces*) (MOREIRA, 2015).

Dessa forma Pasteur concluiu que a fermentação alcoólica é realizada por organismos vivos que vivem em condições anaeróbias, comprovando que a vida pode desenvolver-se sem oxigênio e que alguns organismos produzem energia a partir da fermentação (ROSENDO, 2016).

A fermentação de uvas para obtenção do vinho teve início na era pré-histórica e desde então o processo vem evoluindo (MCGOVERN, 2003). Atualmente, um dos principais desafios na fermentação alcoólica é compreender como o microbioma associado ao *terroir*, a cultivar, ao ambiente de armazenamento e fabricação interferem na qualidade do vinho (DEL CARMEN PORTILLO, MAS 2016).

A expressão dos compostos secundários elaborados por leveduras de diferentes espécies é responsável pela expressão das peculiaridades de um *terroir*. A fermentação

espontânea, o isolamento de microrganismos de uvas e a dinâmica ecológica das leveduras no vinho são desafios para produção de vinhos que reverberem as características do *terroir* (CLAVIJO *et al.*, 2010. ENGLEZOS *et al.* 2015).

No processo fermentativo do vinho são utilizadas leveduras selecionadas ou leveduras autóctones (fermentação espontânea). As leveduras são responsáveis pela biossíntese do etanol e pela biossíntese de compostos aromáticos (MUSARURWA *et al.*, 2016). O metabolismo primário utiliza a glicose como fonte para obtenção de energia a partir da fermentação alcoólica é obtido o etanol, o dióxido de carbono, glicerol e ácido acético (MUSARURWA *et al.* 2016).

Os fatores que afetam a biossíntese do etanol são a quantidade de açúcares no mosto, as condições do processo fermentativo (pH, temperatura e disponibilidade de nutrientes) e a levedura empregada na fermentação (VILANOVA *et al.* 2007; MIRÁS-AVALOS *et al.* 2020)

Algumas leveduras assimilam o nitrogênio durante o processo fermentativo e esse fator é considerado crucial para as características químicas componentes do aroma do vinho (MIRÁS-AVALOS *et al.* 2020).

Práticas enológicas, tais como a suplementação de mostos com Sulfato de Amônio  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$  são sugeridas para incorporação de nitrogênio. O nitrogênio de origem mineral é utilizado preferencialmente pelas leveduras (MIRÁS-AVALOS *et al.* 2020). No processo fermentativo o desenvolvimento das leveduras promove a hidrólise das proteínas liberando aminoácidos para o mosto. Ao término da fermentação alcoólica alguns aminoácidos também são liberados por meio da autólise das leveduras, representando 40% do nitrogênio total do mosto (VILANOVA *et al.* 2007, BELDA *et al.* 2017; MIRÁS-AVALOS *et al.* 2020).

A fermentação espontânea consiste na elaboração de vinhos sem a adição de leveduras selecionadas. O processo fermentativo é realizado por bactérias e leveduras presentes na película da uva (SORRENTINO *et al.* 2012, CIANI, COMITINI 2019). As influências da fermentação espontânea sobre os componentes de aroma primários e secundários do vinho, a progressão da complexidade do vinho, o controle da microbiota contaminante (COMITINI *et al.* 2017) e a redução do teor de etanol no vinho (QUIRÓS *et al.* 2015) são os principais fatores a serem considerados em pesquisas para desenvolvimento e emprego industrial da fermentação espontânea.

### 3.4 A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS VINHOS

A composição química dos vinhos está relacionada a três fatores principais: as características do *terroir*, a composição química de uvas e mostos e do processo fermentativo.

Os ácidos presentes no vinho podem ser de origem orgânica e naturalmente presentes nas uvas como os ácidos tartárico e málico e podem ocorrer a formação de ácidos durante o processo fermentativo como os ácidos acético, cítrico, láctico, succínico. O ácido tartárico é o principal responsável pela acidez total de vinhos e influencia o pH do vinho em vinhos jovens confere uma acidez dura e áspera e à medida que o vinho evolui o ácido tartárico precipita na forma de tartarato de potássio e de cálcio diminuindo a sensação áspera da acidez. A concentração de ácido tartárico em vinho está compreendida entre 2 e 5g/L.

O ácido málico é abundante no reino vegetal e faz parte dos ácidos que compõe as uvas, sendo rapidamente metabolizado nas células vegetais. Do ponto de vista enológico a sua concentração nas uvas reflete a sua maturação e quanto mais maduras as uvas menores será a concentração desse ácido no vinho. No decorrer do processo fermentativo os teores de ácido málico diminuem, na fermentação alcoólica as leveduras metabolizam o ácido málico na biossíntese do etanol, o ácido málico residual da fermentação alcoólica sofre o processo de descarboxilação formando o ácido láctico na etapa de fermentação malolática reduzindo significativamente a presença do ácido málico no vinho, altos teores de ácido málico conferem um sabor azedo ao vinho, já em concentrações de até  $5\text{g.L}^{-1}$  no vinho tinto esse ácido confere um sabor frutado ao vinho (MARTINEZ-GIL et al. 2012).

Presente em concentrações baixas (0,1 a 0,8g/L) o ácido cítrico pode ser proveniente da uva, ou como metabolito secundário da fermentação alcoólica de carboidratos, é consumido durante a fermentação malolática formando compostos que aumentam a acidez volátil. O ácido succínico é formada durante a fermentação alcoólica resultante do metabolismo de carboidratos e aminoácidos, sua presença em bebidas fermentadas como o vinho é responsável pelo sabor salgado e com nuances amargas, pode ser encontrado em concentrações entre 0,2 e  $1,5\text{g.L}^{-1}$ .

Durante a fermentação malolática o metabolismo das bactérias do ácido láctico promove a descarboxilação do ácido málico (figura 2) sendo o ácido láctico o produto resultante, esse é um ácido produzido pelo processo fermentativo do vinho e não está presente nas uvas que o originaram, o qual confere uma acidez suave e agradável ao paladar, a formação do ácido láctico inicia ao final da fermentação alcoólica, onde os teores de carboidratos no mosto fermentado estão em quantidades de de 0,2 e  $0,4\text{g.L}^{-1}$ , após a fermentação malolática as concentrações de ácido láctico atingem níveis de 1 e  $2,5\text{g.L}^{-1}$ , a

fermentação malolática pode formar como metabólitos secundários glicerina, ácido tartárico, ésteres e diacetil (POLO et al. 2017).

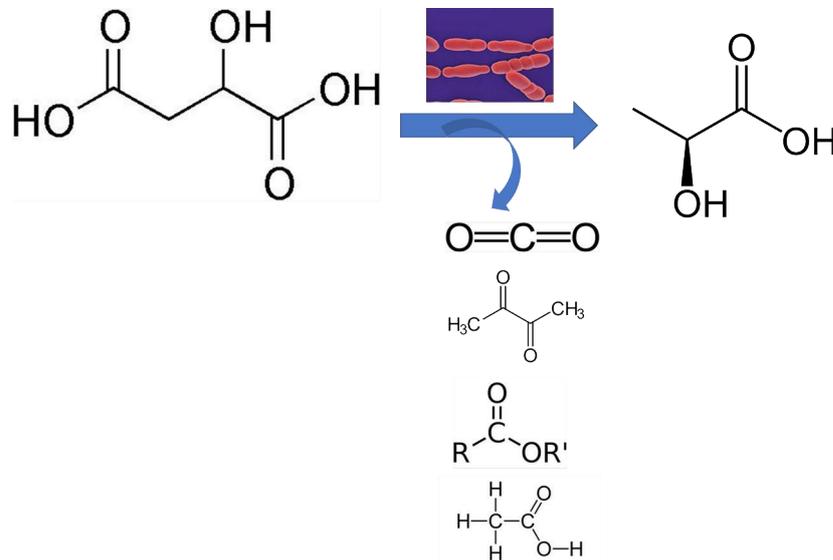


Figura 2: Descarboxilação do ácido D-Málico a ácido L-Lático promovida pela Bactéria do Ácido Lático *Oenococcus oeni*, tendo como metabólitos secundários dióxido de carbono, diacetil, ésteres e ácido acético.  
Fonte: Autor, (2021)

Durante a fermentação malolática podem formar-se alguns ácidos orgânicos como o ácido acético, ácido butírico e ácido fórmico que podem aumentar a acidez volátil do vinho produzido.

Na fermentação alcoólica ocorre a formação de ácido acético e o seu acúmulo no vinho é indesejável. Ele pode ser resultante da espécie de levedura empregada, do teor de carboidratos do mosto e da exposição ao oxigênio, podendo também ser resultado do metabolismo de bactérias acéticas e lácticas, naturalmente presentes no mosto de uvas. O ácido acético produz alterações gustativas no vinho e é percebido pela sensação de aspereza e acidez. A presença do acetato de etila proporciona ao vinho o aroma de vinagres e teores elevados de ácido acético estão associados a contaminações ou falhas do processo de fermentação, estando diretamente associado ao teor de acidez volátil nos vinhos (LONGUIN et al. 2016)

A disponibilidade de íons  $H^+$  é medida pelo pH, no vinho o pH é uma medida relevante uma vez que condiciona o grau de ionização de diversos compostos químicos bem como a taxa de reações químicas, propriedades físicas e a estabilidade microbiológica. Condiciona a estabilidade das características cromáticas do vinho, as reações oxidativas e de escurecimento e suas características sensoriais, afeta o equilíbrio dos sais de tartarato e a eficácia do dióxido

de enxofre, e exerce influência sobre a solubilidade de proteínas e a eficácia da clarificação dos vinhos (BOULTON et al., 1996).

Em vinhos tintos o pH ideal é de 3,4, ocorre uma tendência de aumento do pH durante a fermentação, uma vez que os íons de potássio são lixiviados das películas das bagas para o mosto, o equilíbrio do pH está intimamente relacionado a concentração inicial de ácidos orgânicos e os íons potássio presentes no mosto. Os pHs baixos promovem um efeito protetivo sobre o vinho e durante a fase pré-fermentativa mostos de pH baixo sofrem menor ação de enzimas oxidativas. Por sua vez um pH elevado contribui para uma maior susceptibilidade a alterações oxidativas e biológicas devido a diminuição no teor de SO<sub>2</sub> livre.

Os açúcares presentes no vinho são em sua maioria hexoses e pentoses, podem apresentar em menores concentrações polissacarídeos. Podem ocorrer em mostos em concentrações entre 140 e 240 g.L<sup>-1</sup>.

Podem estar presentes em mostos os açúcares arabinose, xilose e ramnose esses açúcares são oriundos das substâncias pécnicas, mucilagens, já a ribose é proveniente dos ácidos nucleicos e a principal fonte desse açúcar em mostos e vinhos são as leveduras. A glicose é o açúcar mais abundante e o que apresenta maior importância, durante a fermentação alcoólica esse açúcar é transformado em etanol e dióxido de carbono (HARBERTSON et al., 2013).

Compostos fenólicos, fenóis ou polifenóis são um grande grupo de moléculas orgânicos de origem natural, abundantes em vegetais superiores, são formados como metabólitos secundários, e possuem função protetiva frente a parasitas, predadores e injurias, são compostos que apresentam alta reatividade química (GUERRA, 2012; VILLANO et al. 2017).

Podem ser classificados em duas classe principais com base em suas cadeias carbônicas, as moléculas classificadas como flavonoides incluem as antocianinas e os flavonóis, entre as classificadas como não flavonoides estão os ácidos inâmicos e benzóicos e estilbenos (VILLANO al. 2017).

Responsáveis pela coloração, as antocianinas presentes em vinhos e uvas, têm a maldivina como a mais abundante. A cianidina, a delphinidina, a petunidina e a ponidina também são responsáveis pela coloração dos vinhos (GUERRA, 2012).

Os principais polifenóis presentes no vinho são os ácidos fenólicos e os estilbenos. Os ácidos fenólicos são compostos benzóicos de baixo peso molecular, encontrados no vinho em teores de até 100 mg. L<sup>-1</sup> e os estilbenos são moléculas encontradas em sua maioria em vinhos

tintos em teores de até  $30\text{mg.L}^{-1}$ , sendo o resveratrol o estilbeno mais conhecido devido aos benefícios a saúde humana (GUERRA, 2012; VILLANO et al. 2017).

### 3.5 AS METOXIPIRAZINAS

A complexidade aromática de vinhos tintos resulta da interação das práticas vitícolas e enológicas (ARIA-PEREZ et al., 2020), os aromas do vinho são compostos por centenas de compostos voláteis presentes em concentrações muito baixas (DARRIET et al., 2012).

São considerados aromas primários no vinho o álcool e o ácido acético provenientes do processo de fermentação alcoólica, a evolução dos aromas no processo fermentativo está relacionada ao fermento utilizado, visto que os aromas secundários provenientes da fermentação alcoólica são metabolitos secundários provenientes da degradação de carboidratos e aminoácidos.

A variedade e as condições edafoclimáticas do *terroir*, as práticas de manejo vitícolas associadas as práticas de vinicultura contribuem para a complexidade aromática e presença de *off flavors* no vinho (LEY et al, 2018. RAUHUT et al, 2019).

Os aromas herbáceos são comumente associados a vinhos Cabernet Sauvignon, um dos principais compostos associados ao caráter herbáceo são as metoxipirazinas, essas quando em concentrações abaixo do limite de percepção sensorial representam o aroma característico desse vinho (LEY et al, 2018). Quando presentes em concentrações superiores a  $15\text{ ng. L}^{-1}$  afetam o equilíbrio do aroma e podem ser consideradas um *off flavor*.

O teor de metoxipirazinas está associado às condições edafoclimáticas do *Terroir* e a variedade. Em regiões de menor altitude e maior incidência de luz solar o seu conteúdo tende a diminuir (LEY et al., 2018); já em regiões de elevada altitude ocorre uma maior concentração dessa classe de compostos (FALCÃO et al., 2008).

Estratégias diferenciadas do processo fermentativo como a fermentação espontânea podem contribuir para uma maior complexidade aromática em vinhos devido a presença de leveduras autóctones (RAUHUT et al, 2019).

Os compostos majoritários responsáveis pelo aroma do vinho são os monoterpenos, norisoprenoides, alifáticos, álcoois superiores, ésteres, fenilpropanoides, compostos voláteis de enxofre, e as metoxipirazinas (ROBINSON et al, 2014). Esses compostos podem ter seus

precursores na uva e no metabolismo de leveduras obtidos pela degradação de açúcares, aminoácidos e ácidos graxos.

As metoxipirazinas são uma família de compostos identificadas pela primeira vez em pimentões verdes, sendo comumente associadas a esse componente de aroma, em vinhos Cabernet Sauvignon foram detectadas em 1975 por Murray e Whitfield. Compostos voláteis presentes em insetos, plantas, fungos e bactérias, a pirazina apresenta fórmula molecular  $C_4N_2H_4$  e esse composto aromático apresenta duas moléculas de nitrogênio em sua estrutura, substituindo 2 átomos de carbono do anel benzênico nas posições 2 e 4 (Figura 1(A)), sendo a molécula precursora da 3-alkil-2-metoxipirazina (Figura 1 (C)).

Nas demais moléculas de metoxipirazinas o hidrogênio ligado ao carbono 3 pode ser substituído pelos radicais isobutil, isopropil, secbutil e etil e essa substituição também pode ocorrer no carbono 5 da molécula de metoxipirazina (Figura 1(B)).

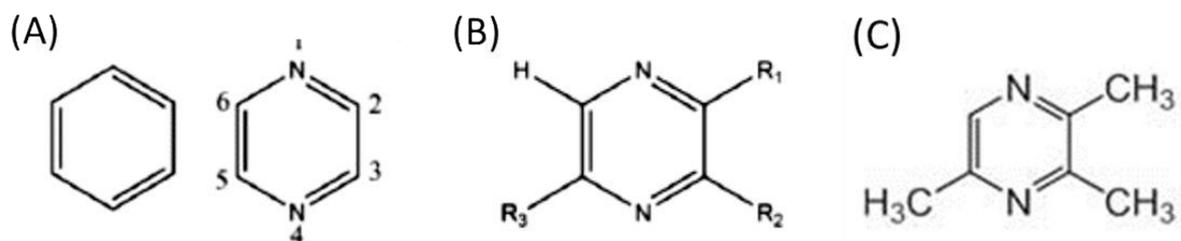


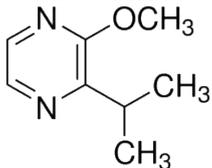
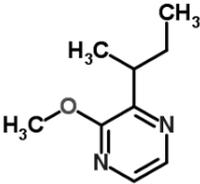
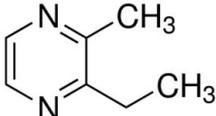
Figura 3: Fórmula Estrutural da molécula de Pirazina: (A) substituição dos C1, C4 do anel benzênico por N na molécula da Pirazina. (B) Posição onde são inseridos os radicais na molécula da Pirazina. (C) Fórmula Estrutural da 2 Metoxipirazina

Fonte: ZAHO, et al. (2019)

Em vinhos tintos as metoxipirazinas mais estudadas são a 3-Isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-Isopropil-2-metoxipirazina (IPMP), 3-sec-butil-2-metoxipirazina (SBMP). O limite de percepção dessas moléculas no vinho é muito baixo (tabela 1). Os vinhos podem apresentar ainda a 3-etil-2-metoxipirazina, mas estudos com a presença dessa molécula ainda são incipientes (ZAHO et al, 2019).

Tabela 1: Estrutura, limites de percepção e descritor aromático das principais Metoxipirazinas presentes em vinhos tintos

Nomenclatura	Fórmula Estrutural	Limite de percepção	Matriz	Descritor Aromático
3-Isobutil-2-metoxipirazina		10-16 ng. L <sup>-1</sup> 0,5-16 ng. L <sup>-1</sup>	Vinho Tinto Água	Pimentas verdes Herbáceo

3-Isopropil-2-metoxipirazina		2 ng. L <sup>-1</sup> 1-2 ng. L <sup>-1</sup>	Vinho Tinto Água	Ervilhas Aspargo Terroso
3-Sec-butil-2-metoxipirazina		1-2 ng. L <sup>-1</sup>	Água	Páprica Pimenta Herbáceo Galbano
3-Etil-2-metoxipirazina		425 ng. L <sup>-1</sup>	Água	Batata Crua Solo úmido Nozes Torrado

Fonte: ZAHO et al. (2019)

Essas moléculas estão associadas a um grande espectro de descritores aromáticos e variam desde a percepção dos aromas herbáceos típicos do vinho Cabernet Sauvignon a *off flavors* como aroma de mofo, pimentão verde, aroma terroso.

A detecção dessas moléculas é realizada utilizando métodos analíticos sensíveis, tais como a CG/MS, já que sua concentração no vinho ocorre em concentrações baixíssimas, mas a percepção humana dessas moléculas é bastante acurada, visto que são aromas marcantes e facilmente assimiláveis pelo cérebro humano.

O vinho é uma matriz complexa composta por álcool, açúcares, compostos fenólicos, antocianinas, taninos e as metoxipirazinas tendem a ligar-se aos componentes do vinho principalmente ao etanol, o qual promove a dissolução da molécula da metoxipirazina na fase aquosa.

O limite de percepção das metoxipirazinas em vinho e em água (tabela 1) ocorrem em diferentes concentrações do composto e esse efeito demonstra que na matriz do vinho concentrações mais altas de metoxipirazinas são necessárias para a detecção olfativa da molécula.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

O município de Campo Belo do Sul encontra-se na faixa de altitude compreendida entre 800 e 900m (27°40'S, 50°44'O) e o município de São Joaquim (28°13'S, 49°59'O) encontra-se a uma altitude compreendida entre 1200 e 1500 m. As uvas produzidas nesses municípios são consideradas uvas de altitude e tem por peculiaridade um ciclo de maturação tardio, agregando ao vinho produzido teores mais elevados de antocianinas e polifenóis.

A médias de temperatura obtidas nos meses de janeiro, fevereiro e março de 2020 em para Campo Belo do Sul, temperatura máxima 35,58 °C, temperatura mínima 9,5°C e temperatura média de 21,61°C e precipitação de 240 mm, em São Joaquim apresentou médias de temperatura máxima de 29,4°C, temperatura mínima de 1,6 °C e temperatura média de 16,54°C e precipitação de 25 mm para o período compreendido de janeiro a março de 2020. Os dados de temperatura (máxima, média e mínima), índice pluviométrico, foram coletados do Balanço Hídrico Municipal (IMET, 2020) das Estações Campos Novos C (estação de Campo Belo do Sul encontrava-se fora de Funcionamento) e São Joaquim A.

### 4.2. MICROVINIFICAÇÕES

As uvas da variedade Cabernet Sauvignon, provenientes dos vinhedos das Vinícolas Abreu Garcia (Campo Belo do Sul, CBS) e Villagio Bassetti (São Joaquim, SJ), foram colhidas pelos funcionários das vinícolas. No mesmo dia foram transportadas até a Área Experimental Agropecuária da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos, onde permaneceram sob refrigeração por um período de 7 dias a 4°C.

O processo de vinificação foi realizado no laboratório de Química da UFSC, Campus de Curitibanos, utilizando 50 kg de uvas de cada vinícola. Os processos foram denominados como “Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea (CBSFE)” e “Campo Belo do Sul Fermento Comercial (CBSFC)”, processadas no dia 01 de abril de 2020, e “São Joaquim Fermentação Espontânea (SJFE)” e “São Joaquim Fermento Comercial (SJFC)”, processadas no dia 07 de abril de 2020.

O processo de microvinificação de fermentação espontânea dos tratamentos CBSFE e SJFE foram conduzidos conforme esquema representado na figura 5a. Para o tratamento

CBSFE, após desengace e prensagem manual, foram obtidos 21 kg de mosto com casca que foi dividido em 2 fermentadores com 10,5 kg cada. Sulfitagem do mosto foi realizada adicionando 5,12 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  (100 mg.  $\text{l}^{-1}$ ) por repetição. Para o tratamento SJFE foi obtido 19,5 kg de mosto com cascas distribuídos em 3 fermentadores contendo 6,5 kg de uva para cada fermentador. À cada fermentador, 3,04 mL da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  (100 mg.  $\text{l}^{-1}$ ) foi adicionado. Para a fermentação, foram utilizados frascos de vidro de 12L os quais foram vedados e a fermentação alcoólica foi conduzida no Laboratório Multiusuário de Análises Instrumentais (LAMAI) da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos, com temperatura controlada a 20°C.

Para avaliação de parâmetros ao longo da fermentação, 7 amostras foram retiradas nos dias 01, 03, 05, 07, 13, 17 e 24 da fermentação alcoólica. Além disso, a densidade do mosto foi monitorada a cada 2 dias até o vinho atingir a densidade média de 0,9995  $\text{g.L}^{-1}$ , utilizando a metodologia de Densidade Relativa a 20°C, descrita por IAL, 2008. Ao final do processo fermentativo os vinhos foram prensados, peneirados e distribuídos em três Erlenmeyers de 2L para a condução da fermentação malolática que ocorreu de maneira espontânea em todos os tratamentos, com temperatura controlada a 20°C.

O desenvolvimento da fermentação malolática foi acompanhado por cromatografia de papel em amostras retiradas no 1º dia da fermentação malolática, no 30º dia e no 116. Ao final do processo de fermentação malolática, os vinhos foram refrigerados (7°C/48h), filtrados utilizando funil de vidro e papel filtro (porosidade= 90mm) e adicionados de 4,165 mL da solução padrão de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  100 mg.  $\text{L}^{-1}$ . Procedeu-se o engarrafamento dos vinhos obtidos resultando em 12 garrafas de 750mL por tratamento.

As vinificações com fermento comercial (*Saccharomyces cerevisiae* “Fermol Premier Cru-AEB Grup”) CBSFC e SJFC foram realizadas conforme diagrama da figura 5b. As uvas foram desengaçadas e prensadas manualmente. Um total de 15 kg do mosto com casca do tratamento CBSFC foi distribuído em 2 fermentadores de vidro resultando em 7,50 kg para cada fermentador. No tratamento SJFE foram obtidos 19,5 kg de mosto e cascas, com distribuição de 6,5 kg para cada um dos 3 fermentadores. Então, foram adicionados 7,03  $\text{mL.L}^{-1}$  da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  100 mg.  $\text{L}^{-1}$  para sulfitagem do mosto para cada repetição do tratamento CBSFC e 6,14 mL da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  por repetição do tratamento SJFE. Os frascos de fermentação foram vedados e a fermentação alcoólica foi conduzida no laboratório Multiusuário de Análises Instrumentais (LAMAI) da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos, com temperatura controlada a 20°C.

O pré-inóculo do fermento foi preparado, pesando 0,1 g de fermento Fermol Premier Cru para cada kg de mosto o qual foi reidratado em água destilada aquecida a 35°C. A temperatura do “starter” foi ajustada para 5°C acima da temperatura do mosto, adicionado ao fermentador e homogeneizado. A fermentação foi conduzida no LAMAI com temperatura controlada de 20°C. Ao longo do processo de fermentação, amostras foram coletadas para acompanhamento da densidade relativa a 20°C. Ao final do processo, os vinhos foram prensados, peneirados e distribuídos em três Erlenmeyers de 2L vedados para a condução da fermentação malolática que aconteceu de maneira espontânea em temperatura controlada a 20°C. O desenvolvimento da fermentação foi acompanhado por cromatografia de papel em amostras retiradas no 1º dia da fermentação malolática, no 30º dia e no 116º. Ao final do processo de fermentação malolática, os vinhos foram refrigerados (7°C/48h), filtrados utilizando funil de vidro e papel filtro (porosidade= 90mm) e engarrafados resultando em 12 garrafas de 750mL por tratamento.

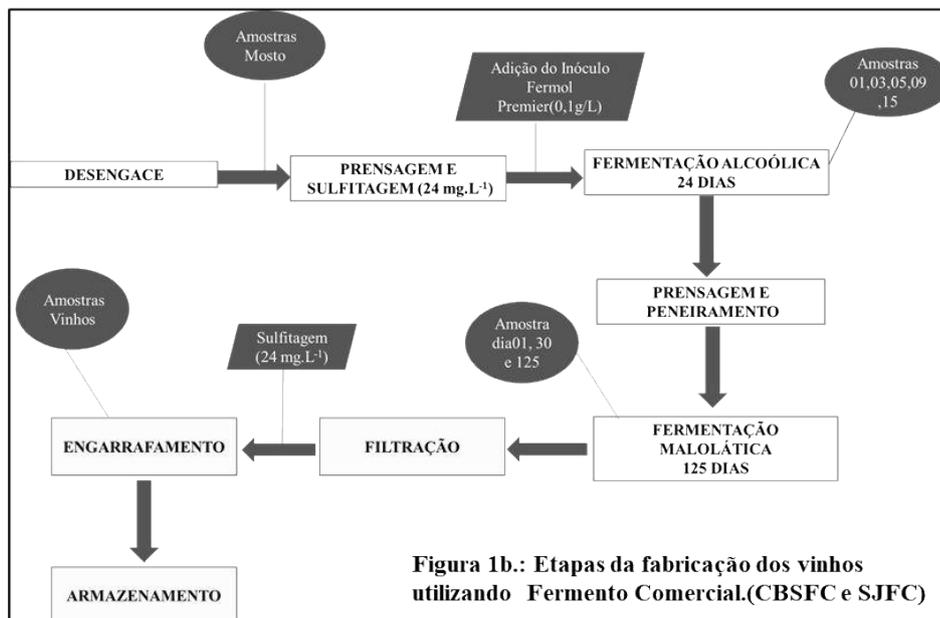
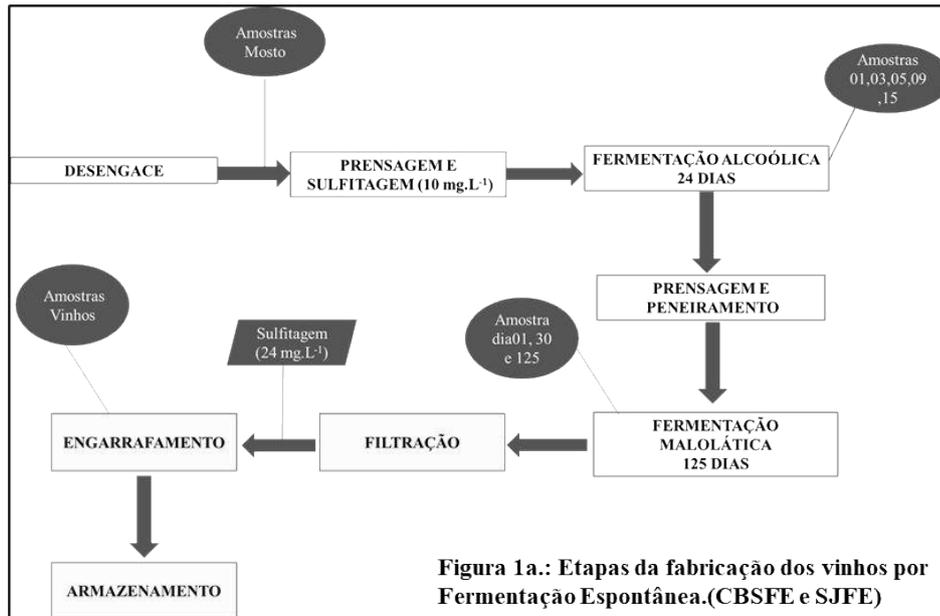


Figura 4: Esquema representativo das microvinificações dos vinhos Cabernet Sauvignon provenientes de Campo Belo do Sul (CBS) e São Joaquim (SJ) elaborados por fermentação espontânea (FE) e utilizando levedura comercial (FC). Figura 4a: Esquema das Etapas da Fabricação de vinhos utilizando Fermentação Espontânea (FE). Figura 4b: Etapas da fabricação dos vinhos utilizando Fermento Comercial (FC)  
Fonte: Autora, 2021.

#### 4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MOSTO E ACOMPANHAMENTO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O mosto proveniente das uvas Cabernet Sauvignon de Campo Belo do Sul (CBSFE e CBSFC) e São Joaquim (SJFE e SJFC) foi avaliado quanto ao teor de sólidos solúveis (ST),

acidez titulável (AT) pH e densidade relativa a 20°C conforme metodologias descritas no Manual de Métodos de Análise de Alimentos e Bebidas do Instituto Adolfo Lutz (IAL,2008).

O desenvolvimento do processo fermentativo foi acompanhado a cada dois dias por meio do decréscimo da densidade do mosto, utilizando a metodologia de determinação da densidade a 20°C. Retirou-se do fermentador 10 mL de mosto com o auxílio de uma pipeta volumétrica; o mosto foi vertido em copo de becker de 10 mL, retirado o CO<sub>2</sub> por agitação com bastão de vidro, filtrado e pesado em picnômetro de 5 mL, em balança analítica (IAL,2008).

Foram retiradas amostra nos dias 03, 07, 13, 15, 20 e 24 da fermentação, as quais foram congeladas para avaliação de açúcares redutores pelo método de Eynon-Lane (BRASIL,1986).

Os resultados do decréscimo da densidade e do consumo de açúcares para cada tratamento foram avaliados por análise de variância e teste Tukey no programa R.

#### 4.3 ISOLAMENTO DE LEVEDURAS AUTÓCTONES DO MOSTO

Foram coletadas um total de 4 amostras durante o processo de fermentação alcoólica nos dias 13/04/2020, 17/04/2020, 20/04/2020 e 24/04/2020. Para o isolamento de leveduras foi utilizada metodologia proposta por Gaensly (2016) a qual foi modificado o meio para as diluições seriadas utilizando solução salina 0,85% em alternativa ao uso de caldo peptona foi coletada uma alíquota de 1 mL de cada uma das repetições para as diluições seriadas em solução salina 0,85% de 1:10<sup>-1</sup> a 1:10<sup>-8</sup> seguida de plaqueamento por profundidade em meio ágar YPD com pH ajustado para 6,0, seguido de incubação a 25°C/24h.

A contagem foi realizada em contador de colônia, as colônias típicas foram purificadas em meio de cultura ágar YPD. E armazenadas sob refrigeração.

#### 4.4 QUANTIFICAÇÃO DE AÇÚCARES RESIDUAIS DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Para a determinação do consumo de açúcares redutores foi utilizado o método de Eynon-Lane (BRASIL, 1986). A solução de referência de glicose a 0,5% foi diluída 10 vezes

seguida da adição de 1 mL de HCl concentrado a solução foi mantida em banho maria a 70°C durante 15 min.

Para a titulação foram preparados os reativos de Fehling A e B os quais foram utilizados na proporção 1:1 num volume final de 20 mL. Após a adição de 1 gota de azul de metileno a 1%, a mistura foi aquecida até fervura, e então titulada com a amostra ou solução de referência até a mudança de coloração do meio de azul para vermelho, com formação de precipitado vermelho.

O resultado foi obtido pela aplicação da seguinte fórmula

$$\text{Glicídios redutores em g.100 mL}^{-1} = \frac{(\text{FC}/2) \times 250 \times 100}{V \times P}$$

Onde:

FC = título da solução de Fehling

V = volume da amostra gasto na titulação, em mL

P = peso da amostra em g

#### 4.5 PRODUÇÃO DE ÁLCOOL DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A produção de álcool durante a fermentação alcoólica foi avaliada utilizando a metodologia para a determinação da porcentagem de álcool em volume a 20°C, utilizando aparelho de destilação: balão de destilação de fundo redondo de 125 mL, cabeça de destilação tipo Claisen, condensador Liebig, adaptador para vácuo e balão de fundo redondo de 50 mL.

As amostras avolumadas em balão de 50 mL e transferidas para o balão de destilação, sendo obtidos 16,6 mL de destilado, medido utilizando uma proveta de 25 mL.

O destilado foi colocado novamente no balão volumétrico e o volume foi completado para 50 mL com água destilada. A determinação da densidade da amostra foi realizada utilizando picnômetro com volume calibrado, balança analítica e termômetro. A % v/v foi determinada utilizando a tabela de porcentagem de álcool em volume a 20°C (RIZZON, 2010) Os resultados foram expressos em %<sub>(de álcool)</sub>. L<sup>-1</sup>.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados da contagem de colônias, do consumo de açúcares e da produção de álcool durante o processo fermentativo serão avaliados utilizando ANOVA e teste de Tukey

no programa R. A similaridade entre as colônias isoladas foi determinada pelo índice de Jaccart no programa R .

#### 4.7 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS VINHOS

##### 4.7.1 Determinação de Acidez e pH

A avaliação de acidez titulável foi realizada utilizando o método descrito por IAL (2008). Para a realização da análise, 10 mL de amostra foi titulada com solução padrão de NaOH (0,0997 mol. L<sup>-1</sup>). O ponto de viragem foi determinado utilizando pHmetro, quando a solução atingiu valor de pH 8,3.

Para a avaliação de Acidez volátil foi utilizado o método descrito por IAL (2008) com algumas modificações. Para a destilação foi utilizado o destilador REDUTEC onde um volume de 10 mL do vinho foi injetado na ampola do destilador e destilado por arraste de vapor até obter 100 mL de solução em seguida ocorre a titulação com solução padrão de NaOH (0,0997 mol.L<sup>-1</sup>), o ponto de viragem foi determinado utilizando indicador fenolftaleína a 1%, observando a mudança da coloração do titulado de incolor para rosa.

Os resultados da Acidez total e da Acidez Volátil foram expressos em meq. L<sup>-1</sup>. Utilizando as seguintes equações:

$$ATT \text{ e } AV \text{ (meq.L}^{-1}\text{)} = \frac{n \times M \times f \times 1000}{10 \times V}$$

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL.

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio.

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio.

V = volume tomado da amostra, em mL.

O pH foi determinado em pHmetro Simpla para amostras líquidas, foram utilizados 10 mL de amostra diluídos em 90mL de água destilada e realizada as leituras.

##### 4.7.2 Açúcares Residuais e Álcool em volume

Para a determinação de açúcares residuais foi utilizado o método de Eynon-Lane (BRASIL, 1986). O álcool foi determinado utilizando a metodologia para a determinação da porcentagem de álcool em volume a 20°C (IAL,2008).

#### **4.7.3 Extrato Seco Total**

Foram pipetados 25 mL de amostra e vertidos em cápsula de porcelana calcinada com o peso determinado em balança analítica. O processo repetiu-se para todas as amostras e após pesadas, as amostras foram levadas a banho-maria a temperatura de 100°C por 30 min para evaporação do etanol e logo após foram transferidas para estufa a temperatura de 100°C por 1h, deixadas em dessecador até atingir temperatura ambiente para pesagem em balança analítica, o resultado foi expresso em g.L<sup>-1</sup>.

#### **4.7.4 Índice de Intensidade de Cor e Tonalidade dos Vinhos Obtidos**

Para o índice de intensidade de cor e tonalidade realizou-se a diluição das amostras de vinho, utilizando-se balão volumétrico de 50mL e pipeta volumétrica de 5 mL, sendo adicionados ao balão 5 mL de vinho e o volume foi completado com água destilada.

Os índices de Intensidade de Cor e Tonalidade seguiram metodologia descrita por Glories (1984), onde a intensidade de cor é dada pela somatória das absorbâncias nos comprimentos de onda 420nm, 520nm e 620nm. Já, a tonalidade é a razão da absorbância de 420nm pela absorbância de 520nm. A metodologia utilizada teve como modificação a utilização da diluição da amostra e assim o resultado do cálculo foi multiplicado pelo valor do fator de diluição.

#### **4.7.5 Capacidade Redutora (Polifenóis totais) dos vinhos obtidos**

Para a determinação da capacidade redutora dos vinhos foram diluídos utilizando balão volumétrico de 25 mL, utilizando 2,5 mL de vinho e completando o volume do balão com água destilada, a metodologia utilizada foi elaborada por Singleton e Rossi (1965).

Para esse ensaio foi elaborado uma regressão linear com a curva padrão de ácido gálico, a qual utilizou as seguintes concentrações de ácido gálico 25, 50, 150, 200, 250, 300, 350 mg. L<sup>-1</sup>. O coeficiente de linearidade resultante da curva foi de R= 0,9969 e a equação da reta gerada foi  $y= 0,001x+0,0762$ .

A reação do reagente de Folin-Ciocalteu com a amostra foi realizada em tubo de ensaio protegido da luz ao qual foi adicionado 0,1 mL da amostra ou do padrão, 2 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 20%, 1,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e o volume foi completado para 10 mL com água destilada, foi deixado reagir protegido da luminosidade por 30 min. Logo após realizou-se as leituras das amostras e da curva padrão em espectrofotômetro em  $\lambda$  750 nm.

Os resultados foram calculados seguindo a equação da reta, e foram expressos em mg (ácido gálico). L<sup>-1</sup>.

#### 4.7.7 Determinação do teor de antocianinas

A análise de antocianinas foi realizada utilizando o método proposto por Ribéreau-Gayon e Stonestreet (1965). Essa metodologia baseia-se na modificação da estrutura da antocianina de acordo a exposição a diferentes valores de pH.

As amostras de vinho foram diluídas utilizando balão volumétrico de 50 mL ao qual foi adicionado 10 mL da amostra e o volume do balão foi completado com água destilada.

Em um tubo de ensaio de foram adicionados 9 mL de solução tampão de KCl pH1,0 e 1 mL da amostra diluída. A outro tubo de ensaio foram adicionados 9 ml de solução tampão de KCl pH 4,5 e 1 mL da amostra.

Logo após foram realizadas leituras nas duas faixas de pH em espectrofotômetro utilizando os  $\lambda$  520nm e  $\lambda$  720nm. O cálculo da absorbância final foi efetuado utilizando a seguinte fórmula:

$$(A_{520nm}-A_{720nm})_{pH4,5}-(A_{520nm}-A_{720nm})_{pH1,0}$$

Os resultados foram expressos em mg (malvidina-3-glicosídeo). L<sup>-1</sup> calculados utilizando a fórmula:

$$\frac{AxPMxFDx 100}{\epsilon}$$

onde:

A= cálculo das absorbâncias da amostra

PM= peso molecular da malvidina-3-glicosídeo (PM= 529)  
FD= Fator de diluição  
 $\epsilon$ = absorvidade molar da malvidina-3-glicosídeo ( $\epsilon=28000$ )

#### 4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE METOXIPIRAZINAS

As análises para quantificação de metoxipirazinas foram realizadas por HS-SPME-CGMS no Laboratório Multiusuário de Análise Instrumental (LAMAI) da Universidade Federal e Santa Catarina, Campus de Curitibanos.

##### 4.4.1 Extração das amostras por HS/SPME

Para a determinação do teor de metoxipirazinas nos vinhos elaborados por fermentação espontânea e com fermento comercial foram utilizados os padrões EMP (2-etil-5(6) -metoxipirazina  $\geq 98\%$ , Sigma-aldrich), IPMP (2-Isopropil-3-metoxipirazina  $\geq 97\%$ , Sigma-aldrich), SBMP (2- sec-butil-3-metoxi-pirazina  $\geq 99\%$ , Sigma-aldrich) e IBMP (2-Isobutil-3-metoxi-pirazina  $\geq 99\%$ , Sigma-aldrich) e o padrão interno PI (Pirazina  $\geq 99\%$  Sigma-aldrich).

Os analitos do vinho foram extraídos utilizando HS/SPME (*Headspace Solid Phase Microextraction*) de acordo com metodologia descrita por Tavares, (2020). Foi utilizada fibra com revestimento DVB/Carboxen/PDMS (SUPELCO analytical), frascos âmbar de 15 mL com tampa rosqueável, e sistema de banho termostaticado para controle de temperatura da extração. Para a extração, foram utilizados 5,68 mL de água ultrapura, 1,8 mL do vinho a ser analisado, 2,25 g de NaCl (cloreto de Sódio) e 20 $\mu$ L do padrão interno (100 ng. mL<sup>-1</sup>). A mistura foi mantida sob agitação a temperatura a 35°C por 5 minutos para equilíbrio, seguida de exposição da fibra por 30 minutos a 35°C (Tavares, 2020).

Após extração, a fibra foi transferida e inserida manualmente no injetor do CG/MS a temperatura de 240°C para dessorção térmica dos analitos durante 5 min, a fibra foi retirada do injetor do CG, para a utilização na amostra seguinte.

##### 4.4.2 Condições Cromatográficas

As análises quantitativas foram realizadas em cromatógrafo gasoso (Agilent, modelo 7890A) acoplado à espectrômetro de massas (Agilent MS 5975C) utilizando metodologia

descrita por Fontana, Botini (2016). A separação cromatográfica foi realizada em coluna Agilent HP-5ms (5% fenil-polidimetilsiloxano; 30 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$ ). O programa de temperatura utilizado foi de 60°C, com rampa de 5°C.min<sup>-1</sup> a 110°C com retenção de 1 min, aumentando de 20°C. min<sup>-1</sup> até atingir 130°C, na etapa final a temperatura aumentou 40°C.min<sup>-1</sup> até atingir a temperatura de 200°C durante 3 min. A temperatura do injetor foi fixada em 240°C, e as injeções foram realizadas no modo splitless.

O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV, e as temperaturas da linha de transferência e da fonte de íons foram mantidas a 300 e 200°C, respectivamente. Os componentes foram quantificados no modo SIM, com seleção dos íons 81,123,124,138 e 152 m/z para Pirazina, EMP, IPMP, SBMP e IBMP.

Para quantificação das metoxipirazinas foram utilizadas soluções em etanol nas concentrações 2000ng.L<sup>-1</sup>, 1000 ng. L<sup>-1</sup>, 500 ng. L<sup>-1</sup>, 250 ng. L<sup>-1</sup>, 125 ng. L<sup>-1</sup>, 62,5 ng. L<sup>-1</sup>, 31,2 ng. L<sup>-1</sup> e 15,62 ng. L<sup>-1</sup>. Para o padrão interno Pirazina foi utilizada a concentração de 1000 ng. L<sup>-1</sup>. As equações da reta geradas a partir da relação linear entre a área normalizada (área do padrão/ (área PI/10)) dos picos e a concentração foram para EMP  $y = 0,3557x + 0,0221$  ( $R^2$  0,9995), IPMP  $y = 1,1322x - 0,0295$  ( $R^2$  0,9994), SBMP  $y = 0,7335x - 0,0199$  ( $R^2$  0,9988) e IBMP  $y = 1,8837x - 0,0667$  ( $R^2$  0,9997).

Os limites de detecção (LOD) foi definido em uma relação sinal-ruído de 3 com base no gráfico de calibração externa com 7 pontos obtidos utilizando os padrões correspondentes, o LOQ foi definido em relação ao sinal-ruído de 10 utilizando como base no gráfico de calibração externa. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram EMP 45,18 ng. L<sup>-1</sup> e 135,77 ng. L<sup>-1</sup>, IPMP 27,15 ng. L<sup>-1</sup> e 81,53 ng. L<sup>-1</sup>, SBMP 39,53 ng. L<sup>-1</sup> e 118,71 ng. L<sup>-1</sup> e IBMP 19,02 ng. L<sup>-1</sup> e 57,14 ng. L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os resultados obtidos foram analisados por ANOVA no programa R.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E UTILIZANDO FERMENTO COMERCIAL DOS MOSTOS PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL-SC E SÃO JOAQUIM-SC

O processo de fermentação nos tratamentos CBSFE e CBSFC iniciou no dia 01 de abril de 2020 e finalizou no dia 24 de abril de 2020. A densidade inicial dos mostos dos vinhos CBSFE e CBSFC foi de  $1,0829 \text{ g.L}^{-1}$  e a fermentação alcoólica foi finalizada no tratamento CBSFE ao atingir densidade de  $0,9972 \text{ g.L}^{-1}$ , e no tratamento CBSFC quando a densidade atingiu  $0,9986 \text{ g.L}^{-1}$ .

Para a fermentação dos tratamentos SJFE e SJFC o processo iniciou no dia 07 de abril de 2020 e finalizou no dia 24 de abril de 2020 e a densidade inicial do mosto dos vinhos SJFE e SJFC foi de  $1,1133 \text{ g.L}^{-1}$  e a fermentação alcoólica do tratamento SJFE foi finalizada quando o mosto atingiu  $0,9999 \text{ g.L}^{-1}$ , e do tratamento SJFC foi finalizada quando o mosto atingiu  $0,9997 \text{ g.L}^{-1}$ .

Por meio do acompanhamento do decréscimo da densidade durante a fermentação alcoólica foi possível distinguir 4 fases do processo fermentativo (Figura 3): a fase de adaptação (6 dias), Fase I da fermentação (7 dias), a Fase II (6 dias), a Fase III (4 dias) e o Ponto Final da fermentação (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2005). Os valores obtidos na avaliação da densidade estão apresentados na Figura 2.

Nos tratamentos CBSFE e CBSFC a fase de adaptação estendeu-se por 6 dias sendo possível evidenciar diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no decréscimo da densidade entre os tratamentos. A fase de adaptação dos tratamentos SJFE e SJFC teve a duração de 6 dias e os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si no final da fase de adaptação. Já na fase I os valores de densidade não diferiram significativamente entre os tratamentos, mas foi possível observar que os mostos SJFE e SJFC apresentaram uma queda abrupta da densidade nessa fase.

Na fase II e III todos os tratamentos diferiram entre si pelo teste de médias de Tukey a 95% de significância. A densidade no ponto final da fermentação não diferiu estatisticamente pelo teste de médias de Tukey.

Tabela 2: Acompanhamento do Decréscimo da Densidade Durante a Fermentação do mosto de Cabernet Sauvignon nos tratamentos de Fermentação Espontânea (FE) e Fermentação com Fermento Comercial (FC).

Fase da Fermentação	Adaptação	Adaptação/	FASE I	FASE II	
Tratamento	01/abr.	03/abr.	07/abr.	13/abr.	15/abr.
CBSFE	1,0829 <sup>aa</sup>	1,1030 <sup>aa</sup>	1,0920 <sup>ab</sup>	1,0608 <sup>ab</sup>	1,0401 <sup>ab</sup>
CBSFC	1,0829 <sup>bb</sup>	1,1037 <sup>aa</sup>	1,0735 <sup>ba</sup>	1,0435 <sup>ab</sup>	1,0369 <sup>bb</sup>
SJFE			1,1133 <sup>cc</sup>	1,0751 <sup>cd</sup>	1,0301 <sup>cc</sup>
SJFC			1,1133 <sup>dd</sup>	1,0515 <sup>cd</sup>	1,0295 <sup>dd</sup>

Fase da Fermentação	FASE II	FASEIII	FINAL	
Tratamento	17/abr.	20/abr.	22/abr.	24/abr.
CBSFE	1,0378 <sup>ab</sup>	1,0204 <sup>aa</sup>	1,0132 <sup>aa</sup>	0,9972 <sup>aa</sup>
CBSFC	1,0278 <sup>ab</sup>	1,0231 <sup>bd</sup>	1,0130 <sup>bb</sup>	0,9986 <sup>bb</sup>
SJFE	1,0284 <sup>cd</sup>	1,0219 <sup>cc</sup>	1,0200 <sup>cd</sup>	0,9999 <sup>cc</sup>
SJFC	1,0237 <sup>cd</sup>	1,0206 <sup>dd</sup>	1,0126 <sup>cd</sup>	0,9998 <sup>dd</sup>

<sup>aa</sup>Letras iguais tratamentos não diferem estatisticamente entre si no teste de médias de Tukey a 95% de significância. <sup>ab</sup> Letras diferenças significativas entre os tratamentos CBSFE e CBSFC pelo teste de médias de Tukey a 95% de significância. <sup>cd</sup> letras diferentes os tratamentos SJFE e SFJC diferem significativamente pelo teste de médias de Tukey a 95% de significância.

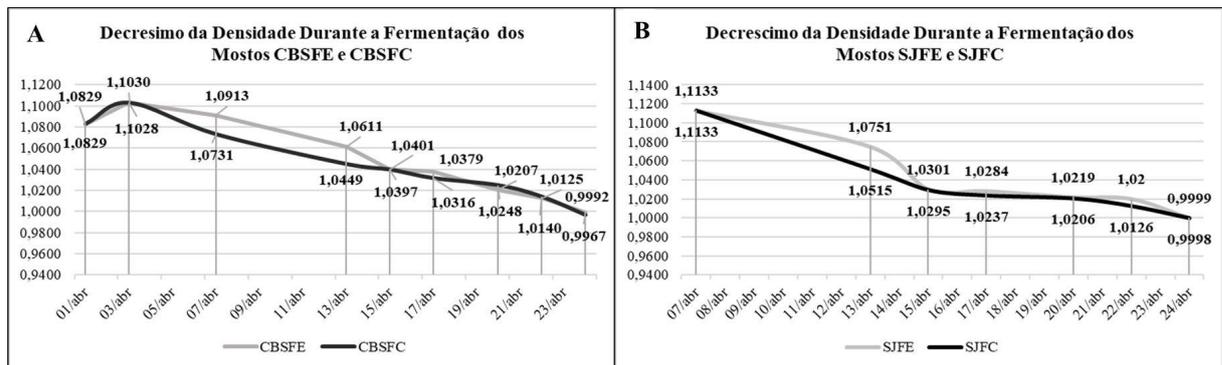


Figura 4: Variação na densidade durante a fermentação alcoólica dos mostos de Cabernet Sauvignon dos Tratamentos com fermentação espontânea (FE) e fermentação comercial (FC) a partir de uvas provenientes de A: Campo Belo do Sul (CBS) e B: São Joaquim (SJ) originando os tratamentos CBSFE, CBSFC, SJFE e SJFC.

Fonte: Autora, 2020.

## 5.2 CONTAGEM DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A contagem de colônias durante a fermentação alcoólica foi realizada nas amostras coletadas nos dias 13, 17, 20 e 24 de abril de 2020 e as médias das contagens observadas em cada dia amostrado encontra-se resumidas na Figura 6.

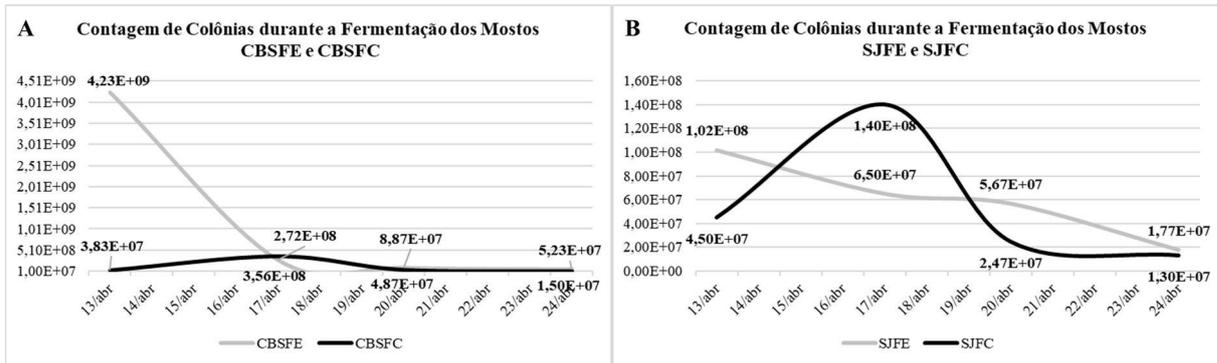


Figura 5: Contagem de Colônias (UFC.mL<sup>-1</sup>) durante a fermentação dos mostos. A: contagem de colônias dos mostos dos tratamentos CBSFE e CBSFC. B: Contagem de Colônias dos mostos dos tratamentos SJFE e SJFC. No gráfico CBSFE: Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea, CBSFC: Campo Belo do Sul Fermento Comercial, SJFE: São Joaquim Fermentação Espontânea e SJFC: São Joaquim Fermento comercial. Fonte: Autora, 2021.

Foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos no dia 13 de abril de 2020. Na análise de variância ANOVA ( $p= 2,16 \times 10^{-8}$ ), foi possível observar diferenças significativas no teste de Tukey, o tratamento CBSFE apresentou um número mais elevado de UFC.mL<sup>-1</sup> em relação ao tratamento CBSFC, já o tratamento SJFE apresentou um número maior de UFC.mL<sup>-1</sup> quando comparado ao tratamento SJFC mas essa diferença não foi significativa.

As avaliações realizadas no dia 17 de abril de 2020 demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento CBSFE apresentou um decréscimo significativo de UFC.mL<sup>-1</sup> quando comparado ao tratamento CBSFC. O mesmo comportamento foi observado nos mostos SJFE e SJFC sendo que o mosto de SJFE apresentou valores significativamente menores de UFC.mL<sup>-1</sup> em relação ao mosto SJFC.

No dia 20 de abril de 2020 as contagens realizadas demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento CBSFE apresentou número de UFC.mL<sup>-1</sup> significativamente menores que o número de UFC.mL<sup>-1</sup> do tratamento CBSFC, o mesmo pode ser observado nos tratamentos SJFE e SJFC, onde o tratamento SJFE apresentou números significativamente menores de UFC.mL<sup>-1</sup> em relação ao tratamento SJFC.

Ao final da fermentação alcoólica no dia 24 de abril de 2020 observou-se diferença significativa entre os tratamentos. O tratamento CBSFE apresentou maior número de UFC.mL<sup>-1</sup> quando comparado ao tratamento CBSFC, sendo essa diferença significativa, já os tratamentos SJFE e SJFC não apresentaram diferença significativa mesmo que o número de UFC.mL<sup>-1</sup> do tratamento SJFE tenha apresentado valores maiores em relação ao número de UFC.mL<sup>-1</sup> do tratamento SJFC.

### 5.3. CONSUMO DE AÇÚCARES REDUTORES DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

O consumo de açúcares durante a fermentação alcoólica foi realizado nas amostras coletadas nos dias 13, 17, 20 e 24 de abril de 2020, utilizando a metodologia de quantificação de açúcares residuais totais. Os valores médios observados em cada ponto amostrado podem ser observados na Tabela 4.

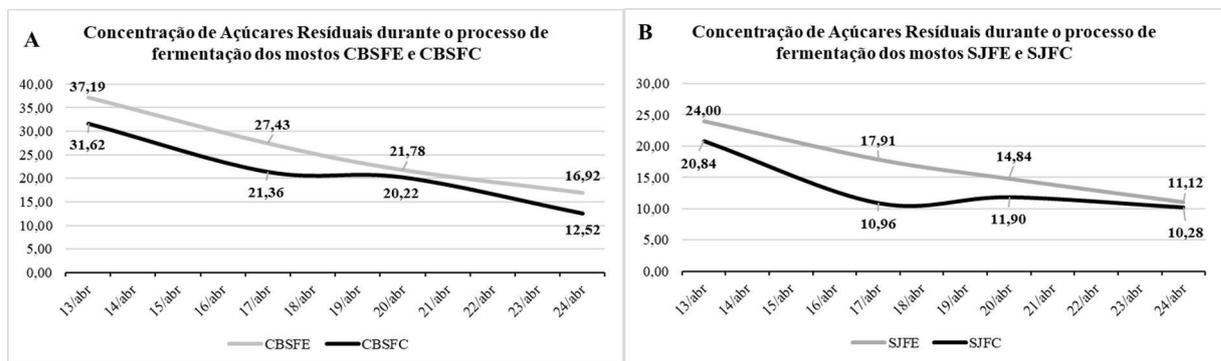


Figura 6: Concentração de açúcares residuais (g.L<sup>-1</sup>) durante o processo fermentativo. A: Açúcares Residuais dos mostos CBSFE e CBSFC. B: Açúcares Residuais dos mostos SJFE e SJFC.

Fonte: Autora, 2021.

O consumo de açúcares no dia 13 de abril de 2020 diferiu significativamente entre todos os tratamentos. Os vinhos elaborados por fermentação espontânea CBSFE e SJFE apresentaram maiores quantidade de açúcares residuais totais quando comparados aos respectivos tratamentos de fermentação com fermento comercial CBSFC e SJFC, isso evidencia um menor consumo de açúcares na fermentação espontânea na fase inicial do processo de fermentação espontânea. Nos demais dias amostrados a mesma tendencia foi observada, onde os vinhos de fermentação espontânea CBSFE e SJFE apresentaram valores significativamente maiores de açúcares residuais em comparação aos vinhos elaborados com fermento comercial CBSFC e SJFC.

Foi observado uma concentração significativamente maior de açúcares residuais totais nos vinhos elaborados por fermentação espontânea CBSFE e SJFE ao término da fermentação alcoólica, em relação aos vinhos com fermento comercial CBSFC e SJFC, essa tendencia foi observada durante todo o processo fermentativo, demonstrando um consumo de açúcares significativamente inferior na fermentação espontânea.

## 5.4 PRODUÇÃO DE ÁLCOOL DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A produção de álcool durante a fermentação alcoólica foi acompanhada por amostras coletadas nos dias 13, 17, 20 e 24 de abril de 2020 e as médias do teor alcoólico observado em cada ponto amostrado encontram-se representadas na Figura 5.

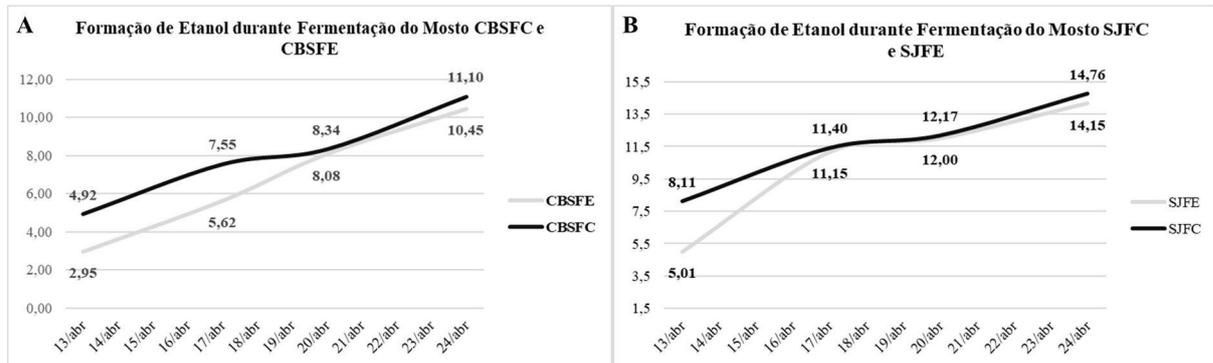


Figura 7: Formação do etanol (%v/v) durante a fermentação espontânea e com fermento comercial. A: Formação do Etanos nos mostos CBSFC e CBSFE. B: Formação do Etanol durante a fermentação dos mosotos SJFC e SJFE.

Fonte: Autora, 2021.

No dia 13 de abril de 2020 a fermentação alcoólica estava no seu décimo dia e a produção de álcool já havia iniciado (Figura 8), vinhos CBSFE elaborados por fermentação espontânea apresentaram um menor teor alcoólico quando comparado aos vinhos CBSFC elaborados por fermentação com fermento comercial, a mesma propensão foi observada nos vinhos de fermentação espontânea SJFE em relação aos vinhos SJFC.

No décimo quarto dia da fermentação alcoólica (17 de abril de 2020) as médias do teor alcoólico (Figura 8A)) demonstraram que os vinhos elaborados por fermentação espontânea CBSFE apresentaram valores significativamente menores de teor alcoólico do que os valores observados no vinho produzido com fermento comercial CBSFC. Já, os vinhos elaborados por fermentação espontânea SJFE (Figura 8B) apresentou menores valores de teor alcoólico, mas esses valores não foram significativos quando comparados aos vinhos elaborados com fermento comercial SJFC diferiu significativamente dos vinhos CBSFE e CBSFC, não diferindo significativamente do vinho SJFC.

No dia 20 de abril de 2020 décimo sétimo dia do processo fermentativo os tratamentos não apresentaram diferenças significativas no teor alcoólico entre os vinhos elaborados por fermentação espontânea CBSFE e SJFE em relação aos respectivos vinhos elaborados por fermentação com fermento comercial CBSFC e SJFC. Seguindo a tendencia do décimo quarto dia os vinhos de fermentação espontânea apresentaram menores teores alcoólicos.

No vigésimo primeiro dia da fermentação alcoólica, os resultados quanto à produção de álcool diferiram significativamente e os vinhos CBSFE, SJFE e SJFC diferiram significativamente no teste de Tukey, não diferindo do CBSFC para essa característica. Já o vinho SJFE diferiu significativamente dos vinhos CBSFE e, não diferindo do vinho SJFC.

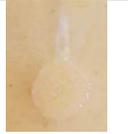
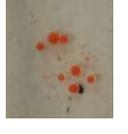
Nos dias 20 de abril a 24 abril de 2020 ocorreu a fase III da fermentação onde iniciou o declínio do crescimento microbiano. O consumo de açúcar aumentou assim como o teor alcoólico nos vinhos elaborados por fermentação espontânea e a diminuição do número de UFC.mL<sup>-1</sup> quando comparados os tratamentos de fermentação espontânea (CBSFE e SJFE) com os respectivos tratamentos de fermentação com fermento comercial (CBSFC e SJFC).

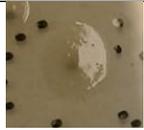
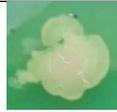
## 5.5 ISOLAMENTO DE COLÔNIAS DURANTE O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E FERMENTAÇÃO UTILIZANDO FERMENTO COMERCIAL

Foram realizados isolamentos de leveduras nas amostras do mosto de Campo Belo do Sul nos dias 01 de abril de 2020, 13 de abril de 2020, 17 de abril de 2020, 20 de abril de 2020 e 24 abril de 2020, no mosto proveniente das uvas de São Joaquim o isolamento foi realizado nas amostras dos dias 07 de abril de 2020, 13 de abril de 2020, 17 de abril de 2020, 20 de abril de 2020 e 24 abril de 2020.

Tabela 3: Morfologia das Colônias Isoladas durante a fermentação alcoólica de vinhos elaborados por fermentação espontânea e com fermento comercial com uvas provenientes de Campo Belo do Sul-SC e São Joaquim-SC

Morfologia das Colônias Isoladas					
Isolado	Morfologia da Colonia	Etapa do Isolamento	Isolado	Morfologia da Colonia	Etapa do Isolamento
CBSFE A101		Mosto	CBSFE A207		Fase II da Fermentação
CBSFE A102		Mosto	CBSFE A208		Fase II da Fermentação
CBSFE A103		Mosto	CBSFE A301		Fase III da Fermentação

CBSFE A104		Mosto	CBSFE A302		Fase III da Fermentação
CBSFE A105		Mosto	CBSFE A303		Fase III da Fermentação
CBSFE A201		Fase II da Fermentação	CBSFE A305		Fase III da Fermentação
CBSFE A202		Fase II da Fermentação	CBSFE A306		Fase III da Fermentação
CBSFE A203		Fase II da Fermentação	CBSFEA307		Fase III da Fermentação
CBSFE A204		Fase II da Fermentação	CBSFC A904		Fase III da Fermentação
CBSFE A205		Fase II da Fermentação	CBSFC A905		Fase III da Fermentação
CBSFE A206		Fase II da Fermentação	CBSFC A906		Fase III da Fermentação
CBSFC A101		Fase II da Fermentação	CBSFC A907		Fase III Fermentação
CBSFC A102		Fase II da Fermentação	SJFE A131		Mosto
CBSFC A103		Fase II da Fermentação	SJFE A132		Mosto

CBSFC A104		Fase II da Fermentação	SJFE A133		Mosto
CBSFC A105		Fase II da Fermentação	SJFE A134		Mosto
CBSFC A901		Fase III da Fermentação	SJFE A135		Mosto
CBSFC A902		Fase III da Fermentação	SJFE A141		Fase II da Fermentação
CBSFC A903		Fase III da Fermentação	SJFE A142		Fase II da Fermentação
SJFEA 143		Fase II da Fermentação	SJFE A156		Fase III da Fermentação
SJFE A144		Fase II da Fermentação	SJFE A157		Fase III da Fermentação
SJFE A151		Fase II da Fermentação	SJFE A161		Fase III da Fermentação
SJFE A152		Fase III da Fermentação	SJFE A171		Fase III da Fermentação
SJFE A153		Fase III da Fermentação	SJFE A172		Fase III da Fermentação
SJFE A162		Fase III da Fermentação	SJFC A191		Fase II da Fermentação
SJFE A154		Fase III da Fermentação	SJFE A192		Fase II da Fermentação

SJFE A155		Fase III da Fermentação
--------------	---	----------------------------

CBSFE Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea, CBSFC Campo Belo do Sul Fermento Comercial, SJFE São Joaquim Fermentação Espontânea, SJFC São Joaquim Fermentação Comercial.

Foram isoladas um total de 44 colônias do mosto proveniente de Campo Belo do Sul, sendo isoladas 5 colônias do mosto antes de iniciar o processo fermentativo (01/04/2020), 8 colônias da fase II (13/04/2020 à 17/04/2020) da fermentação espontânea (CBSFE) e 6 colônias da fase II da fermentação com fermento comercial (CBSFC), 7 colônias foram isoladas da fase III (20/04/2020 à 24/04/2020) da fermentação espontânea (CBSFE) e 6 colônias da fase III da fermentação com fermento comercial (Tabela 6).

No mosto proveniente de São Joaquim foram isoladas 22 colônias, destas 5 colônias foram isoladas do mosto (07/04/2020), 5 colônias da fase II (13/04/2020 à 17/04/2020) da fermentação espontânea (SJFE) e 9 colônias na fase III (20/04/2020 à 24/04/2020) da fermentação espontânea. Da fermentação utilizando fermento comercial (SJFC) foram isoladas 3 colônias da fase II (13/04/2020 à 17/04/2020).

O índice de Jaccart foi utilizado para demonstrar a similaridade entre as colônias isoladas na fermentação espontânea (CBSFE) e na fermentação utilizando fermento comercial, entre o mosto e as fases II e III da fermentação espontânea e fermentação com fermento comercial (CBSFC). Observou-se 14,82% de similaridade entre as colônias isoladas do mosto e das fases da fermentação. Ao comparar a Fase II da fermentação espontânea e a Fase II da fermentação com fermento comercial observou-se 66,66% de similaridade e a mesma similaridade foi observada ao comparar o mosto e as fase III da fermentação espontânea e a fase III da fermentação com fermento comercial.

Ao comparar as colônias isoladas do mosto e das fases II e III da fermentação espontânea dos vinhos CBSFE, a similaridade entre as colônias foi de 27,27%. Entre as fases II e III da fermentação espontânea observou-se 57,14% de similaridade entre as colônias isoladas. Na fermentação com fermento comercial dos vinhos CBSFC a similaridade das colônias isoladas do mosto e as fases II e III da fermentação foi de 27,27% e entre as fases a similaridade entre as colônias isoladas foi de 66,66%.

Entre as colônias isoladas do mosto e as colônias isoladas das fases II e III da fermentação espontânea dos vinhos SJFE a similaridade foi 10% nas colônias isoladas. Ao comparar as colônias isoladas do mosto e das fases II e III da fermentação com fermento comercial dos vinhos SJFC observou-se uma similaridade de 14,28%.

Para o mosto e as fases II da fermentação espontânea (SJFE) e fermentação com fermento comercial (SJFC) não ocorreu similaridade nas colônias isoladas e quando comparadas as fases II da fermentação espontânea e fermentação com fermento comercial à similaridade entre as colônias isoladas foi de 16,60%. Entre as colônias isoladas do mosto e das fases III da fermentação espontânea e fermentação com fermento comercial não ocorreu similaridades. Não foi observada similaridades entre as colônias isoladas do mosto e as fases da fermentação espontânea e fermentação com fermento comercial dos vinhos SJFE e SJFC.

## 5.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MOSTO DE CABERNET SAUVIGNON PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM.

As uvas provenientes de Campo Belo do Sul foram processadas no dia 01 de abril tendo sido colhidas no dia 27 de março, 2020 e as uvas provenientes de São Joaquim foram processadas no dia 03 de abril, tendo sido colhidas no dia 30 de março 2020.

O mosto proveniente de Campo Belo do Sul apresentou teor de sólidos solúveis de 24,5° Brix, acidez total titulável de 45,76 meq. L<sup>-1</sup> e pH 3,75. O mosto proveniente de São Joaquim obteve um teor de sólidos solúveis de 25,4° Brix, acidez total titulável de 68,28 meq. L<sup>-1</sup> e pH 3,45.

## 5.7 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO VINHOS CABERNET SAUVIGNON ELABORADOS POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E COM FERMENTO COMERCIAL

### 5.7.1 Comparação da Acidez Total Titulável, Acidez Volátil e pH dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e por Fermento Comercial

A acidez total média dos vinhos elaborados por fermentação espontânea em Campo Belo do Sul (CBSFE) foi de 73,53±1,24 meq. L<sup>-1</sup> (Figura 8a), apresentando valores inferiores (p=0,015) quando comparados aos valores obtidos em vinhos elaborados com fermento comercial (CBSFC) cujos valores médios foram de 79,03±3,28 meq. L<sup>-1</sup>.

Os vinhos elaborados por fermentação espontânea provenientes de uvas de São Joaquim (SJFE) apresentaram valores médios de acidez total titulável de  $108,23 \pm 3,28$  meq. L<sup>-1</sup> não apresentando diferenças significativas para esta característica quando comparados aos vinhos SJFC ( $113,80 \pm 3,32$ ) (Figura 8b).

Ao comparar a acidez volátil dos vinhos elaborados por fermentação espontânea CBSFE ( $16,31 \pm 0,31$  meq. L<sup>-1</sup>), estes apresentaram valores significativamente maiores (Figura 6 c) em comparação aos vinhos elaborados com fermento comercial CBSFC ( $10,52 \pm 0,27$  meq. L<sup>-1</sup>).

Os vinhos elaborados SJFE obtidos por meio de fermentação espontânea (Figura 8d) apresentaram valores de acidez volátil ( $9,98 \pm 0,39$  meq. L<sup>-1</sup>) significativamente maiores quando comparados aos vinhos elaborados utilizando fermento comercial SJFC ( $8,04 \pm 0,27$  meq. L<sup>-1</sup>).

A fermentação espontânea aumentou significativamente os valores de pH dos vinhos CBSFE ( $3,94 \pm 0,01$ ) quando comparados aos vinhos elaborados por fermentação utilizando fermento comercial ( $3,87 \pm 0,01$ ) (Figura 8e).

O mesmo comportamento dos valores de pH foi observado nos vinhos SJFE ( $3,38 \pm 0,01$ ), quando comparados aos vinhos SJFC ( $3,35 \pm 0,08$ ) (Figura 8f), porém sem apresentarem diferença estatística.

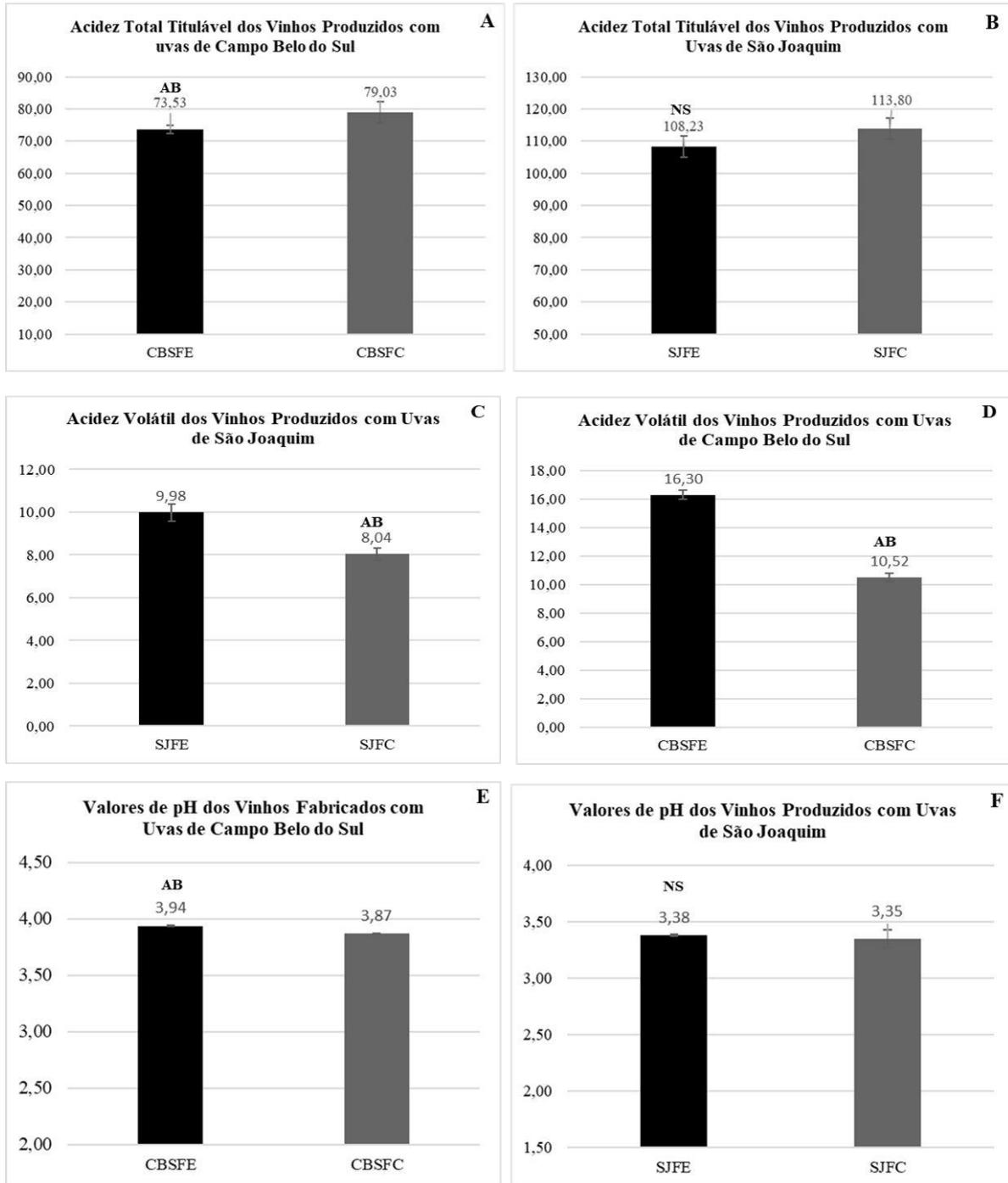


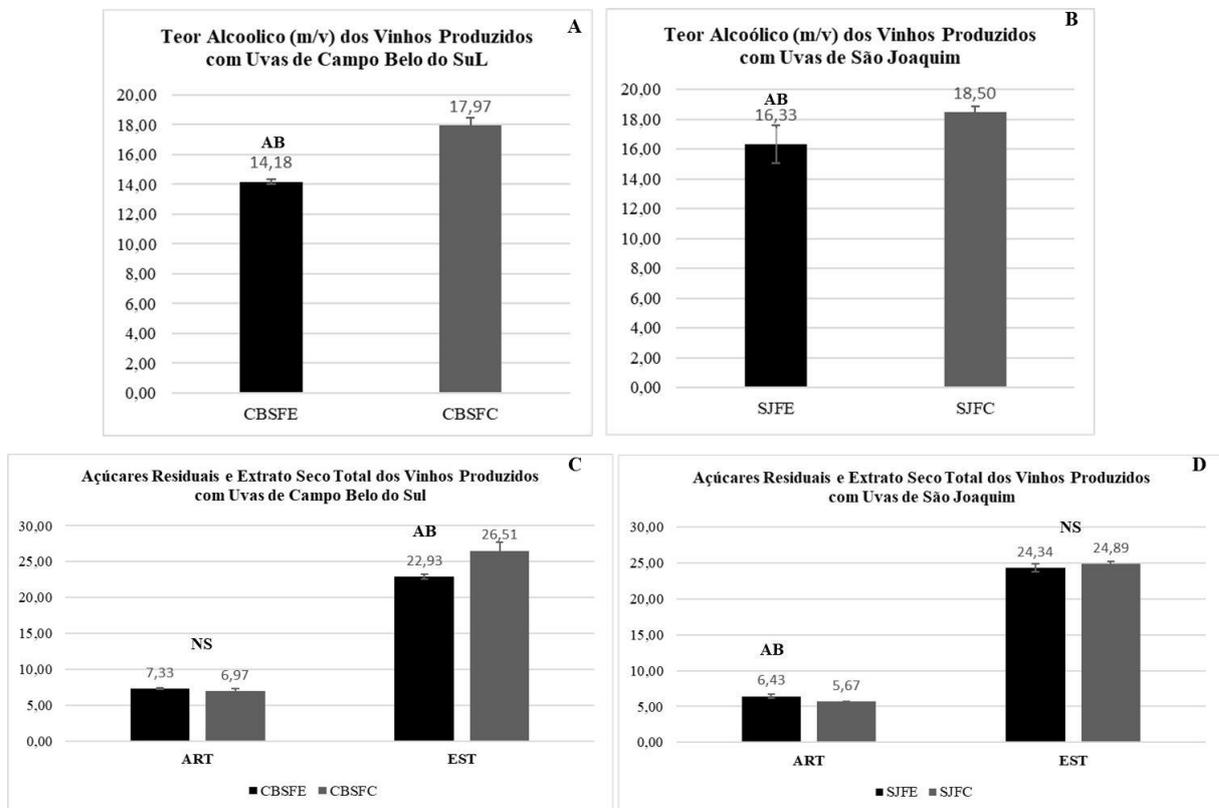
Figura 8: Comparação dos Valores de Acidez Total (meq. L<sup>-1</sup>), Acidez Volátil (meq. L<sup>-1</sup>) e pH dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e com Fermento Comercial. 8a) valores de acidez total titulável dos vinhos elaborados com uvas de Campo Belo do Sul-SC, 8b) valores de acidez total titulável dos vinhos elaborados com uvas de São Joaquim-SC. 8c) valores de acidez volátil dos vinhos elaborados com uvas de Campo Belo do Sul-SC, 8d) Valores de acidez volátil dos vinhos elaborados com uvas de São Joaquim-SC. 8e) Valores de pH dos vinhos elaborados com uvas de Campo Belo do Sul-SC, 8f) Valores de pH dos vinhos elaborados com uvas de São Joaquim-SC.

No gráfico: CBSFE: Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea. CBSFC: Campo Belo do Sul Fermentação Comercial. AB: diferença significativa entre os tratamentos. NS: não apresenta diferença significativa.

### 5.7.2 Comparação do Teor Alcoólico, Açúcares Residuais e Extrato Seco Total dos Vinhos Elaborados por Fermentação Espontânea e Fermento Comercial

A fermentação espontânea resultou em diminuição significativa do teor alcoólico (Figura 9A) nos vinhos CBSFE (14,18%±0,16%(v/v)) em contraste aos valores obtidos nos vinhos elaborados utilizando fermento comercial CBSFC (17,97%±0,51%(v/v)).

Os vinhos SJFE (16,33%±1,29%(v/v)) apresentaram uma diminuição significativa do teor alcoólico (Figura 9B) em relação aos valores obtidos nos vinhos SJFC (18,50%±0,36%(v/v)).



No gráfico: CBSFE: Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea, CBSFC: Campo Belo do Sul Fermentação Comercial. SJFE: São Joaquim Fermentação Espontânea. SJFC: São Joaquim Fermentação Comercial. AB: diferença significativa entre os tratamentos. NS: não apresenta diferença significativa.

Os açúcares residuais não apresentaram diferença significativa (Figura 9C) nos vinhos CBSFE (7,33g.L<sup>-1</sup>±0,32g.L<sup>-1</sup>) comparados aos vinhos CBSFC (6,97 g.L<sup>-1</sup> ± 0,15 g.L<sup>-1</sup>).

Os vinhos SJFE (6,43 g.L<sup>-1</sup>±0,31 g.L<sup>-1</sup>) apresentaram um teor de açúcares residuais superior ao teor de açúcares residuais dos vinhos SJFC (5,67 g.L<sup>-1</sup> ±0,058 g.L<sup>-1</sup>) (Figura 9D)

Uvas de Campo Belo do Sul produziram vinhos CBSFE ( $22,93 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,35 \text{ g.L}^{-1}$ ) com diminuição significativa dos valores de extrato seco total em relação aos vinhos CBSFC ( $26,51 \text{ g.L}^{-1} \pm 1,18 \text{ g.L}^{-1}$ ) (Figura 7 C). Com valores médios de  $24,34 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,54 \text{ g.L}^{-1}$ , vinhos SJFE não apresentaram diferenças significativas nos teores de extrato seco total quando comparado ao vinho SJFC ( $24,89 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,28 \text{ g.L}^{-1}$ ) (Figura 9D).

### 5.7.3 Comparação da Tonalidade e Índice de Cor dos vinhos elaborados por Fermentação espontânea e Fermento Comercial

Os vinhos CBSFE apresentaram tonalidade média de  $8,45 \pm 0,02$ , a qual foi menor do que as apresentadas por vinhos CBSFC, os quais apresentaram tonalidade média de  $9,92 \pm 0,27$ . A diminuição da tonalidade na fermentação espontânea foi significativa quando comparada a tonalidade dos vinhos elaborados com fermento comercial (Figura 10A).

A tonalidade média dos vinhos SJFE foi de  $6,26 \pm 0,33$  e os vinhos SJFC exibiram valores de tonalidade média de  $6,18 \pm 0,3$ , não havendo diferença significativa entre os vinhos para essas características (Figura 10B).

O índice de intensidade de cor dos vinhos CBSFE ( $13,95 \pm 0,71$ ) apresentou valores significativamente menores em relação aos vinhos CBSFC ( $15,68 \pm 0,92$ ) (Figura 10A).

A fermentação espontânea influenciou positivamente o índice de intensidade de cor nos vinhos SJFE ( $18,89 \pm 0,01$ ), apresentando valores significativamente superior aos obtidos para o índice de cor dos vinhos SJFC ( $16,59 \pm 0,34$ ) (Figura 10B).

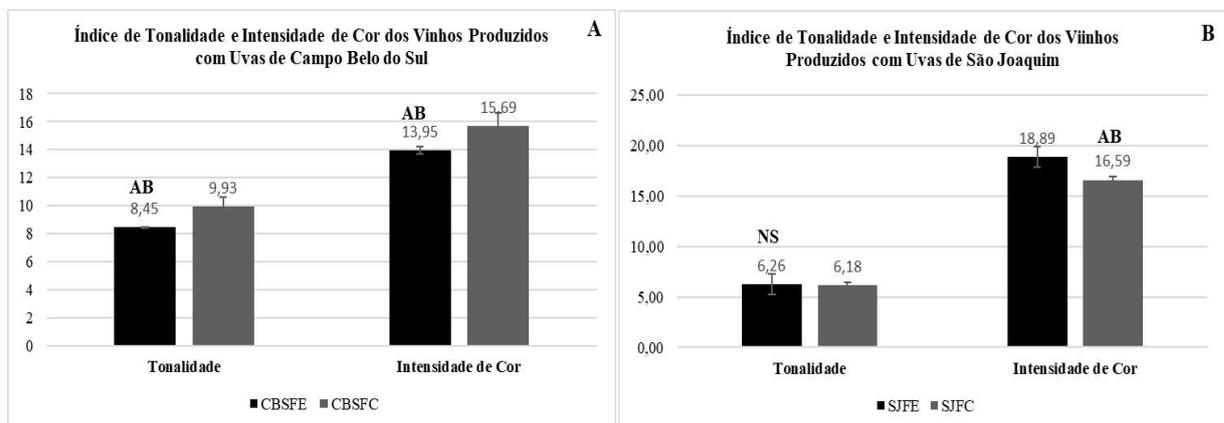


Figura 9: Índices de Tonalidade e Intensidade de Cor dos vinhos elaborados por fermentação espontânea (FE) e utilizando fermento comercial (FC) de uvas provenientes de Campo Belo do Sul-SC e São Joaquim-SC. Figura 10A: Comparação dos Índices de Tonalidade e intensidade de cor dos vinhos CBSFE e CBSFC elaborados com uvas provenientes de Campo Belo do Sul-SC. Figura 10B: Comparação dos Índices de Tonalidade e intensidade de cor dos vinhos SJFE e SJFC elaborados com uvas provenientes de São Joaquim-SC.

No gráfico: CBSFE: Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea, CBSFC: Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea. SJFE: São Joaquim Fermentação Espontânea. SJFC: São Joaquim Fermentação Comercial. AB: diferença significativa entre os tratamentos. NS: não apresenta diferença significativa.

### 5.7.4 Teor de antocianinas e atividade redutora de vinhos elaborados por fermentação espontânea em comparação a vinhos elaborados com fermento comercial

Os vinhos CBSFE ( $520,65 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1} \pm 5,70 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1}$ ) apresentaram uns valores superiores de antocianinas em relação aos vinhos CBSFC ( $315,78 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1} \pm 24,58 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Figura 11A).

Para os vinhos SJFE ( $706,27 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1} \pm 12,04 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1}$ ) não foram p observadas diferenças significativas no teor de antocianinas quando comparados aos vinhos SJFC ( $649,41 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1} \pm 47,29 \text{ mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1}$ ). (Figura 11B).

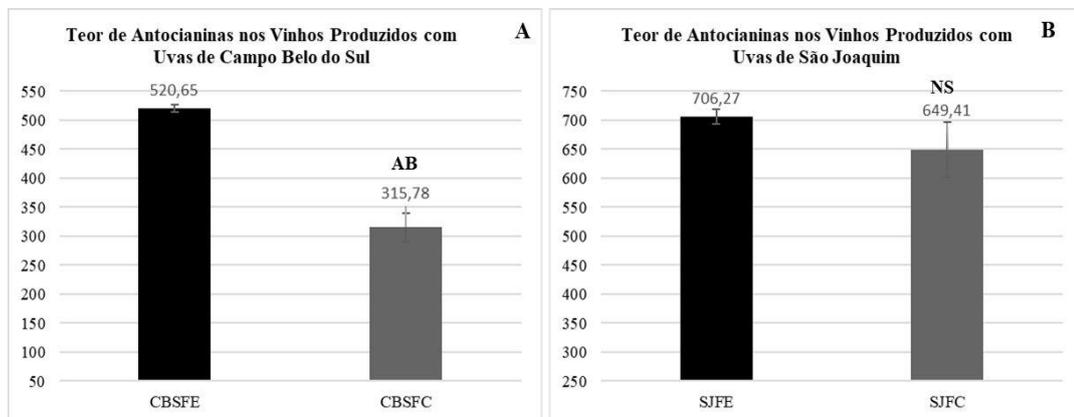


Figura 10: Teores de Antocianinas ( $\text{mg}_{(\text{malvidina})} \cdot \text{L}^{-1}$ ) dos vinhos elaborados por fermentação espontânea (FE) e fermento comercial. (FC) Figura 11A: Teor de antocianinas dos vinhos CBSFE e CBSFC elaborados com uvas de Campo Belo do Sul-SC. Figura 11B: Teor de antocianinas dos vinhos SJFE e SJFC elaborados com uvas de São Joaquim.

No Gráfico: CBSFE Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea, CBSFC Campo Belo do Sul Fermentação Comercial, SJFE São Joaquim Fermentação Espontânea, SJFC São Joaquim Fermentação Comercial. AB: diferença significativa entre os tratamentos. NS: não apresenta diferença significativa.

Os vinhos elaborados CBSFE ( $1838,87 \text{ mg}_{(\text{ácido gálico})} \cdot \text{L}^{-1} \pm 60,31 \text{ mg}_{(\text{ácido gálico})} \cdot \text{L}^{-1}$ ) apresentaram um incremento significativo na atividade redutora ( $p=2,71 \times 10^{-2}$ ) em relação aos vinhos CBSFC ( $1697,05 \text{ mg}_{(\text{ácido gálico})} \cdot \text{L}^{-1} \pm 40,36 \text{ mg}_{(\text{ácido gálico})} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Figura 12A).

Vinhos SJFE ( $1825,23 \text{ mg (ácido gálico) } \cdot \text{ L}^{-1} \pm 24,55 \text{ mg (ácido gálico) } \cdot \text{ L}^{-1}$ ) revelaram uma diminuição significativa da atividade redutora ( $p=1,55 \times 10^{-3}$ ) quando comparados ao vinho SJFC. (Figura 12B).

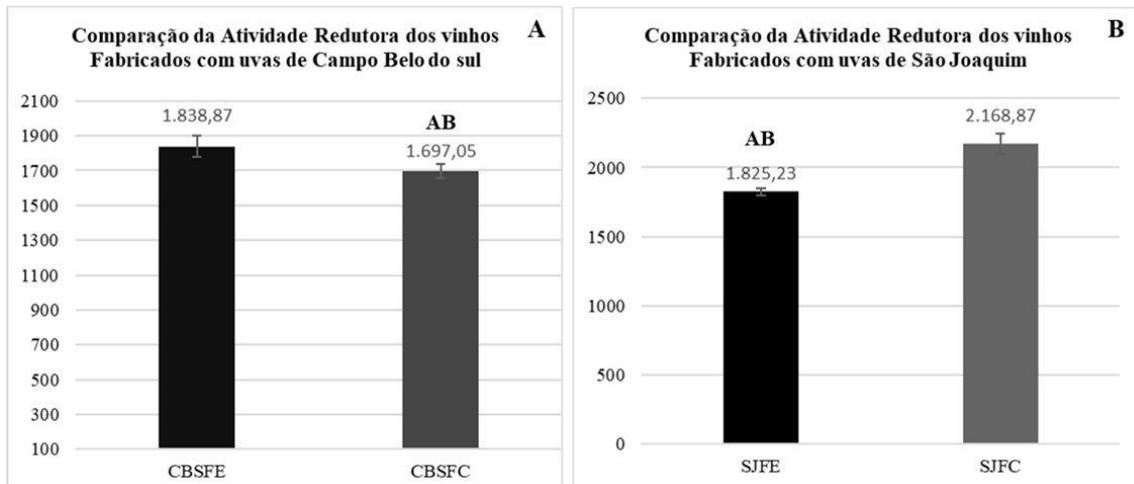


Figura 11: Comparação da Atividade Redutora ( $\text{mg (ácido gálico) } \cdot \text{ L}^{-1}$ ) dos Vinhos elaborados por fermentação espontânea (FE) e (FC) fermento comercial. Figura 10A: Atividade Redutora dos vinhos CBSFE e CBSFC elaborados com uvas de Campo Belo do Sul. Figura 10B: Atividade Redutora dos vinhos SJFE e SJFC produzido com uvas de São Joaquim. No Gráfico: CBSFE Campo Belo do Sul Fermentação Espontânea, CBSFC Campo Belo do Sul Fermento Comercial, SJFE São Joaquim Fermentação espontânea, SJFC São Joaquim Fermentação Fermento Comercial. AB: diferença significativa entre os tratamentos.

## 5.5 METOXIPIRAZINAS NOS VINHOS ELABORADOS POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E COM FERMENTO COMERCIAL COM UVAS DE CAMPO BELO DO SUL -SC E SÃO JOAQUIM-SC

Os vinhos CBSFE apresentaram menores teores médios de EMP ( $293,88 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 62,48 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ), IPMP ( $102,39 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 10,44 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ), SBMP ( $289,26 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 21,03 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ) e IBMP ( $160,00 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 26,57$ ) em relação aos vinhos CBSFC, que apresentaram teores médios de EMP ( $375,72 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 33,87 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ), IPMP ( $193,22 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 4,21 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ), SBMP ( $619,58 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 69,41 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ) e IBMP ( $287,50 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1} \pm 29,58 \text{ ng} \cdot \text{ L}^{-1}$ ). Os teores de IPMP ( $p= 2,11 \times 10^{-2}$ ), SBMP ( $p= 1,34 \times 10^{-3}$ ) e IBMP ( $p= 5,41 \times 10^{-4}$ ) apresentaram teores significativamente menores nos vinhos CBSFE (Figura 13).

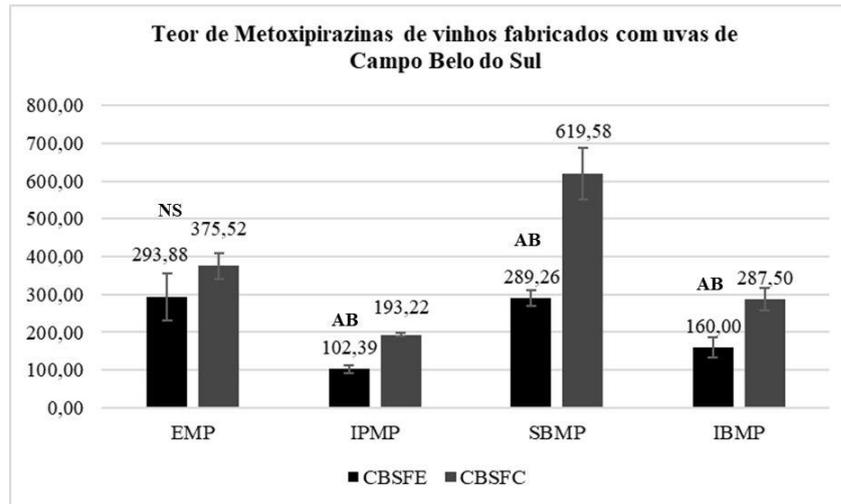


Figura 12: Teor de Metoxipirazinas dos vinhos elaborados por fermentação espontânea e fermento comercial de uvas provenientes de Campo Belo do Sul-SC.

No gráfico: CBSFE Campo Belo do Sul fermentação espontânea, CBSFC Campo Belo do Sul fermentação com fermento comercial, EMP (2-etil-5(6) -metoxipirazina), IPMP (2-Isopropil-3-metoxipirazina), SBMP (2-sec-butil-3-metoxi-pirazina) e IBMP (2-Isobutil-3-metoxi-pirazina). NS não significativo, AB apresenta diferença significativa.

Os vinhos SJFE apresentaram menores teores médios de EMP (331,34 ng.L<sup>-1</sup> ± 4,31 ng.L<sup>-1</sup>), IPMP (361,85 ng.L<sup>-1</sup> ± 28,46 ng.L<sup>-1</sup>), SBMP (681,55 ng.L<sup>-1</sup> ± 79,46 ng.L<sup>-1</sup>) e IBMP (164,96 ng.L<sup>-1</sup> ± 28,40 ng.L<sup>-1</sup>) em relação aos vinhos SJFC, que apresentaram teores médios de EMP (354,72 ng.L<sup>-1</sup> ± 9,76 ng.L<sup>-1</sup>), IPMP (408,87 ng.L<sup>-1</sup> ± 11,00 ng.L<sup>-1</sup>), SBMP (790,62 ng.L<sup>-1</sup> ± 74,43 ng.L<sup>-1</sup>) e IBMP (329,33 ng.L<sup>-1</sup> ± 28,08 ng.L<sup>-1</sup>). Os teores de IPMP ( $p = 5,41 \times 10^{-2}$ ) e IBMP ( $p = 1,99 \times 10^{-3}$ ) apresentaram teores significativamente menores nos vinhos SJFE (Figura 14).

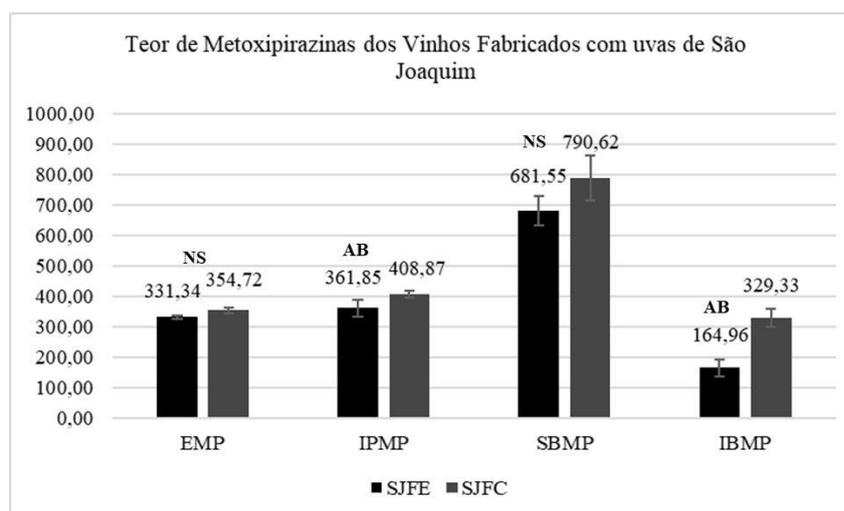


Figura 13: Teor de Metoxipirazinas dos vinhos elaborados por fermentação espontânea e com fermento comercial de uvas provenientes de São Joaquim-SC.

No gráfico: SJFE São Joaquim fermentação espontânea, SJFC São Joaquim fermentação com fermento comercial, EMP (2-etil-5(6) -metoxipirazina), IPMP (2-Isopropil-3-metoxipirazina), SBMP (2-sec-butil-3-metoxi-pirazina) e IBMP (2-Isobutil-3-metoxi-pirazina). NS não significativo, AB apresenta diferença significativa.



## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 CARACTERÍSTICAS COMPARATIVAS DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E UTILIZANDO FERMENTO COMERCIAL DOS MOSTOS PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM

A fermentação alcoólica do mosto de Campo Belo do Sul, tanto para o tratamento de fermentação espontânea (CBSFE) quanto para o tratamento de fermentação utilizando fermento comercial (CBSFC) apresentou um período de adaptação de 6 dias. O atraso no início do processo fermentativo pode ser ocasionado pelos fatores temperatura inicial do mosto, composição do mosto e o número de UFC.mL<sup>-1</sup> presente no mosto (RIBÉREAU-GAYON et al, 2006).

Vinhos CBSFE e SJFE apresentaram um declínio mais lento da densidade em comparação aos vinhos elaborados utilizando fermento comercial (Tabela 1). Segundo Sgouros et al. (2018), as leveduras do tipo não *Saccharomyces* apresentam uma menor capacidade de converter o nitrogênio em biomassa, utilizando os compostos de carbono no metabolismo respiratório em detrimento ao metabolismo fermentativo, diminuindo assim o conteúdo de etanol nos vinhos elaborados (FLEET 2003;SUÁREZ-LEPE; MORATA 2012).

### 6.2 COMPARAÇÃO DA CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E FERMENTAÇÃO COM FERMENTO COMERCIAL

Nos dias 13 de abril de 2020 ao dia 17 de abril de 2020 ocorreu a fase II da fermentação e essa fase é caracterizada por um aumento no número de UFC.mL<sup>-1</sup> e consequentemente um maior consumo de açúcar e o início do aumento crescente na produção do álcool. A fermentação alcoólica apresentou um maior número de UFC.mL<sup>-1</sup>, mas o consumo de açúcar e o aumento do teor alcoólico foram menores em relação ao consumo de açúcar da fermentação com fermento comercial. Na fase II da fermentação ocorre o aumento populacional e o início da produção de etanol a partir do consumo de glicose e essa fase inicia-se a partir do quinto dia do processo fermentativo (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2005).

O processo de fermentação espontânea apresentou um menor consumo de açúcar na fase III, resultando em menor produção de etanol. Para os parâmetros consumo de açúcar e

teor alcoólico as diferenças seguiram significativas até o término da fermentação e assim os vinhos elaborados por fermentação espontânea apresentaram menor teor alcoólico e maior conteúdo de açúcares residuais em comparação aos vinhos elaborados por fermentação com fermento comercial. Na fase III da fermentação ocorre uma diminuição do número de UFC.mL<sup>-1</sup>, o açúcar é consumido na biossíntese do etanol e nessa etapa os metabólitos primários e secundários da fermentação alcoólica exercem um efeito antagônico sobre o crescimento microbiano, levando ao declínio do número de UFC.mL<sup>-1</sup> (ANDORRÀ et al. 2008 e LONVAUD et al. 2018).

A origem da uva influenciou as características da fermentação, uma vez que os parâmetros avaliados demonstraram que fermentação das uvas provenientes de Campo Belo do Sul apresentou maior número de UFC.mL<sup>-1</sup>, menor consumo de açúcar e teor alcoólico inferior ao processo fermentativo das uvas de São Joaquim.

A fermentação espontânea influenciou nos parâmetros avaliados para a cinética da fermentação, apresentando um maior número de UFC.mL<sup>-1</sup>, maior teor de açúcares residuais e menor teor alcoólico.

### 6.3 DIVERSIDADE DE LEVEDURAS ISOLADAS DO MOSTO DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DE UVAS PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM

As colônias isoladas do mosto da fermentação espontânea e do mosto da fermentação com fermento comercial das uvas de Campo Belo do Sul são diferentes e apresentaram similaridade baixa, indicando que não são as mesmas colônias responsáveis pelo processo fermentativo. A similaridade de 27,27% entre as colônias isoladas do mosto e das fases II e III da fermentação espontânea indicam que não há dominância durante o processo fermentativo, e cada fase apresenta grupos específicos de leveduras atuantes. Comparando a fermentação com fermento comercial é perceptível uma maior similaridade entre as fases da fermentação, indicando que existe um grupo de microrganismos que atua em ambas as fases da fermentação.

Sgouros et al. (2018) destaca que leveduras do tipo não-Saccharomyces iniciam o processo fermentativo, mas por não possuírem meios de sobreviver ao antagonismo microbiano ou por não tolerarem altas concentrações de etanol não são detectáveis na fase final da fermentação alcoólica.

As colônias isoladas do mosto e das fases II e III da fermentação espontânea e da fermentação com fermento comercial não apresentaram similaridade, demonstrando que as colônias que participam do processo fermentativo nos dois processos são distintas. Na fermentação espontânea a baixa similaridade entre o mosto e as fases II e III da fermentação das uvas provenientes de São Joaquim demonstra que a fermentação não acontece com a dominância de um único tipo de colônia e o mesmo foi observado para a fermentação com fermento comercial.

Algumas espécies de leveduras não *Saccharomyces* desempenham um papel importante na formação de metabólitos nos estágios finais da fermentação. Leveduras tais como *C. zemplina* e *Z. baili*, apresentam capacidade de manter populações viáveis e até mesmo serem isoladas dos estágios finais da fermentação, aumentando a diversidade da fermentação espontânea e diminuindo a dominância da levedura *S. cerevisiae* ao comparar a fermentação com fermento comercial (TORIJA et al 2001; Ciani; Comitini 2018; ).

#### 6.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS MOSTOS E VINHOS CABERNET SAUVIGNON PROVENIENTES DE CAMPO BELO DO SUL E SÃO JOAQUIM

Os vinhos elaborados por fermentação espontânea e utilizando fermento comercial (NOS DOIS LOCAIS??) atendem aos parâmetros exigidos pela legislação para os atributos acidez total (mín.40 meq. L<sup>-1</sup>- Máx.130 meq. L<sup>-1</sup>), acidez volátil (máx. 20 meq. L<sup>-1</sup>) e extrato seco (mín. 21g.L<sup>-1</sup>). O teor alcoólico dos vinhos elaborados utilizando fermento comercial não atenderam a legislação, uma vez que para os vinhos nobres a graduação alcoólica deve estar entre 14,1 e 16 % v/v. Quanto ao teor de açúcares residuais os vinhos elaborados enquadraram-se na categoria Demi-sec (BRASIL, 2018).

Os valores de acidez total titulável e pH nos vinhos CBSFE (73,53 meq. L<sup>-1</sup>, pH 3,94) e SJFE (108,23 meq. L<sup>-1</sup>, pH 3,89) quando comparados aos vinhos CBSFC (79,03 meq. L<sup>-1</sup> e pH 3,91) e SJFC (113,8 meq. L<sup>-1</sup>, pH 3,87) foram menores para a acidez total titulável e maiores para o pH e a fermentação espontânea apresentou valores mais baixos de acidez total e maiores valores de pH. Por sua vez para os vinhos SJFE e SJFC não foram evidenciadas diferenças significativas de acidez total e pH.

A fermentação espontânea influenciou o conteúdo de ácidos presentes na matriz do vinho originado de uvas de Campo Belo do Sul. Por sua vez para os vinhos elaborados com uvas de São Joaquim o efeito do *terroir* sobre a composição da matriz ácida dos vinhos

elaborados foi predominante em relação a fermentação espontânea. Segundo Vieira et al. (2013) no Planalto Catarinense de Santa Catarina fatores tais como tipo de solo e precipitação influenciam os valores de acidez total titulável e pH das uvas Cabernet Sauvignon e consequentemente dos vinhos elaborados.

Os vinhos CBSFE e SJFE apresentaram acidez volátil mais alta comparativamente aos vinhos CBSFC e SJFC. Zhao et al. (2021) ao estudarem vinhos Cabernet Sauvignon elaborados por fermentação espontânea, demonstraram que esses vinhos apresentavam um incremento da acidez volátil, e atribuíram o fato a presença de leveduras do tipo não *Saccharomyces*.

Os vinhos SJFE apresentaram diferença significativa no conteúdo de açúcares redutores quando comparado aos vinhos SJFC. Os açúcares redutores são os principais responsáveis pela biossíntese do etanol e o conteúdo final dos açúcares redutores pode ser influenciado pela presença de diferentes espécies de leveduras durante o processo fermentativo (Lonvaud et al. 2018; Aplin et al. 2019).

Os vinhos CBSFE e SJFE apresentaram uma diminuição significativa do teor alcoólico comparativamente aos vinhos CBSFC. Em estudos realizados por Gonzalez et al. (2013); Liang et al. (2013), Zhao et al. (2021) os vinhos elaborados por fermentação espontânea ou utilizando leveduras autóctones isoladas, o teor alcoólico foi menor em relação aos vinhos elaborados por fermento comercial.

Maiores teores de antocianinas, compostos fenólicos e extrato seco total foram observados no vinho CBSFE comparativamente aos vinhos CBSFC e essa diferença não foi observada quando comparada com os vinhos SJFE e SJFC.

Ao estudar o efeito da fermentação espontânea de vinhos Cabernet Sauvignon jovens Sharma et al. (2012) observaram um incremento no teor de polifenóis em vinhos elaborados com leveduras autóctones isoladas. Sorrentino et al. (2012) avaliou o efeito de leveduras autóctones sobre o conteúdo de polifenóis e antocianinas e observaram um aumento no conteúdo desses compostos no vinho produzido por leveduras autóctones.

O índice de tonalidade e de intensidade de cor foram menores nos vinhos CBSFE e maiores nos vinhos SJFE. A fermentação espontânea causou um aumento desses índices uma vez que a cor dos vinhos é avaliada quanto a sua luminosidade e a combinação das cores vermelho, amarelo e azul. As antocianinas são os principais componentes responsáveis pela coloração do vinho tinto e durante o processo de fermentação ocorrem reações entre as antocianinas e alguns metabólitos secundários de leveduras, o que pode influenciar na cor dos vinhos (HAYASAKA et al. 2007)

Maiores teores de antocianinas, compostos fenólicos e extrato seco total foram observados nos vinhos CBSFE sendo essas diferenças significativas quando comparado aos vinhos CBSFC. Essa diferença não foi observada quando comparado com os vinhos SJFE e SJFC.

Ao estudar o efeito da fermentação espontânea de vinhos Cabernet Sauvignon, Sharma et al. (2012) observaram um incremento nos teores de polifenóis em vinhos elaborados com leveduras autóctones isoladas. Avaliando o efeito de leveduras autóctones sobre o conteúdo de polifenóis e antocianinas, Sorrentino et al. (2012) observaram um aumento no conteúdo desses compostos no vinho produzido por leveduras autóctones.

#### 6.5 TEORES DE METOXIPIRAZINAS NOS VINHOS ELABORADOS POR FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E COM FERMENTO COMERCIAL COM UVAS DE CAMPO BELO DO SUL -SC E SÃO JOAQUIM-SC

A fermentação espontânea provocou a diminuição do conteúdo de metoxipirazinas nos vinhos provindos de uvas de Campo Belo do Sul, reduzindo significativamente a concentração de IPMP, SBMP e IBMP comparativamente aos vinhos CBSFC. Uma redução também foi observada para o teor de EMP nos vinhos de fermentação espontânea CBSFC, mas não foi significativa em relação aos vinhos com fermentação comercial CBSFC.

Nos vinhos provenientes de uvas de São Joaquim a fermentação espontânea diminuiu os teores de IPMP e IBMP em relação aos vinhos elaborados com fermento comercial e, a concentração de EMP e SBMP também sofreram diminuição durante a fermentação espontânea SJFE, mas essa redução da concentração não foi significativa em relação ao vinho com fermento comercial SJFC.

Ao avaliar vinhos Cabernet Sauvignon elaborados em São Joaquim, Tavares (2020) observou teores de IBMP de  $323 \text{ ng. L}^{-1} \pm 57 \text{ ng. L}^{-1}$ , valores esses superiores ao observados no presente trabalho tanto nos vinhos de fermentação espontânea quanto nos vinhos com fermento comercial. Falcão (2008), ao avaliar vinhos Cabernet Sauvignon de São Joaquim obteve teores de  $400 \text{ ng. L}^{-1}$  de IBMP, valores superiores aos obtidos no presente estudo.

Os teores de IPMP observados por Tavares (2020) e Falcão (2008) ficaram abaixo do limite de detecção dos métodos empregados e no presente trabalho foi possível observar que vinhos de fermentação espontânea apresentam teores significativamente menores de IPMP em relação aos vinhos com fermento comercial.

Os teores de SBMP e EMP, também foram avaliados por Tavares (2020) os quais não foram detectados por estarem abaixo do limite de detecção do método utilizado. No presente trabalho foi possível determinar valores significativamente menores de SBMP em vinhos CBSFE relativamente aos vinhos CBSFC. Os vinhos SJFE apesar de apresentarem menores teores de SBMP a diferença não foi significativa em relação aos vinhos SJFC. Os teores de EMP não diferiram significativamente entre os vinhos CBSFE e SJFE e os vinhos CBSFC e SJFC.

Todos os vinhos avaliados apresentaram valores de IPMP, IBMP e SBMP superiores aos valores de percepção olfativa caracterizando a presença desses compostos como *off-flavors*. Os valores de EMP observados no presente trabalho estão abaixo do valor de percepção olfativa da molécula.

Um dos fatores que podem estar relacionados aos altos teores de metoxipirazinas nos vinhos avaliados é a altitude. Um estudo de quantificação de metoxipirazinas demonstrou que vinhos elaborados em regiões de altitude elevada apresentam teores mais elevados de metoxipirazinas quando comparados a vinhos elaborados em regiões de baixa altitude (Falcão, 2008)



## 7. CONCLUSÃO

No processo fermentativo a fermentação espontânea apresentou um declínio mais lento da densidade do mosto, a partir da fase II da fermentação o declínio da densidade é diferente em relação a fermentação comercial. Esses resultados demonstram que o processo ocorre de maneira mais lenta na fermentação espontânea, até a sua estabilização na fase III do processo fermentativo.

A cinética da fermentação alcoólica dos vinhos sofreu influência do processo de fermentação e a fermentação espontânea apresentou maior número de UFC.mL<sup>-1</sup> e consumo mais lento de açúcares e menor teor alcoólico durante o processo fermentativo comparativamente a fermentação com fermento comercial.

O processo de fermentação espontânea das uvas de Campo Belo do Sul mostrou maior similaridade entre as colônias isoladas entre o mosto e as fases II e III da fermentação, demonstrando uma menor diversidade microbiana dessas uvas. A similaridade entre as colônias isoladas da fermentação espontânea e da fermentação comercial foi baixa sendo possível concluir que não existe similaridade entre a microbiota da fermentação espontânea e da fermentação com fermento comercial para a fermentação conduzida com uvas de Campo Belo do Sul.

Na fermentação espontânea das uvas de São Joaquim não ocorreu similaridade entre as colônias isoladas da fermentação espontânea e da fermentação com fermento comercial e o mesmo foi observado para as fases da fermentação demonstrando que ocorreu a sucessão microbiana tanto na fermentação espontânea quanto na fermentação com fermento comercial.

A fermentação espontânea nos vinhos originados de uvas de Campo Belo do Sul apresentou as características de acidez, teor alcoólico, extrato seco total, índice de cor e índice de tonalidade com valores menores do que aquelas obtidas no vinho obtido com fermento comercial CBSFC. Por sua vez os teores de acidez volátil, pH, antocianinas e polifenóis mostraram-se mais elevados em resposta à fermentação natural, não apresentando diferenças no que tange ao açúcar residual em relação aos vinhos de fermentação comercial,

No vinho SJFE a fermentação espontânea produziu vinhos com maiores teores de acidez volátil, açúcares residuais e índice de cor, e menor teor alcoólico e polifenóis em relação ao vinho de fermentação com fermento comercial. A acidez total, o pH, os açúcares residuais, a tonalidade e o conteúdo de antocianinas não apresentaram diferenças entre os dois sistemas de fermentação.

A fermentação espontânea influencia o processo fermentativo desde o início da fermentação e afeta as características enológicas dos vinhos elaborados. Nos vinhos de Campo Belo do Sul a fermentação espontânea aumentou o conteúdo de polifenóis e antocianinas e diminuiu o teor alcoólico. Já nos vinhos de São Joaquim a fermentação espontânea aumentou no conteúdo de polifenóis e de reduziu o teor alcoólico. O teor de metoxipirazinas é influenciado pela fermentação espontânea reduzindo os teores desses compostos considerados “*off-flavors*” nos vinhos.

Assim, conclui-se que a fermentação espontânea se configura como uma alternativa viável para evidenciar as características físico-químicas dos vinhos avaliadas no presente trabalho, e apresenta potencial para a diminuição do teor de metoxipirazinas de vinhos de Altitude.

ACRESCENTAR O ITEM CONSIDERAÇÕES FINAIS



## REFERÊNCIAS

ANDORRÀ, I.; LANDI, S.; MAS, A.; GUILLAMÓ, J. M.; ESTEVE-ZARZOSO, B. Effect of oenological practices on microbial populations using culture-independent techniques. , 2008. Disponível em: <[www.elsevier.com/locate/fm](http://www.elsevier.com/locate/fm)>. .

APLIN, J. J.; WHITE, K. P.; EDWARDS, C. G. Growth and metabolism of non-Saccharomyces yeasts isolated from Washington state vineyards in media and high sugar grape musts. **Food Microbiology**, v. 77, p. 158–165, 2019. Academic Press. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002018304477>>. .

ARIAS-PÉREZ et al. Some Clues About the Changes in Wine Aroma Composition Associated to the Maturation of “Neutral” Grapes. **Food Chemistry**, v. 320, 2020. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620304726>  
BANCO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DO EXTREMO SUL – BRDE.  
VITIVINICULTURA EM SANTA CATARINA Situação atual e perspectivas. 2005.

BELDA, Ignacio et al. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 189, 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/2/189>  
Acesso em: 15 de julho de 2020.

BOKULICH, N. A.; THORNGATE, J. H.; RICHARDSON, P. M.; MILLS, D. A. Microbialbiogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 111(1), p.E139-E148.2014.

BORGHEZAN, Marcelo; MALINOVSKI, Luciane Isabel; SILVA, Aparecido Lima da. Ecofisiologia da Videira em Regiões de Altitude de Santa Catarina. In: PANDOLFO, Cristina; VIANNA, Luiz Fernando de Novaes. **Vinhos de Altitude de Santa Catarina: caracterização da região produtora, indicadores e instrumentos para proposição de uma indicação geográfica**. Florianópolis: Epagri, 2020. p. 121-134.

BRASIL. INPI Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Revista da Propriedade Industrial (RPI) 2634, de 29 de junho de 2021.

BRIGHENTI, A. F.; BRIGHENTI, E.; DA SILVEIRA PASA, M. Vitivinicultura de altitude: **realidade e perspectivas**. 2016.

CAPOZZI, V.; GAROFALO, C.; CHIRIATTI, M. A.; GRIECO, F.; SPANO, G. Microbial *terroir* and food innovation: the case of yeast biodiversity in wine. **Microbiological research**, n.181, p.75-83. 2015.

CHENG, T. B., REINECCIUS, G. A., BJORKLUND, J. A., LEETE, E. Biosynthesis of 2-methoxy-3-Isopropylpyrazine in *Pseudomonas perolens*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 1009–1012. 1991.

CIANI, M.; COMITINI, F. Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Red Winemaking. In: **Red Wine Technology**. Academic Press, p. 51-68. 2019.

CLAVIJO, A.; CALDERÓN, I. L.; PANEQUE, P. Diversity of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in three red grape varieties cultured in the Serrania de Ronda (Spain) vine-growing region. **International journal of food microbiology**, v. 143, n. 3, p. 241-245, 2010.

COMITINI, F.; CAPECE, A.; CIANI, M.; ROMANO, P. New insights on the use of wine yeasts. **Current Opinion in Food Science**, n. 13, p. 44-49. 2017.

DARRIET, Philippe et al. Aroma and aroma precursors in grape berry. **The biochemistry of the grape berry**, p. 111-136, 2012.

DEL CARMEN PORTILLO, Maria; MAS, Albert. Analysis of microbial diversity and dynamics during wine fermentation of Grenache grape variety by high-throughput barcoding sequencing. **LWT-Food Science and Technology**, v. 72, p. 317-321, 2016.

DUNLEVY, J. D., DENNIS, E. G., SOOLE, K. L., PERKINS, M. V., DAVIES, C., BOSS, P. K. A methyltransferase essential for the methoxypyrazine-derived flavour of wine. **Plant Journal**, 75(4), 606–617. 2013

EMBRAPA- UVA E VINHO. **Indicações Geográficas de Vinhos do Brasil**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/indicacoes-geograficas-de-vinhos-do-brasil>. Acesso em: 26 mars. 2020.

ENGLEZOS, V.; RANTSIOU, K.; TORCHIO, F.; ROLLE, L.; GERBI, V., & COCOLIN, L. Exploitation of the non-*Saccharomyces* yeast *Starmerellabacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) in wine fermentation: physiological and molecular characterizations. **International Journal of Food Microbiology**, n. 199, p. 33-40. 2015.

FABJANOWICZ, M.; KOSEK, K.; PŁOTKA-WASYLKA, J.; NAMIEŚNIK, J. Evaluation of the influence of grapevine growing conditions on wine quality. , v. 150, p. 1579–1584, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00706-019-02454-y>>. .

FALCÃO, Leila Denise et al. Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (GC–olfactometry). **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 497-505, 2008.

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, v. 86, n. 1–2, p. 11–22, 2003. Elsevier.

FONTANA, A.R., BOTTINI, R. QuEChERS Method for the Determination of 3 Alkyl 2 Methoxypyrazines in Wines by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**. v. 9, p.3352–3359. 2016. Springer  
Acesso em: <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0532-4>

FRANCESCA, N.; GAGLIO, R., ALFONZO, A.; SETTANNI, L.; CORONA, O., MAZZEI, P.; ... MOSCHETTI, G. The wine: typicality or mere diversity? The effect of spontaneous fermentations and biotic factors on the characteristics of wine. **Agriculture and agricultural science procedia**, n. 8, p.769-773. 2016.

GAENSLY, F. Seleção de leveduras vínicas autóctones produtoras da enzima  $\beta$ -glicosidase em mosto de uvas *Vitis labrusca* visando o aumento do teor de resveratrol livre. **Embrapa Uva e Vinho-Tese de Doutorado (ALICE)**, 2016

GUERRA, Celito Crivellaro. Polifenóis da uva e do vinho. **Embrapa Uva e Vinho-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2012.

HARBERTSON, James F. et al. Glucose, fructose and sucrose increase the solubility of protein–tannin complexes and at high concentration, glucose and sucrose interfere with bisulphite bleaching of wine pigments. **Food chemistry**, v. 138, n. 1, p. 556-563, 2013.

HEARD, G. M., FLEET, G. H. Occurrence, and growth of yeast species during the fermentation of some Australian wines. **Foodtechnology in Australia**, v. 38, n. 1, p. 22-25, 1986.

<https://winesvinesanalytics.com/columns/section/126/article/187725/Understanding-emTerroir-em-Expression> Acesso em: 18 de mar. de 2020.

JARA, C.; LAURIE, V. F.; MAS, A.; ROMERO, J. Microbial terroir in Chilean valleys: **Diversity of non-conventional yeast. Frontiers in microbiology**, n. 7, 2016.

LLEIXÀ, J.; MANZANO, M.; MAS, A.; PORTILLO, M. D. C. *Saccharomyces*, and non-*Saccharomyces* competition during microvinification under different sugar and nitrogen conditions. **Frontiers in microbiology**, n. 7, 1959. 2016.

LIANG, H. Y.; CHEN, J. Y.; REEVES, M.; HAN, B. Z. Aromatic and sensorial profiles of young Cabernet Sauvignon wines fermented by different Chinese autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Food Research International**, 2013.

LUCIANO, RODRIGO V.; ALBUQUERQUE, J. A.; RUFATO, L.; MIQUELLUTI, D. J.; WARMLING, M. T. Condições meteorológicas e tipo de solo na composição da uva “cabernet sauvignon”. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 1, 2013.

ANDORRÀ, I.; LANDI, S.; MAS, A.; GUILLAMÓ, J. M.; ESTEVE-ZARZOSO, B. Effect of oenological practices on microbial populations using culture-independent techniques. , 2008. Disponível em: <[www.elsevier.com/locate/fm](http://www.elsevier.com/locate/fm)>. .

APLIN, J. J.; WHITE, K. P.; EDWARDS, C. G. Growth and metabolism of non-*Saccharomyces* yeasts isolated from Washington state vineyards in media and high sugar grape musts. **Food Microbiology**, v. 77, p. 158–165, 2019. Academic Press. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002018304477>>. .

CIANI, M.; COMITINI, F. Use of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Red Winemaking. **Red Wine Technology**. p.51–68, 2018.

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, v. 86, n. 1–2, p. 11–22, 2003. Elsevier.

GONZALEZ, R.; QUIRÓS, M.; MORALES, P. Yeast respiration of sugars by non-*Saccharomyces* yeast species: A promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines. **Trends in Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 55–61, 2013. Elsevier.

LIANG, H. Y.; CHEN, J. Y.; REEVES, M.; HAN, B. Z. Aromatic and sensorial profiles of

- young Cabernet Sauvignon wines fermented by different Chinese autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Food Research International**, 2013.
- LONVAUD, A.; ARNEBORG, N.; BOIDO, E.; et al. Altered Fermentation Performances, Growth, and Metabolic Footprints Reveal Competition for Nutrients between Yeast Species Inoculated in Synthetic Grape Juice-Like Medium. **Frontiers in Microbiology** | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org), v. 9, p. 196, 2018. Disponível em: <[www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)>. .
- LUCIANO, RODRIGO V.; ALBUQUERQUE, J. A.; RUFATO, L.; MIQUELLUTI, D. J.; WARMLING, M. T. Condições meteorológicas e tipo de solo na composição da uva “cabernet sauvignon”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, 2013.
- MOREIRA, N.; PINA, C.; MENDES, F.; et al. Volatile compounds contribution of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora uvarum* during red wine vinifications. **Food Control**, v. 22, n. 5, p. 662–667, 2011. Elsevier.
- RAUHUT, D.; KIENE, F. Aromatic Compounds in Red Varieties. **Red Wine Technology**, 2019.
- SGOUROS, G.; CHALVANTZI, I.; MALLOUCHOS, A.; et al. fermentation Biodiversity and Enological Potential of Non-Saccharomyces Yeasts from Nemean Vineyards. . Disponível em: <<http://www.macrogen.com>>. Acesso em: 25/1/2021.
- SHARMA, A. K.; SINGH, P. N.; SAWANT, S. D. Evaluation of Fermentation Efficiency of Yeast Strains and their Effect on Quality of Young Wines. **Indian Journal of Microbiology**, 2012.
- SORRENTINO, A.; BOSCAINO, F.; COZZOLINO, R.; et al. Autochthonous fermentation starters for the production of Aglianico wines. Chemical Engineering Transactions. **Anais... ,** 2012.
- SUÁREZ-LEPE, J. A.; MORATA, A. New trends in yeast selection for winemaking. **Trends in Food Science and Technology**, 2012.
- VILLANO, C.; LISANTI, M. T.; GAMBUTI, A.; et al. Wine varietal authentication based on phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks. **Food Control**, v. 80, p. 1–10, 2017. Elsevier.
- ZHAO, Y.; SUN, Q.; ZHU, S.; et al. Biodiversity of non-Saccharomyces yeasts associated with spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon wines from Shangri-La wine region, China. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 2021. Nature Research.
- LONGIN, Cédric; GUILLOUX-BENATIER, Michèle; ALEXANDRE, Hervé. Design and performance testing of a DNA extraction assay for sensitive and reliable quantification of acetic acid bacteria directly in red wine using real time PCR. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 831, 2016.
- LONVAUD, A.; ARNEBORG, N.; BOIDO, E.; et al. Altered Fermentation Performances, Growth, and Metabolic Footprints Reveal Competition for Nutrients between Yeast Species Inoculated in Synthetic Grape Juice-Like Medium. **Frontiers in Microbiology** | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org), v. 9, p. 196, 2018. Disponível em: <[www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)>. .
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Indicações Geográficas**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/indicacao-geografica/o-que-e-indicacao-geografica-ig>Acesso em:26 de fev. de 2020.
- MARCON FILHO, J. L.; RUFATO, L.; BOGO, A., MACEDO, T. A. D.; WÜRZ, D. A.; KRETZSCHMAR, A. A. Viticultural performance of Cabernet Sauvignon clones in highland region of southern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v 41 n. 5. 2019.

MARTÍNEZ-GIL, Ana M. et al. Volatile compounds formation in alcoholic fermentation from grapes collected at 2 maturation stages: Influence of nitrogen compounds and grape variety. **Journal of food science**, v. 77, n. 1, p. C71-C79, 2012.

MAS, A.; PADILLA, B.; ESTEVE-ZARZOSO, B.; BELTRAN, G.; REGUANT, C.; BORDONS, A. Taking advantage of natural biodiversity for wine making: The WILDWINE Project. **Agric. Agric. Sci. Procedia**, n. 8, p.4-9. 2016.

MCGOVERN, Patrick E. **Ancient wine: the search for the origins of viniculture**. Princeton University Press, 2003.

MEDINA, K.; BOIDO, E.; DELLACASSA, E.; CARRAU, F. Growth of non-Saccharomyces yeasts affects nutrient availability for *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. **International journal of food microbiology**, v. 157 n. 2, p. 245-250. 2012.

MIRÁS-AVALOS, José Manuel et al. Amino Acid Profiles to Differentiate White Wines from Three Autochthonous Galician Varieties. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 114, 2020.  
Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/2/114> Acesso em: 15 de julho de 2020.

MOREIRA, C. Fermentação. **Revista de Ciência Elementar**, v. 3 n.2 .2015.

MOZZON, M.; SAVINI, S.; BOSELLI, E.; THORNGATE, J. H. The herbaceous character of wines. **Italian Journal of Food Science**, v 28 n. 2, p.190-207. 2016.

MURRAY, K. E., WHITFIELD, F. B. The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in raw vegetables. **Journal Scienc. Food Agricultural**. v. 26 p. 973–986.1975.

MURRAY, K. E., SHIPTON, J., WHITFIELD, F. B. 2-Methoxypyrazines and the flavor of green peas (*Pisum sativum*). **Chemistry and Industry**, v 7, p. 897–898. 1970.

MUSARURWA, Hannibal; MCKINNON, Alexander; BAUER, Florian. The complex relationship between wine aroma and amino acid utilisation by yeast. 2016.  
Disponível em: <https://www.wineland.co.za/the-complex-relationship-between-wine-aroma-and-amino-acid-utilisation-by-yeast/> Acesso em: 15 de Julho de 2020.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-6**. Artmed Editora, 2015.

ANDORRÀ, I.; LANDI, S.; MAS, A.; GUILLAMÓ, J. M.; ESTEVE-ZARZOSO, B. Effect of oenological practices on microbial populations using culture-independent techniques. , 2008. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/fm>. .

APLIN, J. J.; WHITE, K. P.; EDWARDS, C. G. Growth and metabolism of non-Saccharomyces yeasts isolated from Washington state vineyards in media and high sugar grape musts. **Food Microbiology**, v. 77, p. 158–165, 2019. Academic Press. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002018304477>>. .

CIANI, M.; COMITINI, F. Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Red Winemaking. **Red Wine Technology**. p.51–68, 2018.

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, v. 86, n. 1–2, p. 11–22, 2003. Elsevier.

GONZALEZ, R.; QUIRÓS, M.; MORALES, P. Yeast respiration of sugars by non-Saccharomyces yeast species: A promising and barely explored approach to lowering alcohol

- content of wines. **Trends in Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 55–61, 2013. Elsevier.
- LIANG, H. Y.; CHEN, J. Y.; REEVES, M.; HAN, B. Z. Aromatic and sensorial profiles of young Cabernet Sauvignon wines fermented by different Chinese autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Food Research International**, 2013.
- LONVAUD, A.; ARNEBORG, N.; BOIDO, E.; et al. Altered Fermentation Performances, Growth, and Metabolic Footprints Reveal Competition for Nutrients between Yeast Species Inoculated in Synthetic Grape Juice-Like Medium. **Frontiers in Microbiology** | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org), v. 9, p. 196, 2018. Disponível em: <[www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)>. .
- LUCIANO, RODRIGO V.; ALBUQUERQUE, J. A.; RUFATO, L.; MIQUELLUTI, D. J.; WARMLING, M. T. Condições meteorológicas e tipo de solo na composição da uva “cabernet sauvignon”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, 2013.
- MOREIRA, N.; PINA, C.; MENDES, F.; et al. Volatile compounds contribution of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora uvarum* during red wine vinifications. **Food Control**, v. 22, n. 5, p. 662–667, 2011. Elsevier.
- RAUHUT, D.; KIENE, F. Aromatic Compounds in Red Varieties. **Red Wine Technology**, 2019.
- SGOUROS, G.; CHALVANTZI, I.; MALLOUCHOS, A.; et al. fermentation Biodiversity and Enological Potential of Non-*Saccharomyces* Yeasts from Nemean Vineyards. . Disponível em: <<http://www.macrogen.com>>. Acesso em: 25/1/2021.
- SHARMA, A. K.; SINGH, P. N.; SAWANT, S. D. Evaluation of Fermentation Efficiency of Yeast Strains and their Effect on Quality of Young Wines. **Indian Journal of Microbiology**, 2012.
- SORRENTINO, A.; BOSCAINO, F.; COZZOLINO, R.; et al. Autochthonous fermentation starters for the production of Aglianico wines. *Chemical Engineering Transactions*. **Anais...** , 2012.
- SUÁREZ-LEPE, J. A.; MORATA, A. New trends in yeast selection for winemaking. **Trends in Food Science and Technology**, 2012.
- VILLANO, C.; LISANTI, M. T.; GAMBUTI, A.; et al. Wine varietal authentication based on phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks. **Food Control**, v. 80, p. 1–10, 2017. Elsevier.
- ZHAO, Y.; SUN, Q.; ZHU, S.; et al. Biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts associated with spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon wines from Shangri-La wine region, China. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 2021. Nature Research.
- OIV- Organización Internacional del Vino. **Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos**, v. 2. 2018.
- PADILLA, B.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, D.; GONZÁLEZ, B.; IZIDORO, I.; ESTEVEZARZOSO, B.; BELTRAN, G.; MAS, A. Yeast biodiversity from DOQ prioratun inoculated fermentations. **Frontiers in microbiology**, n.7, 930p. 2016.
- PANDOLFO, C.; MASSIGNAN, A. M.; DE LIMA, M. F.; DA SILVA, A. L. Sistemas atmosféricos que afetam as variáveis meteorológicas e o teor de sólidos solúveis (oBrix) de frutos da videira Cabernet Sauvignon (*Vitisvinifera L.*) no período da maturação em Santa Catarina. **Agrometeoros**, n. 26n.1. 2018.
- POLO, Lucía et al. Influence of freezing temperatures prior to freeze-drying on viability of yeasts and lactic acid bacteria isolated from wine. **Journal of applied microbiology**, v. 122, n. 6, p. 1603-1614, 2017.

QUIRÓS, M.; ROJAS, V.; GONZALEZ, R. & MORALES, P. Selection of non-Saccharomyces yeast strains for reducing alcohol levels in wine by sugar respiration. **International journal of food microbiology**, n.181, p.85-91. 2014.

RAUHUT, D.; KIENE, F. Aromatic Compounds in Red Varieties. **Red Wine Technology**, 2019.

RIBÉREAU-GAYON, Pascal et al. (Ed.). Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications. John Wiley & Sons, 2006.

ROBINSON, A. L.; BOSS, P. K., SOLOMON, P. S.; TRENGOVE, R. D.; HEYMANN, H.; EBELER, S. E. Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 65 n. (1), p.25-42. 2014.

ROMANO, P.; FIORE, C.; PARAGGIO, M.; CARUSO, M.; CAPECE, A. Function of yeast species and strains in wine flavour. **International journal of food microbiology**, v. 86n.1, p.169-180. 2003.

ROSENDO, Tiago Gomes. **Louis Pasteur: um humanista do século XIX**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa- Faculdade de Ciências Médica. Porto, 2016.

ROSIER, Jean Pierre. A Viticultura de Altitude no Planalto Catarinense. **Territoiresduvin**, n. 9, 2018. Disponível em: <https://preo.u-bourgogne.fr/territoiresduvin/index.php?id=1705>  
Acesso em: 12 de jan. de 2020.

SANTA CATARINA. EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO. **Acompanhamento de Safras**. Disponível em: <https://cepa.epagri.sc.gov.br/index.php/produtos/acompanhamento-de-safras/>. Acesso em: 14 maio 2021.

SEGUIN, G. ‘Terroirs’ and pedology of wine growing. **Experientia**, v. 42, n. 8, p. 861-873, 1986.

SIDHU, Davinder et al. Methoxypyrazine analysis and influence of viticultural and enological procedures on their levels in grapes, musts, and wines. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 55, n. 4, p. 485-502, 2015.

SGOUROS, G.; CHALVANTZI, I.; MALLOUCHOS, A.; et al. fermentation Biodiversity and Enological Potential of Non-Saccharomyces Yeasts from Nemean Vineyards. . Disponível em: <<http://www.macrogen.com>>. Acesso em: 25/1/2021.

SHARMA, A. K.; SINGH, P. N.; SAWANT, S. D. Evaluation of Fermentation Efficiency of Yeast Strains and their Effect on Quality of Young Wines. **Indian Journal of Microbiology**, 2012.

SORRENTINO, A.; BOSCAINO, F.; COZZOLINO, R.; VOLPE, M. G.; IONATA, E., & LA CARA, F. Autochthonous fermentation starters for the production of aglianico wines. **Chemical Engineering Transactions**, n. 27, p.211-216. 2012.

STYGER, G.; PRIOR, B.; BAUER, F. F. Wine flavor and aroma. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2011.

SUÁREZ-LEPE, J. A.; MORATA, A. New trends in yeast selection for winemaking. **Trends in Food Science and Technology**, 2012.

TAVARES, A. **Desenvolvimento de metodologia para determinação de 3-alkil-2-metoxipirazinas em amostras de vinho empregando a técnica de microextração em fase sólida pelo modo headspace e cromatógrafo gasoso acoplado com detector de nitrogênio-fósforo**. Dissertação: (Programa de Pós Graduação em Química) Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2020.

TORIJA, M.J.; ROZÈS, N.; POBLET, M.; GUILLAMÓN, J.M.; MAS, A. Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: Comparison between two different wine-producing areas over a period of three years. *Antonie van Leeuwenhoek*, v.79, p. 345–352. 2001.

VAN LEEUWEN, C.; SEGUIN, G. The concept of *terroir* in viticulture. **Journal of wineresearch**, V.17 n.1, p.1-10. 2006.

VAN LEEUWEN, C.; ROBY, J. P.; DE PESSEGUIER, L. **PRACTICAL WINERY AND VINEYARD**.2017. Disponível em:

<https://winesvinesanalytics.com/columns/section/126/article/187725/Understanding-em-Terroir-em-Expression> Acesso em: 20 de fev. de 2020

VONTROBOVÁ, E.; KUBIZNIAKOVÁ, P.; FIALA, J.; SOCHOR, J.; MATOULKOVÁ, D. Autochthonous yeasts as one of the tools to produce wines by original technologies. **Kvasnyprumysl**, V. 65 n.1, p.38-45.

VILLANO, C.; LISANTI, M. T.; GAMBUTI, A.; et al. Wine varietal authentication based on phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks. **Food Control**, v. 80, p. 1–10, 2017. Elsevier.

VIANNA, L.F.; MASSIGNAN, A.M.; PANDOLFO, C.; DORTZBACH, D.; VIEIRA, V.F. Caracterização agrônômica e edafoclimática dos vinhedos de elevada altitude. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.15, p.215-226, 2016.

VILANOVA, M. et al. Assimilable nitrogen utilisation and production of volatile and non-volatile compounds in chemically defined medium by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 77, n. 1, p. 145-157, 2007.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-007-1145-z>

Acesso em: 15 de julho de 2020

VONTROBOVÁ, E.; KUBIZNIAKOVÁ, P.; FIALA, J.; SOCHOR, J.; MATOULKOVÁ, D. Autochthonous yeasts as one of the tools to produce wines by original technologies. **Kvasnyprumysl**, V. 65 n.1, p.38-45. 2019.

WELTER, J. F.; TOMAZETTI, T. C.; WELTER, L. J.; SIMON, S.; MALINOVSKI, L. I.; DA SILVA, A. L. Maturação tecnológica e fenólica das uvas das variedades Merlot e Cabernet Sauvignon em regiões de altitude de Santa Catarina. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-congrega URCAMP-2017**, p.2023-2031.

WHITENER, M. E. B.; CARLIN, S.; JACOBSON, D.; WEIGHILL, D.; DIVOL, B.; CONTERNO, L., ... VRHOVSEK, U. (2015). Early fermentation volatile metabolite profile of non-Saccharomyces yeasts in red and white grape must: **a targeted approach**. *LWT-Food Science and Technology*, V. 64 n. 1, p. 412-422.

WÜRZ, D. A.; BRIGHENTI, A. F.; MARCON FILHO, J. L.; ALLEBRANDT, R.; BEM, B. P. D.; RUFATO, L.; KRETZSCHMAR, A. A. Agronomic performance of 'Cabernet Sauvignon' with leaf removal management in a high-altitude region of Southern Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, V. 52 n.10, p.869-876. 2017.

WÜRZ, D. A.; MARCON FILHO, J. L.; ALLEBRANDT, R.; DE BEM, B. P.; RUFATO, L.; KRETZSCHMAR, A. A. Desempenho agrônômico da videira Cabernet Sauvignon em diferentes sistemas de condução em regiões de elevada altitude de Santa Catarina, Brasil. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, V. 18 n.1, p.73-80.2019.

ZHAO, Xianfang et al. Significance and transformation of 3-alkyl-2-methoxypyrazines through grapes to wine: olfactory properties, metabolism, biochemical regulation, and the HP–MP cycle. *Molecules*, v. 24, n. 24, p. 4598, 2019.

ZHAO, Y.; SUN, Q.; ZHU, S.; et al. Biodiversity of non-Saccharomyces yeasts associated with spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon wines from Shangri-La wine region, China. *Scientific Reports* |, v. 11, p. 5150, 123AD. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83216-x>>. .