

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

SARA BARBOSA BORGHI

**INFLUÊNCIA DE LEVEDURAS AUTÓCTONES EM DIFERENTES PROCESSOS
DE ELABORAÇÃO DE VINHOS TINTOS FINOS NA CAMPANHA GAÚCHA**

Dom Pedrito

2023

SARA BARBOSA BORGHI

**INFLUÊNCIA DE LEVEDURAS AUTÓCTONES EM DIFERENTES PROCESSOS
DE ELABORAÇÃO DE VINHOS TINTOS FINOS NA CAMPANHA GAÚCHA**

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

Orientador: Suziane Antes Jacobs

Coorientador: Bruno Jacobs

Dom Pedrito

2023

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

B732i Borghi, Sara Barbosa

Influência de leveduras autóctones em diferentes processos de elaboração de vinhos tintos finos na Campanha Gaúcha / Sara Barbosa Borghi – 2023.

64 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Pampa, ENOLOGIA, 2023.

“Orientador: Suziane Antes Jacobs”

1. Fermentação Sequencial. 2. *Saccharomyces cerevisiae*. 3. *Lachancea thermotolerans*. 4. Cabernet Sauvignon. 5. Tannat

SARA BARBOSA BORGHI

**INFLUÊNCIA DE LEVEDURAS AUTÓCTONES EM DIFERENTES PROCESSOS
DE ELABORAÇÃO DE VINHOS TINTOS FINOS NA CAMPANHA GAÚCHA**

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

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 07 de Dezembro de 2023.

Banca examinadora:



Prof.ª Dra. Suziane Antes Jacobs

Orientadora

UNIPAMPA



MSc. Gabriela Hermann Pötter

Guatambu Estância do Vinho



Documento assinado digitalmente

STEFANY GRUTZMANN ARCARI

Data: 18/12/2023 10:59:16 -0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr.º Stefany Arcari
(IFSC)

Dedico este trabalho a quem ama a ciência e se diverte com a pesquisa, aos que compartilharam a minha felicidade com essa.

AGRADECIMENTO

Particularmente sinto que a vida poderia ser definida como “uma sequência de experiências”, que só existem dada a presença das demais pessoas, algumas talvez mais abstratas e outras completamente palpáveis. Dessa forma gostaria de agradecer a algumas das que foram essenciais para a execução deste trabalho mas também para todo o meu processo de graduação, crescimento e autoconhecimento.

Aos meus pais, Shirley e Alessandro que desde sempre me disseram que tudo o que eu quisesse fazer ou aprender eu poderia, que me ajudariam e seriam presentes, e assim o fizeram, mesmo de tão longe.

A minha terapeuta, Lillian Carlos Campus, que me ensinou a respirar, a confiar nas pessoas, a acreditar em mim mesma, que descansar é fundamental para ser produtiva e que tudo bem ter vários sentimentos, e mesmo de longe e pós alta continua refletindo na minha vida.

A quem está presente na minha vida acadêmica desde o princípio, e participou de todas as minhas etapas nesse processo complexo e extraordinário, os meus amigos: Juliana Blaskesi, Matheus Ligabue, Alice Barbosa, Vitória Lima.

As pessoas que direta ou indiretamente me ajudaram durante o período experimental da pesquisa, cito aqui Darla Machado, Ketlyn Tramasol, Maria Eduarda Mello, Daphne Kammer, Victoria Soledad Fuentes, Hyoran Martins, Keila Aloy, Larissa Miranda, Cássia Santos e Tatiane Machado.

As mulheres que me formaram e me trouxeram brilho aos olhos sobre o tema aqui estudado muito antes de ele ser um desejo real: Mariliana Luiza Ferreira Alves, Fabiane de Mesquita Batista e Placidina Aparecida Martins.

As pessoas que moram comigo e tornam meus dias hilários, positivamente cansativos e que me fazem muito feliz apenas por existirem, nomeio aqui Kamily Moreira, Tailaine Cupsinski, Mailon Trevisan, Nathalin Rodrigues, Iago Soares, Varleira Branco, Alice Teixeira e Elen Lopes.

Luciano Vilela com sua lista de animais inimigos, seus sonhos mirabolantes e muito possíveis, por sempre conseguir comentar algo suficientemente aleatório a ponto de ser coeso e por me fazer playlists temáticas para viver plenamente o momento.

Gabriela Beber por ser uma fonte constante de inspiração, por ter sido minha mais importante professora de microbiologia, por conseguir me despertar amor por essa área de estudo, por ser minha incentivadora e amiga.

Bruno Jacobs, meu co-orientador e provavelmente a pessoa mais engraçadinha do mundo, por ter sempre um comentário cabível e terrivelmente engraçado, animando e trazendo felicidade a todos que o rodeiam, alegrando meus dias e me distraindo positivamente.

Suziane Antes, minha orientadora e professora para a qual olho todos os dias e penso “eu vou ser assim um dia”, por ser constantemente alegre, feliz, empolgada, apaixonada e sempre encarar as ideias mais malucas. Tenho a maior sorte do mundo por possuir alguém que me oriente, me inspire, me ajude, me encoraje e seja minha amiga.

A Vinícola Guatambu, por ser uma grande parceira na construção desta e outras pesquisas das quais fiz parte, em específico pela disponibilidade de uva e nutriente.

A Universidade Pública e as pessoas que a compõem, em especial a Unipampa. Ao curso de Enologia, e aos meus professores formadores, que se transformaram na minha família, um privilégio e um presente, nada disso seria possível sem vocês.

Muitíssimo obrigada, vocês fizeram de mim quem sou hoje e estarão presentes nesta pesquisa e na minha vida para sempre!

“L’aqua fá male, il vino fá cantare”.

Danilo Zottis

RESUMO

Utilizar leveduras selecionadas para a fermentação alcoólica de vinhos finos é uma estratégia que visa, sobretudo, garantir ao produto final características sensoriais e físico químicas de qualidade, além de assegurar que o processo comece e termine sem problemas como parada de fermentação e produção de compostos voláteis de pouco interesse. Selecionar leveduras de uma região vitivinícola agrega nas características do vinho ali produzido, uma vez que supõe-se que estas sejam mais adaptadas às condições locais, além de contribuir fortemente para a ideia de *terroir* do local. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar sensorial e quimicamente, vinhos Tannat e Cabernet Sauvignon fermentados com distintos protocolos de vinificação, utilizando leveduras comerciais e leveduras autóctones *Saccharomyces cerevisiae* e *Lachancea thermotolerans*, isoladas da região da Campanha Gaúcha. O experimento foi conduzido com três tratamentos em triplicata para cada variedade, o controle, T1 (*S. cerevisiae* comercial), o T2 com *S. cerevisiae* autóctone e o T3 com fermentação sequencial de *L. thermotolerans* e *S. cerevisiae* autóctones. O processo de vinificação ocorreu de acordo com protocolo padrão para tinto, e as leveduras autóctones foram multiplicadas em meio líquido YEPD. As análises físico-químicas foram realizadas por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) no equipamento WineScan SO₂, as análises de antocianinas e taninos totais foram realizadas via espectrofotometria e a atividade antioxidante por DPPH, além de análise sensorial utilizando fichas de perfil descritivo quantitativo. As leveduras autóctones impactaram na cinética de fermentação, provocando um leve atraso na conclusão da fermentação alcoólica (F.A) para o T3 e não conclusão da F.A. para o T2. A *L. thermotolerans* não foi capaz de impactar na produção de glicerol e ácido láctico, não aumentando a acidez total do vinho porém gerou aumento da acidez volátil e a *S. cerevisiae* foi capaz de aumentar a produção de glicerol e, sensorialmente, os tratamentos com leveduras autóctones foram descritos com maior complexidade aromática, melhor pontuados e preferidos pelos avaliadores, demonstrando o potencial e impacto sensorial positivo das cepas utilizadas.

Palavras-Chave: Fermentação sequencial, *Saccharomyces cerevisiae*; *Lachancea thermotolerans*; Cabernet Sauvignon; Tannat.

ABSTRACT

Using selected yeasts for the alcoholic fermentation of fine wines is a strategy that aims to guarantee quality sensory and physical-chemical characteristics to the final product, in addition to ensuring that the process begins and ends without problems such as fermentation stops and the production of volatile compounds of little interest. Selecting yeasts from a wine region adds to the characteristics of the wine, as they are supposed to be more adapted to local conditions, in addition to contributing to the idea of the local terroir. Therefore, the objective of this study was to characterize sensorially and chemically, Tannat and Cabernet Sauvignon wines fermented with different winemaking processes, using commercial and autochthonous yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Lachancea thermotolerans*, isolated from the Campanha Gaúcha region. The experiment was conducted with three treatments in triplicate for each variety, the control, T1 (commercial *S. cerevisiae*), T2 with autochthonous *S. cerevisiae* and T3 with sequential fermentation of *L. thermotolerans* and autochthonous *S. cerevisiae*. The vinification process took place according to a standard protocol for red wines, and the autochthonous yeasts were multiplied in YEPD liquid medium. The physicochemical analyzes were carried out by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) on the WineScan SO₂ equipment, anthocyanins and total tannins were carried out by spectrophotometry and the antioxidant activity by DPPH, in addition to sensory analysis using quantitative descriptive profile sheets. Autochthonous yeasts impacted the fermentation kinetics, resulting in a slight delay in the completion of alcoholic fermentation (F.A.) for T3 and non-completion of F.A. for T2. *L. thermotolerans* was not able to impact the production of glycerol and lactic acid, not increasing the total acidity of the wine, however it generated an increase in volatile acidity and *S. cerevisiae* was able to increase the production of glycerol and, sensorially, treatments with autochthonous yeasts were described with greater aromatic complexity, better scored and preferred by evaluators, showing the potential and positive sensorial impact of the strains used.

Keywords: Sequential fermentation; *Saccharomyces cerevisiae*; *Lachancea thermotolerans*; Cabernet Sauvignon; Tannat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da fermentação alcoólica	21
Figura 2 – Esquema da fermentação malolática.....	22
Figura 3 – Fases de desenvolvimento da levedura em meio fermentativo.....	23
Figura 4 - Fluxograma do processo de vinificação.....	37
Figura 5 - Gráfico de acompanhamento da evolução da fermentação de Tannat pela diminuição da densidade através do tempo.....	45
Figura 6 - Gráfico de acompanhamento da evolução da fermentação de Cabernet Sauvignon pela diminuição da densidade através do tempo.....	46
Figura 7 - Avaliação sensorial dos vinhos Tannat, produzidos na safra 2022/2023 vinificado com levedura <i>S. cerevisiae</i> Comercial (T1), levedura <i>S. cerevisiae</i> autóctone (T2) e <i>Lachancea thermotolerans</i> co-inoculada com <i>S. cerevisiae</i> autóctones (T3): análise visual (A); análise olfativa (B); análise gustativa (C) e avaliação global (D).....	48
Figura 8 - Avaliação sensorial dos vinhos Cabernet Sauvignon, produzidos na safra 2022/2023 vinificado com levedura <i>Saccharomyces</i> Comercial (T1), levedura <i>Saccharomyces</i> isoladas (T2) e <i>Lachancea thermotolerans</i> co-inoculada com <i>Saccharomyces</i> isolada (T3): análise visual (A); análise olfativa (B); análise gustativa (C) e avaliação global (D).....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento experimental.....	34
Tabela 2 – Caracterização físico-química do mosto de Tannat e Cabernet Sauvignon, produzidos na safra 2022/2023, com levedura comercial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (T1), levedura autóctone <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (T2) e leveduras autóctones <i>Lachancea thermotolerans</i> com co-inóculo de <i>S. cerevisiae</i> (T3).....	39
Tabela 3 – Caracterização físico-química de vinhos Tannat e Cabernet Sauvignon, produzidos na safra 2022/2023, com levedura comercial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (T1), levedura autóctone <i>S. cerevisiae</i> (T2) e leveduras autóctones <i>Lachancea thermotolerans</i> com co-inóculo de <i>S. cerevisiae</i> (T3).....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

°C - graus celsius

°GL - ° Gay Lussac

v/v - volume por volume

g - gramas

Kg - quilograma

L - litros

H - hora

mL- miligrama

nm - nanômetro

$g.HL^{-1}$ - gramas por hectolitros

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

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

$mEq.L^{-1}$ - miliequivalente por litro

n. – número

p. – página

f. – folha

cap. – capítulo

v. – volume

Ed - edição

LISTA DE SIGLAS

TOPA/TPOV - Laboratório de Produtos de Origem Animal e Vegetal

A.A - Atividade Antioxidante

F.A - Fermentação Alcoólica

FML - Fermentação Malolática

BAL - Bactéria Ácido Lático

CG-MS - Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

FMSS - fermentação em meio semissólido

FES - fermentação em estado sólido

ATP - adenosina trifosfato

NADH - adenina dinucleotídeo

pH - potencial de hidrogênio

NPA - nitrogênio prontamente assimilável

SRS - Sequência de Redução de Sulfatos

INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial

IP - Indicação de Procedência

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ADQ - Análise Descritiva Quantitativa

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ANOVA - Análise de variância

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

YEPD - glicose, extrato de levedura, pectina e agar

UNIPAMPA - Universidade Federal do Pampa

FT-IR - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

S. cerevisiae - *Saccharomyces cerevisiae*

L. thermotolerans - *Lachancea thermotolerans*

SUMÁRIO

AGRADECIMENTO.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. Hipótese.....	18
1.2. Objetivo Geral.....	18
1.3. Objetivos específicos.....	18
2. CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. O processo de fermentação.....	19
2.1.1. Fermentação sequencial.....	23
2.2. Leveduras de interesse enológico.....	24
2.2.1. Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
2.2.2. Leveduras <i>Lachancea thermotolerans</i>	26
2.2.3. Metabolismo das leveduras.....	27
2.2.3.1. Álcool etílico.....	27
2.2.3.2. Dióxido de Carbono.....	27
2.2.3.4. Acetato e ésteres etílicos.....	28
2.2.3.5. Diacetil.....	29
2.2.3.6. Compostos enxofrados.....	29
2.2.3.7. Terpenóides.....	30
2.2.3.8. Ácidos Voláteis.....	30
2.3. Terroir e fatores de interesse.....	31
2.3.1. Campanha Gaúcha.....	32
2.4. Análise Sensorial.....	32
2.5. Análises Físico-químicas.....	33
3. METODOLOGIA.....	34
3.1. Delineamento Experimental.....	34
3.2. Escolha da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> comercial.....	34
3.3. Escolha da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> autóctone.....	34
3.4. Escolha da levedura N- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> autóctone.....	35
3.5. Multiplicação de levedura autóctone.....	35
3.6. Processo de vinificação.....	36
3.7. Análises Físico-químicas.....	37
3.8. Análise Sensorial.....	38
3.9. Análise Estatística.....	38
4. APRESENTAÇÃO DA PESQUISA E ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	38
4.1. Análise Físico-Química do mosto.....	38
4.2. Análise Físico-Química dos vinhos.....	41
4.3. Cinética de Fermentação.....	44
4.4. Análise Sensorial.....	46
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51

6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
APÊNDICES.....	60

1. INTRODUÇÃO

As decisões tomadas durante a produção dos vinhos são os fatores de maior impacto na distinção do produto final. Essas decisões podem variar de corte de variedades utilizadas, temperatura de condução da fermentação alcoólica (F.A.), utilização ou não de leveduras selecionadas.

Ao escolher utilizar uma levedura selecionada o enólogo se garante da correta execução do processo, com pouco ou nenhum problema para completar a F.A, tendo garantias ainda dos aromas a serem formados.

Ao conduzir a fermentação alcoólica de maneira espontânea, o enólogo espera que os microrganismos ali presentes acrescentem características organolépticas distintivas ao produto final, estes microrganismos variam basicamente entre leveduras *N-Saccharomyces*. e *Saccharomyces cerevisiae*. O problema dessa decisão é que leveduras autóctones vão se multiplicar de maneira desordenada, podendo não conseguir fermentar todo o açúcar da uva, acarretando em paradas de fermentação, além da produção incerta de compostos voláteis.

Se combinar a utilização de leveduras autóctones Não-*Saccharomyces* com *S. cerevisiae*, isoladas e caracterizadas previamente, o enólogo garantirá o melhor dos dois mundos: uma contribuição aromática significativa, melhor metabolismo de ácidos orgânicos e maior produção de glicerol com a segurança de conduzir a F.A. até o final.

O mundo passa por um processo de “naturalização” dos produtos, e o setor vitivinícola têm acompanhado essa tendência, então, a busca por vinhos “naturais” tem se mostrado um grande divisor de águas no processo de compra e venda dos produtos. O que precisa ser discutido é até que ponto algo é ou não natural.

O processo de transformação de suco (ou mosto) de uva em vinho é natural, o agente transformador é a levedura, um microrganismo fermentativo naturalmente encontrado na superfície da indústria vitícola mas sobretudo nas películas das bagas, que irá converter o açúcar da fruta em álcool com produção de gás carbônico (CO₂), porém, sem intervenção humana esse processo é variável podendo resultar em um produto intragável, o vinagre.

Barbeau (2004) coloca que *Terroir* é o “conjunto denominado e delimitado por terras cuja natureza, a configuração geográfica e o clima permitem àqueles que os exploram elaborar produtos específicos”. Fica explícito a importância da ação humana sobre o produto a ser produzido, sobretudo na escolha do local de produção e da levedura a ser utilizada.

A Campanha Gaúcha é um território localizado ao sul do estado do Rio Grande do Sul que vem se destacando devido às suas características edafoclimáticas, que conferem a uva produzida uma maturação mais lenta, elevando os teores de açúcar e polifenóis, além de contribuir na cor, aroma e sabor do vinho.

O conjunto das características edafoclimáticas com o saber-fazer do fator humano criam um *terroir* único à Campanha Gaúcha. Ao empregar uma levedura selecionada ao processo, o enólogo buscar garantias de qualidade e, se utilizar leveduras autóctones que podem ser estudadas e isoladas de acordo com a especificidade de uma área sendo adaptadas às condições climáticas da região e à matéria-prima, podem ser responsáveis, em parte, pela qualidade e caracterização final dos vinhos além de garantir que o produto final seja seguro e estável durante o processo fermentativo. Sem dúvida, uma grande alternativa de diferenciação no mercado, contribuindo fortemente para o estabelecimento real de um *terroir* local.

1.1. Hipótese

A utilização de leveduras autóctones impacta a cinética de fermentação, as características físico-químicas e sensoriais do vinho, bem como a produção de compostos voláteis.

1.2. Objetivo Geral

Caracterizar sensorial e quimicamente, vinhos Tannat e Cabernet Sauvignon fermentados com distintos protocolos de vinificação, utilizando leveduras comerciais e leveduras autóctones *Saccharomyces cerevisiae* e *Lachancea thermotolerans*, isoladas da região da Campanha Gaúcha.

1.3. Objetivos específicos

- Avaliar as características físico-químicas de vinhos obtidos através de processos de fermentação convencional e fermentação sequencial utilizando leveduras comerciais e autóctones;
- Avaliar as características sensoriais de vinhos obtidos através de processos de fermentação convencional e fermentação sequencial utilizando leveduras comerciais e

autóctones;

- Comparar os vinhos obtidos dos processos de fermentação convencional e fermentação sequencial utilizando leveduras comerciais e autóctones.

2. CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O processo de fermentação

A fermentação é um dos métodos mais antigos de conservação de alimentos, que se dá através da ação de microorganismos autóctones com capacidade para transformar a matéria prima, prolongando a vida útil do produto original (CRUXEN & FIORENTINI, 2023). Inicialmente não se tinha conhecimento de como a matéria prima era transformada e o que estava envolvido neste processo, com o tempo foi se estudando e descobrindo os constituintes do mesmo.

A fermentação pode ser descrita como “um processo que ocorre quando o microrganismo se reproduz, a partir de uma fonte apropriada de nutrientes, visando a obtenção de um bioproduto”. É um processo de extrema importância para vários setores da sociedade, indo da indústria química e farmacêutica a alimentar, talvez a de maior expressão de relevância, já que o processo é utilizado para a produção de queijos, iogurtes, produtos de panificação, vinagres, enzimas e álcoois (DÂMASO & CORI, 2021).

Os alimentos fermentados possuem características sensoriais únicas decorrente do metabolismo dos distintos microrganismos utilizados nos processos, tratando-se da indústria alimentar, um dos microrganismos de maior importância são as leveduras.

As leveduras são seres eucarióticos, unicelulares, heterotróficos e anaeróbios facultativos, ou seja, na presença de oxigênio pode realizar respiração celular para obter energia porém na ausência ocorre a fermentação com liberação de metabólitos de interesse industrial, tais quais o CO₂ e o álcool, além disso elas possuem grande atividade bioquímica em processos de lipólise e proteólise, contribuindo para a formação de aromas em alimentos e bebidas (CRUXEN & FIORENTINI, 2023).

O processo pode se dar de duas formas: em fermentação submersa (FS), que ocorre em meio com presença de água livre e com substrato solúvel; e a fermentação em meio semissólido ou estado sólido (FMSS ou FES) que ocorre na ausência parcial ou total de água livre e a formação de produtos ocorre na superfície de substrato sólidos (SANTOS *et al*,

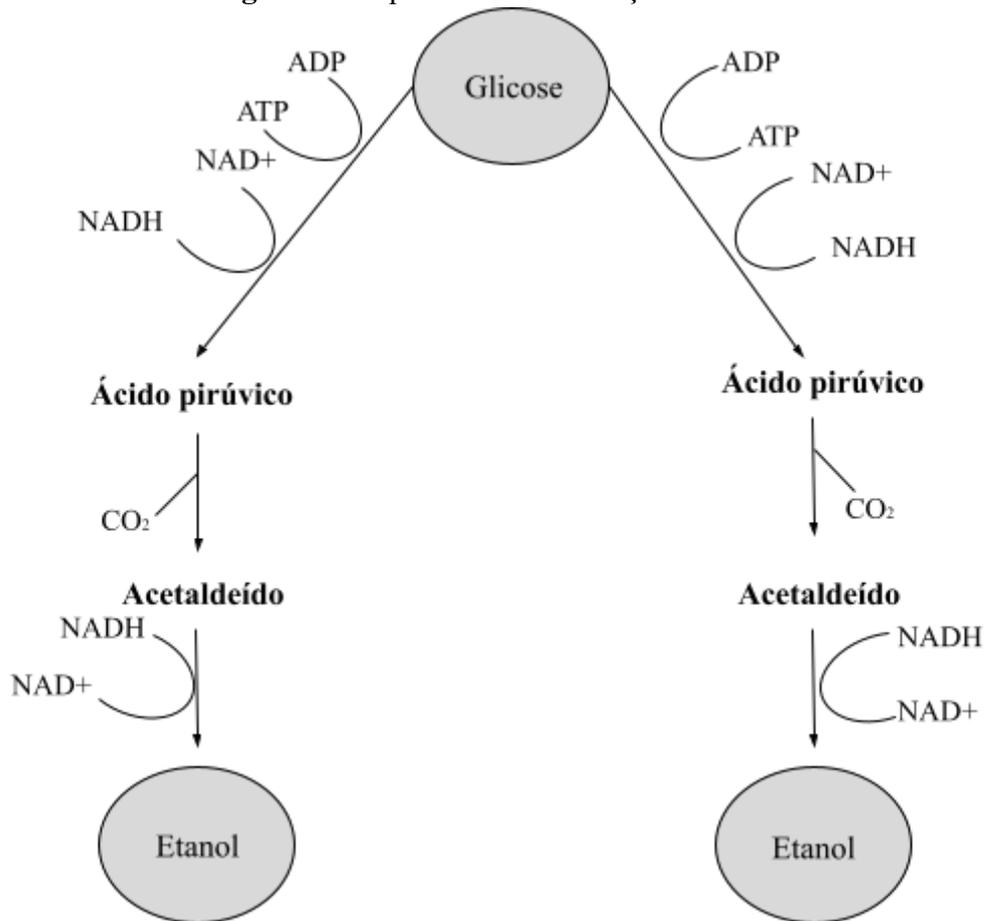
2008).

Por ser um microrganismo anaeróbio facultativo a levedura consegue realizar respiração celular na presença de oxigênio e fermentação na ausência, ambos os processos geram energia celular na forma de ATP (Adenosina Trifosfato) a diferença é que na respiração são gerados aproximadamente trinta ATPs para cada molécula de glicose, enquanto que na fermentação são apenas dois ATPs (TOGOIRES, 2011).

O processo fermentativo ocorre via Embden-Meyerhof-Parnas, ou glicólise (FUGELSANG & EDWARDS, 2007). A molécula de glicose é oxidada em duas moléculas de ácido pirúvico, gerando também duas moléculas de ATP e duas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) em estado reduzido (WALKER & STEWART, 2016). Na sequência as moléculas de ácido pirúvico são convertidas em acetaldeído pela enzima piruvato descarboxilase que libera duas moléculas de CO_2 e por fim as moléculas de acetaldeído são reduzidas a etanol pela enzima álcool desidrogenase e a coenzima NAD passa ao estado oxidado de NAD^+ , exemplificado na Figura 1 (CRUXEN & FIORENTINI, 2023).

O processo fermentativo é realizado por bactérias heterofermentativas e leveduras, para a indústria enológica a de maior interesse é a *S. cerevisiae*, no entanto, os estudos vêm avançando na utilização de outras leveduras de interesse enológico.

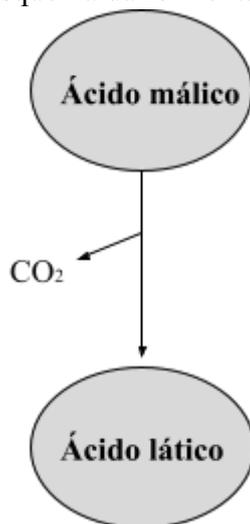
Figura 1: Esquema da fermentação alcoólica



Fonte: autor adaptado de CRUXEN, 2023

Ainda, na produção de vinhos, existe a fermentação malolática que é uma segunda fermentação realizada pela Bactéria Ácido Láctico (BAL) em que a estirpe mais relevante no setor é a *Oenococcus oeni*. Esse processo possibilita que o vinho produzido se torne menos ácido, uma vez que o ácido láctico é mais fraco que o ácido málico, além de acrescentar positivamente as características de aroma e sabor do produto. Nessa fermentação ocorre a descaboxilação do ácido málico resultando no ácido láctico, como mostrado na figura 2 (CRUXEN & FIORENTINI, 2023).

Figura 2: Esquema da fermentação malolática

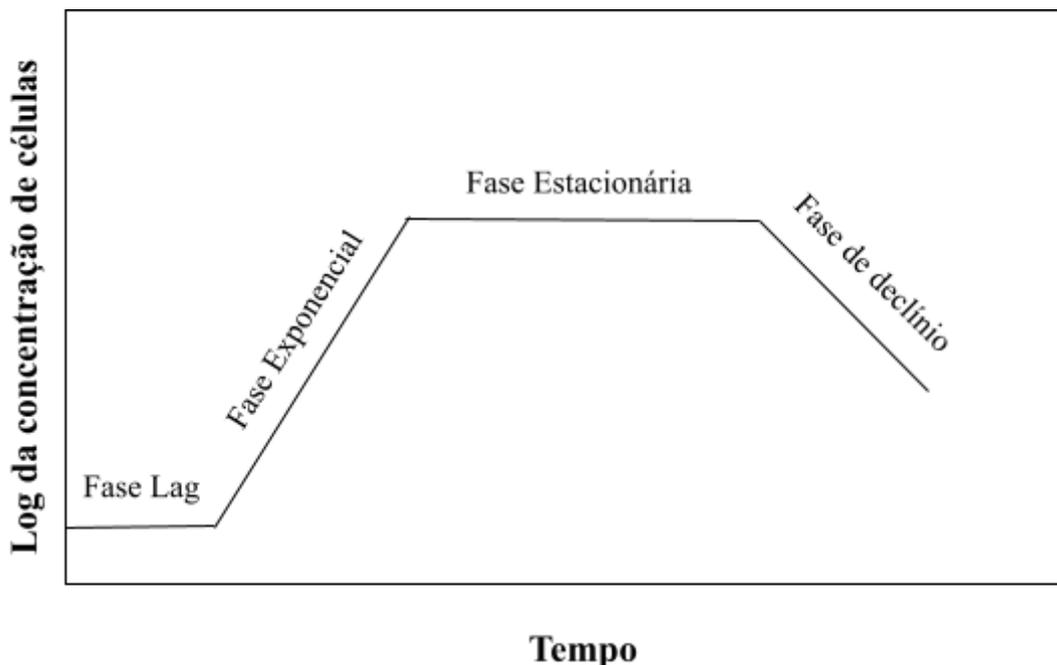


Fonte: autor adaptado de CRUXEN, 2023

Sob condições fermentativas adequadas as leveduras começam por metabolizar o açúcar e outros compostos presentes no mosto da uva a fim de obter energia para se manter e multiplicar (BOULTON *et al.* 1996; RIBÉREAU-GAYON *et al.* 2000b). Nas duas primeiras horas do processo as leveduras não estão se multiplicando mas sim buscando se adaptar ao meio, conhecida como fase de latência (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Inicialmente a população de leveduras no mosto é de aproximadamente $10^4 \text{ células.mL}^{-1}$, variando para mais em uvas atacadas por podridões, se for inoculada a população inicial passa para a ordem de $5.10^6 \text{ células.mL}^{-1}$. Já adaptadas, as leveduras passam para etapa de crescimento exponencial da sua população, em que a concentração atinge $10^7 - 10^8 \text{ células.mL}^{-1}$, essa fase pode durar de três a seis dias, geralmente interrompido devido à falta de algum nutriente (FERREIRA, 2018). Entramos em uma nova fase, a estacionária, no qual o crescimento populacional é estabilizado e pode durar de dois a dez dias, seguida da fase de declínio, na qual a população começa a morrer gradualmente, devido a indisponibilidade de nutrientes e a toxicidade causada pelo etanol e outras substâncias liberadas durante o processo (LAFON-LAFOURCADE *et al.*, 1984), processo demonstrado no esquema da figura 3.

Figura 3: Fases de desenvolvimento da levedura em meio fermentativo



Fonte: autor adaptado de Togores, 2011

O sucesso do processo fermentativo se deve a uma sequência de fatores que influenciaram a manutenção de um número suficiente de células viáveis para que todo o açúcar seja consumido, caso contrário ocorrerá a parada da fermentação (ZAMORA, 2004).

2.1.1. Fermentação sequencial

O processo de fermentação de vinhos é muito antigo, originalmente a uva armazenada acabava fermentando e não se tinha conhecimento do porquê ou como isso acontecia, com o passar do tempo e a descoberta de Pasteur sobre a existência de microrganismos começou-se a entender melhor o processo. Em fermentações espontâneas inicialmente o mosto é dominado por leveduras Não-*Saccharomyces*. e posteriormente por leveduras *S. cerevisiae* já que as primeiras não apresentam capacidade fermentativa necessária para converter todo o açúcar da uva em álcool (MARTINS, 2015).

A fermentação sequencial busca reproduzir esse processo, sendo uma forma de aumentar a complexidade do aroma do vinho e evitar os riscos de produção de compostos indesejados que podem ocorrer em fermentações espontâneas (GABBARDO, 2020).

Nesse processo inicialmente é inoculada uma levedura com menor tolerância ao etanol que irá produzir compostos de aroma e sabor desejáveis, seguida da adição de uma estirpe de

S. cerevisiae que irá terminar a fermentação (BARRAJÓN *et al.*, 2011). Essa inoculação evita, por exemplo, que diferentes leveduras entrem em competição, garantido que cada uma consiga expressar suas qualidades sensoriais e fermentativas (RAYNAL, *et al.*, 2009), no entanto é importante escolher leveduras compatíveis, visto que mesmo sem interação direta os compostos liberados pela primeira possam inibir o desenvolvimento da segunda, ou as atividades enzimáticas da segunda possam degradar compostos da primeira (MARTINS, 2015).

2.2. Leveduras de interesse enológico

A levedura *S. cerevisiae* foi o primeiro eucarioto completamente sequenciado (GOFFEAU *et al.*, 1996), experimentalmente isso se deve ao fato que são organismos unicelulares que podem ser cultivados em meio definido e de alto controle, facilmente visualizadas e manuseadas em comparação com as bactérias, além da sua relevante importância econômica, atrelada tanto a indústria de fermentação alcoólica quanto alimentícia.

Fatores relevantes sobre as leveduras: são versáteis e apresentam particularidades próprias para propósitos industriais específicos, geralmente crescem em ambientes onde bactérias não podem crescer de forma adequada, são de manutenção mais simples, podem se manter mais facilmente em condições livres de contaminações por microrganismos de crescimento rápido, são de mais rápida recuperação que bactérias e, por fim, alguns destes organismos crescem na presença ou na ausência de ar, embora ineficientemente nesta última condição (SILVA *et al.*, 2020).

As leveduras de interesse enológico são divididas em dois grupos, as *S. cerevisiae*. e as Não-*Saccharomyces*. O gênero *Saccharomyces* e a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é de longe o organismo mais usado industrialmente, embora haja outros gêneros mais versáteis, porém pouco explorados, isso se deve a sua adaptabilidade a condições adversas do meio fermentativo, sobretudo a sua tolerância a altas concentrações de açúcares e álcool, ao estresse e a variação de temperatura, se adapta bem a meios com pH baixo e com alta pressão osmótica, possuindo ainda, em média, baixa produção de Sulfeto de Hidrogênio (H_2S) (OLIVEIRA, 2020; GABBARDO & JACOBS, 2023). As Não-*Saccharomyces*. não possuem tanta tolerância ao estresse e principalmente ao etanol, no entanto vêm sendo amplamente estudadas para aplicação na indústria enológica, a utilização das duas combinadas é uma estratégia que visa incremento nas características sensoriais, sobretudo aromática, dos vinhos

produzidos (GABBARDO & JACOBS, 2023).

Tratando especificamente de vinho, durante a fermentação espontânea uma sequência de leveduras se apresenta, no estágio inicial os gêneros *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia* e *Metschnikowia* estão mais presente, anteriormente tidas como leveduras deteriorantes hoje são reconhecidas por seus comprovados benefícios ao vinho, podem sintetizar metabólitos que contribuem para a qualidade do produto, atuam na redução do potencial alcoólico e acidificação dos vinhos, além de produzir enzimas para otimizar certas etapas da vinificação (SILVA *et al*; 2020).

São leveduras com limitada capacidade fermentativa, incapazes de dominar a população de leveduras autóctones do mosto, motivo pelo qual costumam ser utilizadas no início do processo com posterior inóculo de leveduras do tipo *S. cerevisiae* que iram terminar o processo, no entanto essa atuação inicial é suficiente para gerar mudanças positivas nas características organolépticas do produto (BLANCO *et al*, 2020) .

2.2.1. Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae está incluída no Domínio *Eukaryota*, Reino *Fungi*, Filo *Ascomycota*, Classe *Saccharomycetes*, Ordem *Saccharomycetales*, Família *Saccharomycetaceae*, Gênero *Saccharomyces* e espécie *cerevisiae*. São fungos unicelulares diplóides que se reproduzem assexuadamente por brotamento ou sexuada por esporulação (meiose, segregação e formação de haplóides). *Saccharomyces cerevisiae* consiste em células com aproximadamente 3µm de diâmetro (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003; SUÁREZ-LEPE & IÑIGO LEAL, 2004), com formatos variados: ovais, redondos e alongados (TOGORES, 2011).

Em condições ótimas de nutrição a *S. cerevisiae* dobra sua população a cada 90 minutos (TAXIS, 2005). É a principal levedura responsável pela fermentação alcoólica de uvas, pois possui alto poder fermentativo, vigor e resistência, tanto ao etanol quando ao dióxido de enxofre, é capaz de fermentar quase todos os açúcares, exceto os com cinco átomos de carbono, pela produção da enzima invertase, que quebra a sacarose em glicose e frutose (TOGORES, 2011).

Mesmo sendo um microrganismos anaeróbico facultativo, isso é, na presença de O_2 realiza respiração e na ausência realiza fermentação, a *S. cerevisiae* é afetada pelo chamado “Efeito Crabtree” (1929), aqui mesmo em condições aeróbicas a levedura não utiliza seu

equipamento respiratório e opta por realizar fermentação, ela deixa de metabolizar os sacarídeos do meio e aumentar sua biomassa e passa a converter o açúcar em etanol e outros compostos de carbono via piruvato, isso acontece pois a glicose do meio atuará inibindo o sistema respiratório da levedura (WALKER & STEWART, 2016). Nas leveduras esse efeito se manifesta a partir de uma concentração de açúcares de 9 gramas/litro (TOGORES, 2011).

2.2.2. Leveduras *Lachancea thermotolerans*

Anteriormente conhecida como *Kluyveromyces thermotolerans* foi reatribuída ao gênero *Lachancea* em 2003 (KURTZMAN, 2003), é uma espécie presente em todo o mundo, geralmente encontrada na microbiota de uva/vinho (JOLLY *et al.*, 2014). Morfologicamente se apresenta globosa ou elipsoidal, sendo indistinguível da *S. cerevisiae*, teleomórfica que possui reprodução sexuada com formação de ascósporos esféricos, a reprodução assexuada é com brotamento multilateral, forma colônias cremosas, pode se apresentar como células únicas em meio líquido ou em pequenos grupos (MORATA *et al.*, 2018), em algumas ocasiões, formam-se pseudo-hifas, mas as hifas verdadeiras nunca são formadas. A reprodução sexuada ocorre através da formação de asco, contendo de um a quatro ascósporos esféricos (BENITO, 2018).

É um bom fermentador de glicose e sacarose (SCHNIERDA *et al.*, 2014), com nutrição semelhante a *S. cerevisiae*, com mínimo de $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de nitrogênio prontamente assimilável (NPA) a fim de evitar paradas de fermentação (CIANI *et al.*, 2006). Podem apresentar como atividade extracelulares que afetam o aroma do vinho ou extração de fenol: Esterase, Esterase-Lipase, β -glucosidase, Pectinase, Celulase, Xilanase e Glucanase (ESCRIANO *et al.*, 2017).

Tem capacidade fermentativa de cerca de 10% v/v de etanol (HRANILOVIC *et al.*, 2018), necessitando de um co-inóculo para concluir o processo fermentativo, podendo ser uma adição simultânea ou uma sequência, tipicamente as cepas utilizadas são de *S. cerevisiae*, característica que a fazem aparecer na fase intermediária do processo fermentativo, possui tolerância a temperatura semelhante a da *S. cerevisiae*, com bom crescimento a 25 - 30 °C, mas um crescimento mais lento abaixo de 20 °C (SCHNIERDA *et al.*, 2014). O resultado mais notável da sua utilização é um incremento na produção de ácido lático, variando de 0,3 a $9,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ a depender da estirpe e condições experimentais (BENITO, 2018).

2.2.3. Metabolismo das leveduras

A seleção de uma cepa ou espécie de levedura ocorre em função da sua permanência e dominância, com alto rendimento alcoólico, baixa floculação, baixa espuma, baixo açúcar residual e ser tolerante ao meio de estresse fermentativo, além da sua produção de compostos de “sabor”. Esse sabor se refere aos compostos voláteis e não voláteis relacionados ao aroma e a sensação de boca. Os compostos não voláteis incluem: glicerol, mono e polissacarídeos, fenóis e ácidos orgânicos; e os compostos voláteis incluem: álcoois, aldeídos, ésteres, dicarbonilas, ácidos graxos de cadeia curta e média, metil cetonas, lactonas, compostos fenólicos e de enxofre e terpenos (MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009).

O metabolismo de fermentação das leveduras compreende duas etapas, o metabolismo primário, essencial para o crescimento, divisão celular e sobrevivência, aqui ocorre a produção de metabólitos como o etanol, glicerol, acetaldeídos e ácidos acéticos e o secundário, não essencial para o crescimento e sobrevivência da célula, porém produz pequenas moléculas que incluem ésteres, carbonilas, compostos enxofrados, tióis e terpenóides (STYGER *et al.*, 2011).

2.2.3.1. Álcool etílico

O álcool etílico ou etanol ($CH_3 - CH_2OH$) é o principal produto da fermentação alcoólica, atingindo concentrações que variam de 12 a 14 %vol/vol em condições normais a depender da concentração do teor de açúcar da uva colhida. Estima-se que o rendimento de transformação seja de 16 a 17 g de açúcar para cada grau de álcool produzido. Mesmo sendo produzido no interior da célula de levedura ele não se acumula no citoplasma e sai por difusão devido a grande permeabilidade da membrana plasmática (RIBÉREAU-GAYON, 2006).

2.2.3.2. Dióxido de Carbono

O dióxido de carbono, CO_2 , é a segunda substância mais importante formada durante a fermentação alcoólica, com produção aproximada de 0,4 a 0,5 gramas para cada grama de açúcar fermentado. A pressão do CO_2 no meio de fermentação pode ser um problema para o desenvolvimento da F.A., sendo que os valores considerados inofensivos para a levedura variam de 0,15 a 0,20 atmosferas. No processo são formados aproximadamente 56 L de CO_2 para cada L de mosto com teor de açúcar de 210 g. L^{-1} a 20°C (TOGORES, 2011)

2.2.3.3. Álcoois superiores

São os compostos produzidos em maior abundância pelas leveduras durante o processo fermentativo, encontrado com concentrações próximas a 400 mg.L^{-1} , com concentração pouco significativa na uva fresca, se estiver presente em doses superiores a 1 g.L^{-1} é tratado como *off-flavor* ou defeito aromático. Pode ser originário do metabolismo central do carbono ou do catabolismo de aminoácidos, o mecanismo de Ehrlich (RIBÉREAU-GAYON, 2006).

A primeira etapa na via de Ehrlich é uma reação de transaminação entre um aminoácido e o 2-oxoglutarato. A etapa de transaminação converte o aminoácido em um α -cetoácido, que também pode ser fornecido pelo metabolismo central do carbono. Posteriormente, múltiplas piruvato descarboxilases catalisam a conversão do α -cetoácido em um aldeído de cadeia ramificada. Por último, um álcool desidrogenase catalisa a etapa final dependente de NADH que reduz o aldeído a um álcool superior. Nem todas as enzimas envolvidas na catálise desta via são conhecidas (GABBARDO & JACOBS, 2023).

Em concentrações apropriadas, os álcoois superiores conferem uma complexidade benéfica e também servem como precursores para a formação de ésteres de acetato. Propanol, butanol e isobutanol são descritos como tendo um odor alcoólico, enquanto o álcool amílico ativo e o álcool isoamílico são descritos como tendo um aroma semelhante ao de maçã, pão ou de banana. Tirosol e 2-feniletanol conferem aromas de mel e florais, respectivamente (HIRST & RICHTER, 2016).

2.2.3.4. Acetato e ésteres etílicos

Importante classe de compostos aromáticos por ter como característica aromática notas florais e frutadas, produzidos em grande quantidade durante a F.A. podem ser encontrados ainda na uva *in natura*, porém em pequenas quantidades. A reação requer uma molécula de álcool, acetil-CoA, uma enzima sintetizadora de éster e ATP (RIBÉREAU-GAYON, 2006).

Existem dois tipos de ésteres presentes no vinho: os acetatos e os ésteres etílicos, ambos relacionados ao metabolismo central de carbono e do metabolismo de lipídios, na célula da levedura. Os acetatos originam-se da esterificação entre acetil-CoA e álcoois superiores através da ação de enzimas álcool acetil-transferases. Resultando em compostos como acetato de etila, acetato de isoamila (aroma de banana), acetato de 2-metilbutila (aroma

de maçã) e acetato de feniletila (aroma de rosas) (GABBARDO & JACOBS, 2023).

Os ésteres etílicos são resultado da condensação entre etanol e ácidos graxos de cadeia média, em uma reação de esterificação enzimática por álcool acetil-transferases, gerando compostos como o hexanoato de etila, butanoato de etila, octanoato de etila e decanoato de etila, seus atributos sensoriais variam, mas as descrições incluem maçã, fruta, morango, pêra e anis (GONZÁLEZ, 2010).

2.2.3.5. Diacetil

O diacetil é formado extracelularmente pela descarboxilação química do α -acetolactato, este é sintetizado como um intermediário na via do 2-cetoisovalerato ou produzido a partir do acetaldeído pelo *Ilv2p*, sendo posteriormente convertido em acetoína, seguido pela conversão de acetoína em 2,3-butanodiol, ambos com um limiar sensorial mais alto e, portanto, menos impacto sensorial. É descrito como tendo um aroma tostado, de caramelo e de nozes, mas em altas concentrações cheira a manteiga rançosa. As células de levedura podem sintetizar diacetil durante a fermentação; no vinho, entretanto, o diacetil é produzido predominantemente por bactérias do ácido láctico (RIBÉREAU-GAYON, 2006).

2.2.3.6. Compostos enxofrados

Dos compostos voláteis originados do metabolismo das leveduras e bactérias durante as fermentações, os enxofrados são alguns dos mais importantes, pois têm um limiar de percepção sensorial muito baixo e alto impacto sensorial, os descritores mais frequentemente associados são repolho, ovo podre ou cebola (HIRST & RICHTER, 2016), motivo pelo qual são considerados *off-flavors*, já que os descritores citados são a característica sensorial do defeito de redução.

Existem cinco categorias de compostos enxofrados: sulfetos, polissulfetos, tiois, tioésteres e compostos heterocíclicos (HIRST & RICHTER, 2016), a formação dos mesmos é muito distinta e pode ser associada a fatores biológicos e genéticos da levedura, algumas sendo mais propensas a produção dos mesmos. Essa produção por parte da levedura a torna autossuficiente na formação de compostos essenciais para sua atividade metabólica e crescimento, em meio pobres em nutrição ou em ambientes estressantes a levedura ativa uma série de enzimas, as SRS (Sequência de Redução de Sulfatos), para produção de aminoácidos enxofrados e outros componentes que potencializam sua atividade metabólica. É possível evitar essa formação aromática ao nutrir adequadamente à levedura, evitar condições

extremas de temperatura e, tecnologicamente, empregar o uso de leveduras Não-*Saccharomyces*, uma vez que a expressão da atividade enzimática das enzimas SRS é mais raras nestas leveduras (GABBARDO, JACOBS, 2023).

Em contraste com outros compostos de enxofre, os tióis voláteis possuem características de aroma benéficas, com descritores como buxo, maracujá, groselha preta ou toranja. Os três tióis voláteis mais impactantes são 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona (4MMP), 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) e acetato de 3-mercaptohexil (3MHA) (DUBOURDIEU, 2003).

2.2.3.7. Terpenóides

Os terpenóides são componentes essenciais de sabor em muitos produtos comerciais, incluindo vinho, otimizar sua produção é um dos objetivos mais importantes na fermentação industrial. Os terpenóides são uma classe de compostos aromáticos que definem características varietais em frutas, produzindo aromas descritos como rosa, gerânio e floral (HIRST & RICHTER, 2016).

A *Vitis vinifera* (videira) sintetiza monoterpenóides como geraniol, linalol, nerol e citronelol. Os terpenóides são encontrados nas formas livre e ligada, sendo a forma ligada mais prevalente, que são liberados para volatilização pela ação de enzimas glicosidase da levedura. A liberação enzimática de monoterpenos é um processo de uma ou duas etapas, dependendo do açúcar ligado ao precursor glicosídeo (ou seja, um mono ou dissacarídeo). A produção de terpenóides foi atribuída principalmente à hidrólise de ligações glicosídicas; no entanto, *S. cerevisiae* é capaz de produzir monoterpenos através da via do ácido mevalônico (SANTOS *et al*, 2022).

2.2.3.8. Ácidos Voláteis

Os ácidos voláteis presentes no vinho não trazem grande complexidade qualitativa ao aroma, isso quando estão sozinhos, ao se associarem com os álcoois dão origem aos ésteres, são basicamente ácidos graxos de cadeia curta e média (C2 a C10). Os ácidos voláteis mais encontrados nos vinhos são o ácido butírico, hexanóico, decanóico e propanóico, no entanto o ácido acético representa sozinho 90% dessa classe. Mesmo que sua ocorrência seja natural no vinho, está mais associada a microrganismos deteriorantes, como bactérias acéticas e ambientes com grande disponibilidade de oxigênio, pode ser formado pelo metabolismo de algumas leveduras e bactérias ácido-láticas. É possível percebê-lo sensorialmente a partir de

0,8 g.L, é o aroma de vinagre (GABBARDO & JACOBS, 2023).

2.3. *Terroir* e fatores de interesse

Vindo da França, a palavra *terre*, é originária de “terra” no português, foi utilizado para descrever como o solo, o local e o clima de uma determinada região influencia na qualidade e no sabor único das comidas e dos vinhos ali produzidos (ZHANG, MERUNKA, 2015). Inicialmente relacionada à agricultura, ao longo do tempo foi-se desenvolvendo uma ligação mais forte com a indústria do vinho (CHARTERS *et al.*, 2013). A Resolução OIV/VITI 333/2010 estabelece que:

“O “terroir” do vinho é um conceito que se refere a um espaço onde desenvolve o conhecimento coletivo das interações entre um ambiente físico e biológico identificável e as práticas vitivinícolas aplicadas, que conferem características distintivas aos produtos provenientes deste espaço. “Terroir” inclui características específicas do solo, topografia, clima, paisagem e biodiversidade”.

Mesmo que o *terroir* seja um conceito técnico a indústria se utiliza do mesmo, visando a diferenciação de mercado, as empresas o empregam para promover produtos conferindo percepções de qualidade e preço, além de aumentar o valor agregado aos produtos e às marcas originários de locais já estabelecidos como de “terroir único”, visto que ainda se soma à história, as tradições, os métodos de produção e o saber-fazer ao conceito, é o fator humano que confere ainda mais tipicidade ao produto.

A estratégia de utilização do *terroir* como ferramenta de diferenciação pode colaborar para as especificidades locais, culturais e históricas, motivo pelo qual a União Europeia criou as certificações de proteção à origem de produtos como vinhos, queijos, azeites e outros do setor gastronômico, forma de reconhecer e formalizar a importância do terroir, não apenas para produtores como também para fornecedores e consumidores (BUCHABQUI, 2021).

No ano de 2020 a Campanha Gaúcha recebeu a certificação de Indicação de Procedência reconhecida pelo INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial), delimitada em 44.365 Km², num total de 14 municípios: Aceguá, Alegrete, Bagé, Barra do Quaraí, Candiota, Dom Pedrito, Hulha Negra, Itaqui, Lavras do Sul, Maçambará, Quaraí, Rosário do Sul, Santana do Livramento e Uruguaiana. As uvas, num total de 36 variedades, devem ser 100% produzidas na área delimitada, cultivadas em espaldeiras, e os vinhos produzidos devem atender os padrões analíticos especificados e avaliação sensorial estabelecidos pelo Regulamento de Uso da IP.

2.3.1. Campanha Gaúcha

O estado do Rio Grande do Sul é responsável por pouco mais de 50% da produção de uva (IBGE, 2022). Atualmente, existem seis regiões vitivinícolas no Estado do Rio Grande do Sul: Campanha (Bagé, Dom Pedrito, dentre outros), Serra do Sudeste (Pinheiro Machado e Encruzilhada do Sul), Jaguari (Jaguari), São José do Ouro (São José do Ouro), Rolante (Rolante e Riozinho) e a Encosta Superior do Nordeste conhecida como “Serra Gaúcha ou Campos de Cima da Serra”. Dentre estas, a Campanha Gaúcha, vem apresentando crescimento significativo na produção de uvas para vinhos finos e espumantes de qualidade superior (SARMENTO, 2016).

As características edafoclimáticas da região da Campanha favorecem a produção de uvas de qualidade para produção de vinhos finos. Esta região apresenta-se com solos bem drenados e com topografia pouco ondulada, permitindo assim a mecanização da cultura. O clima da região é favorável aos vinhedos, contando com grande incidência solar que permite contribuir agregando mais cor, aroma e sabor do vinho. Invernos rigorosos também são benéficos para as uvas, pois faz com que as mesmas entrem em pleno estado vegetativo refletindo-se na produtividade e qualidade do produto final (ALVES, 2021).

Outro fator favorável é que, nesta região, a variação da temperatura diária com dias quentes e noites frescas possibilita uma maturação mais lenta da uva, o que faz com que o teor de açúcar e também os polifenóis, que são antioxidantes naturais presentes na uva, sejam elevados (DE SOUZA *et al.*, 2006). Essas características ambientais fazem com que o terroir regional seja propício à produção de uvas para obtenção de vinhos finos e espumantes de excelente qualidade.

2.4. Análise Sensorial

A análise sensorial é uma ferramenta utilizada para avaliar a qualidade dos vinhos, consiste em observar com atenção o produto a fim de encontrar defeitos e descrever seus atributos qualitativos, é a apreciação por meio da visão, do olfato e do paladar das características de um vinho. O processo é feito em etapas, a avaliação por meio dos sentidos, a descrição dos estímulos, a comparação com padrões estabelecidos e o julgamento (RIZZON, 2010).

Por ser um produto de consumo e apreciação é importante que o vinho esteja de acordo com a legislação técnica vigente e suas características físico-químicas sejam avaliadas,

mas são seus parâmetros sensoriais que definem sua qualidade. Nesse sentido se faz importante avaliar se a amostra se apresenta adequada em relação ao aspecto, sem oxidação ou turvação, ou ainda presença de dióxido de carbono em vinhos tranquilos; se os aromas correspondem a cultivar, safra e técnica de elaboração, e se não ocorreram contaminações com os materiais de engarrafamento e arrolhamento; o gosto também contribui para identificação desses parâmetros. Em geral, a avaliação sensorial do produto, além de completar os parâmetros analíticos possibilita identificar problemas e definir qualidade (RIZZON, 2010).

O ser humano dispõe dos seguintes sensores:

- **Visual:** que avalia cor, limpidez, textura, efervescência e a viscosidade do vinhos;
- **Olfato:** que permite avaliar o aroma e eventuais defeitos no mesmo;
- **Gustativo:** que detecta os gostos doce, salgado, amargo e ácido, e;
- **Tátil:** detecta estrutura por meio do contato entre o vinho e as mucosas da boca.

Um dos métodos de análise sensorial utilizado é a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), na qual se descreve e quantifica características de produtos, avaliando a qualidade e a intensidade das propriedades sensoriais do produto baseado em percepções de uma equipe treinada (STONE & SIDEL, 2020).

De acordo com Stone e Sidel (1992), a Análise Descritiva Quantitativa, possui as seguintes vantagens sobre os outros métodos de avaliação: confiança no julgamento de uma equipe composta por no máximo 12 julgadores treinados, ou seja, não é necessário um número alto de julgadores; desenvolvimento de uma linguagem descritiva objetiva mais próxima à linguagem do consumidor; o desenvolvimento consensual da terminologia descritiva a ser utilizado, o que implica em maior concordância de julgamentos entre os julgadores e os produtos que são analisados com repetições por todos os julgadores em testes às cegas; resultados obtidos podem ser estatisticamente analisados. A ADQ constitui-se numa descrição sensorial completa, onde se destaca todas as sensações percebidas quando o alimento é avaliado: visual, auditiva, gustativa, olfativa e cinestésica.

2.5. Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas consistem numa série de análises mais detalhadas das características do produto, que visam demonstrar se o mesmo encontra-se em conformidade com o que é estabelecido pela Portaria nº 43, de 18 de maio de 2016, ou pela Lei 7.678 de 08

de novembro de 1988, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A Portaria nº 43, estabelece valores máximos e mínimos para os parâmetros: Graduação alcoólica, em % vol/vol, a 20 °C; Acidez total, em $mEq. L^{-1}$; Acidez volátil e total em $mEq. L^{-1}$; Sulfatos totais, expressos em K_sSO_4 , em $g. L^{-1}$; Cinzas, em $g. L^{-1}$; Álcool metílico, em $mg. L^{-1}$, edulcorantes e corante artificial, isso de acordo com as especificidades de cada vinho obtido, e pelas uvas em questão, para vinhos tintos finos.

Na literatura, principalmente internacional, também são encontrados dados a respeito de outros parâmetros, como condutividade, teor de açúcares redutores, teor de compostos fenólicos e, ainda outros voltados para a coloração do vinho (LOPES, 2017).

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento Experimental

Tabela 1: Delineamento experimental

Identificação	Tratamento
T1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> comercial
T2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> autóctone
T3	<i>Lachancea thermotolerans</i> em fermentação sequencial com <i>Saccharomyces cerevisiae</i> autóctones

Fonte: Autor, 2023.

3.2. Escolha da levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercial

A Maurivin AWRI 796 é uma levedura seca ativa comercial *S. cerevisiae* isolada da África do Sul, adaptada a fermentação em temperaturas mais elevadas (20 a 30 °C) com fase de latência curta, consome pouco nitrogênio, é uma levedura com elevado potencial alcoólico, 14,5 a 15,5%, produz baixos níveis de aromas e compostos de sabor, sendo considerado neutro, interferindo pouco no caráter natural da variedade, recomendada para produção de vinhos tintos varietais (AMAZON GROUP).

3.3. Escolha da levedura *Saccharomyces cerevisiae* autóctone

A levedura *S. cerevisiae* autóctone foi selecionada para utilização devido a uma

somatória de fatores: teste de resistência ao álcool, de produção de H_2S , de temperatura, de exclusão por estresse e de produção de álcool. Tendo sido selecionada por apresentar bom desempenho na produção alcoólica e por ter baixa produção de H_2S .

Os processos de isolamento, testes de capacidade fermentativa, produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S), exclusão por estresse, tolerância à temperatura e ao etanol, além da caracterização molecular quanto ao tipo de leveduras (*Saccharomyces*) através da reação em cadeia da polimerase (PCR) e identificação por eletroforese em gel de agarose foram realizados por ALVES, 2023 e MARTINS, 2023.

3.4. Escolha da levedura N-*Saccharomyces cerevisiae* autóctone

A levedura Não-*Saccharomyces* utilizada foi isolada da microvinificação de Cabernet Sauvignon da região da Campanha Gaúcha, passando por testes de estresse e sequenciamento das regiões ITS 1 e 2 do rDNA, sendo selecionada por ser uma *Lachancea thermotolerans* com a melhor capacidade fermentativa, alta resistência ao estresse e a temperatura com nula produção de H_2S (JACOBS, 2016).

3.5. Multiplicação de levedura autóctone

As leveduras autóctones utilizadas encontravam-se em placas de petri sobre meio YEPD (glicose, extrato de levedura, pectina e agar). Para a multiplicação das leveduras, foi utilizado o meio de crescimento YEPD líquido, preparado com água destilada estéril em erlenmeyer, autoclavado. Na câmara de Fluxo Laminar previamente esterilizada o conteúdo das placas foi diluído com o meio líquido e vertido para dentro do erlenmeyer, tampado com bucha de algodão e gaze estéril, o crescimento se deu em Incubadora Shaker da marca ADAMO, em temperatura média de 33 °C por 48 horas, com retirada de amostras para contagem de células de leveduras no momento 0, 24 e 48 horas, com o objetivo foi alcançar uma população de 10^8 de células de leveduras para realização do inóculo, assegurando uma quantidade de células que teriam capacidade de completar a fermentação alcoólica sem interrupções.

Para a inoculação foi necessário retirar o sobrenadante de meio de crescimento da levedura produzida, para tanto os erlenmeyer foram retirados do Shaker e transferidos para a geladeira por 12 H, a fim de que as leveduras se depositem no fundo do mesmo, do total de 250 ml de meio, 150 ml foram descartados e os 100 ml restantes foram utilizados para

homogeneizar o depósito de levedura, sendo posteriormente transferidos para tubos falcon de 50 ml para serem centrifugados, o sobrenadante foi novamente descartado e o depósito de levedura foi lavado para béquer de vidro com água destilada estéril e o processo de inoculação se deu de maneira tradicional, tal qual para uma levedura liofilizada.

3.6. Processo de vinificação

As variedades Tannat e Cabernet Sauvignon foram colhidas dos vinhedos da Estância Guatambu, localizado em Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, (Latitude -30.9855753741855 S, Longitude - 54.4943688125776 W). A colheita foi realizada manualmente, no dia 08 de Março de 2023, e as uvas coletadas foram acondicionadas em câmara fria da vinícola por 24 H, posteriormente sendo transportadas para a Vinícola Experimental da Universidade Federal do Pampa (Unipampa) - *campus* Dom Pedrito, onde foram processadas.

As caixas foram pesadas e igualizadas em peso, Tannat ficando com 17 kg/caixa e Cabernet com 14 kg/caixa. A vinificação ocorreu de acordo com um protocolo pré-estabelecido pela Vinícola Experimental da Unipampa, padrão para tinto.

As caixas foram processadas individualmente, tendo sido desengaçadas porém não moídas, com retirada de amostra para análise de mosto e o produto obtido foi transferido para garrafões de 20 L identificados, resultando em 9 unidades fermentadoras com 3 tratamentos para cada variedade, alocados em câmara fria para realização de Maceração Pré Fermentativa de 24 H. Cada garrafão recebeu uma dose de $50 \text{ mg} \cdot \text{hL}^{-1}$ de Metabissulfito de Potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$). Posteriormente os garrafões foram realocados no Laboratório de Anatomia Animal da Unipampa. Adicionou-se a dose de $20 \text{ g} \cdot \text{hL}^{-1}$ de nutriente SUPER STAR ROUGE.

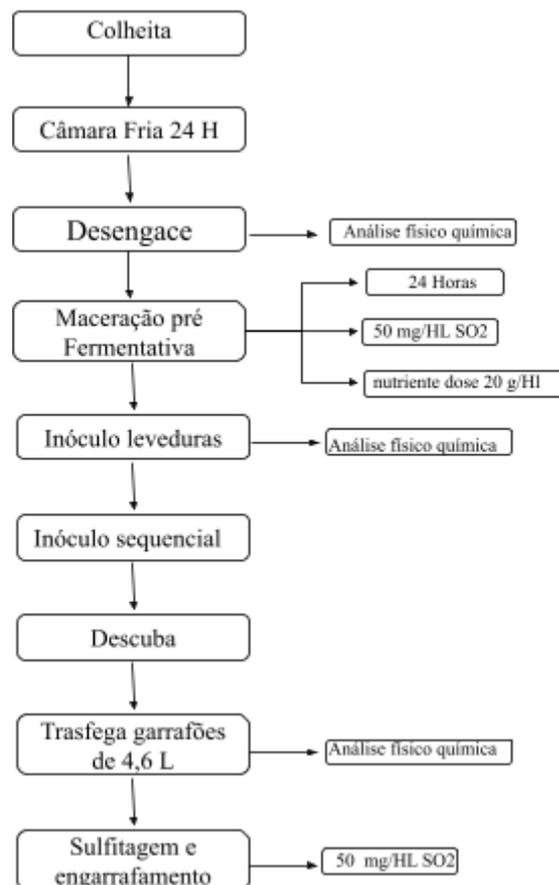
As leveduras foram inoculadas separadamente, sendo T1 com a levedura comercial Maurivin AWRI 796, dose $30 \text{ g} \cdot \text{hL}^{-1}$, T2 com a *S. cerevisiae* autóctone e T3 com a Não-*Saccharomyces* autóctone com inóculo sequencial depois de 5 dias da *S. cerevisiae* autóctone. O processo de inóculo de levedura autóctone foi o padrão para leveduras liofilizadas. As leveduras (autóctones e comerciais) foram reidratadas com água estéril a 37 °C e, sendo realizadas dobras com o mosto até atingir-se no máximo 5 °C de diferença de temperatura entre o fermento e o garrafão.

Durante o processo fermentativo, os garrafões foram mantidos em temperatura ambiente de 20 °C, com duas avaliações diárias de temperatura e densidade, com remontagem abertas a partir do 2º dia no período da manhã e *pigeage*, à noite, desde o início do processo. A descuba foi realizada ao atingir-se a densidade de aproximada de 1.020, no 7º dia do

processo fermentativo para todas as unidades experimentais.

O líquido obtido foi retornado aos garraões e conduziu-se o restante da fermentação no laboratório de Anatomia Animal até o 24º dia do processo, quando foram transferidos para o Laboratório de Produtos de Origem Animal e Vegetal (TPOA/TPOV), com temperatura média de 18 °C, sendo trasfegados aos garraões de 4,6 L ou de 2 L ao atingir densidade inferior a 0,998 e repeti-la por 3 dias consecutivos. Os garraões foram mantidos atestados até o final da Fermentação Maloláctica (F.M.L.), que se deu de maneira espontânea, ao fim da mesma, com confirmação após análise físico-química no aparelho WineScan SO_2^{TM} , os tratamentos foram sulfitados com 50 mg. hL^{-1} de Meta K. e engarrafados, exemplificado pela figura 4.

Figura 4: Fluxograma do processo de vinificação



Fonte: Autor, 2023

3.7. Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram determinadas por Espectroscopia de Infravermelho

por Transformada de Fourier (FT-IR) no equipamento WineScan SO₂® (Foss Analytics, Hillerød, Dinamarca), no Laboratório de TPOA/TPOV da Unipampa de Dom Pedrito. Todas as medidas foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão, as análises realizadas, para o mosto foram: Densidade, Açúcar Redutor, pH; Ácido Tartárico, Ácido Málico, Ácido Glucônico, Amônia, Potássio e Acidez Total. Para o vinho pronto: Álcool, Acidez Total, pH, Acidez Volátil, Açúcares Redutores, Intensidade de Cor, Tonalidade de Cor, Glicerol, Ácido Málico, Ácido Lático e Densidade. As análises de SO₂ Livre e Total, foram realizadas nos equipamentos, da marca Gibertini, Destilador Automático e Quick, no Laboratório de Enoquímica da mesma universidade, e as Antocianinas e Taninos Totais foram totalizados via espectrofotômetro (ZAMORA, 2003), no Laboratório de Reprodução Animal da mesma universidade e a Atividade Antioxidante por DPPH (adaptado de BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995) no Laboratório de Análises Físico Químicas dos Olivais do Pampa, da UNIPAMPA *campus* Bagé.

3.8. Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada por uma equipe composta por onze avaliadores treinados. Foi aplicado um teste de Perfil Descritiva Quantitativa (APÊNDICE J), utilizando uma ficha de degustação que foi adaptada para o Google Forms, com escala de intensidade de nove pontos, sendo 01 - inexistente e 09 - muito intenso, nas variáveis relacionadas aos aspectos visuais, olfativos e gustativos e descritores aromáticos, as amostras foram codificadas com três números aleatório, num teste às cegas.

3.9. Análise Estatística

Os dados obtidos das análises físico-químicas do mosto e do vinho pronto foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com probabilidade de 5% pelo teste Tukey, utilizando o Software *Statistix* 8.

4. APRESENTAÇÃO DA PESQUISA E ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1. Análise Físico-Química do mosto

A tabela 1 apresenta os dados relativos às análises físico-químicas do mosto das uvas Tannat e Cabernet Sauvignon, comparando os tratamentos para cada variedade e entre as mesmas, com as análises de Densidade, Açúcar Redutor, °Brix, pH, Ácido Tartárico, Acidez

Total, Ácido Málico, Ácido Glucônico, Amônia e Potássio.

Em relação a composição do mosto é possível observar na tabela 1 que a concentração de açúcares não difere para a mesma variedade e sim entre elas. Tannat tendo acumulado mais açúcar quando comparada a Cabernet Sauvignon, diferença essa de aproximadamente 26 $g.L^{-1}$ de açúcar. Giovannini (2014) demonstrou que a Tannat acumula em média de 18 a 20 °Brix enquanto a Cabernet Sauvignon varia de 16 a 18 °Brix, dados para a Serra Gaúcha, Triches (2020) identificou acúmulo de mais de 22 °Brix para a Tannat para a região da Campanha Gaúcha e Cunha (2020) identificou que a Cabernet Sauvignon, para o município de Dom Pedrito apresenta acúmulo estimado de 21 °Brix. A diferença na quantidade de açúcar acumulado entre as variedades representa 1,5 °GL de álcool potencial entre elas. Essa discrepância também é verificada nos parâmetros de densidade e °Brix, que seguem a mesma lógica de distinção.

Tabela 2: Caracterização físico-química do mosto de Tannat e Cabernet Sauvignon, produzidos na safra 2022/2023, com levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (T1), levedura autóctone *Saccharomyces cerevisiae* (T2) e leveduras autóctones *Lachancea thermotolerans* com co-inóculo de *S. cerevisiae* (T3)

Amostra*	Tannat T1	Tannat T2	Tannat T3	Cabernet T1	Cabernet T2	Cabernet T3	CV %
Densidade	1.1100 a**	1.1127 a	1.1070 ab	1.0987 c	1.1017 bc	1.0990 c	0,23
Açúcar Redutor	270,17 a	277,77 a	262,57 ab	240,73 c	249,67 bc	242,43 c	2,78
°Brix	25,50 a	26,07 a	24,83 ab	23,20 c	23,93 bc	23,27 c	2,20
pH	3,32 b	3,34 b	3,27 b	3,52 a	3,54 a	3,51 a	1,43
Ácido Tartárico	5,23 a	5,30 a	5,50 a	4,60 b	4,47 b	4,53 b	4,60
Acidez Total	80,4 a	75,6 a	80,93 a	59,07 a	59,07 a	60,4 a	14,43
Ácido Málico	2,23 a	1,93 a	1,87 a	0,97 a	1,07 a	1,17 a	42,28
Ácido Glucônico	0,67 a	0,57 ab	0,47 ab	0,30 b	0,30 b	0,43 ab	24,27
Amônia	54,33 a	56,00 a	47,00 a	35,00 a	37,00 a	38,33 a	19,56
Potássio	634,00 ab	637,67 ab	538,00 b	645,00 ab	661,00 a	673,67 a	6,42

* unidade de medida dos parâmetros: Densidade a 20 °C; Açúcar Redutor ($g.L^{-1}$); pH; Ácido Tartárico ($g.L^{-1}$); Ácido Málico ($g.L^{-1}$); Ácido Glucônico ($g.L^{-1}$); Amônia ($mg.L^{-1}$); Potássio ($mg.L^{-1}$); Acidez Total ($mEq.L^{-1}$).

** Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente com 5% de probabilidade de erro pelo teste Tukey. **Fonte:** Autor, 2023.

A concentração de Ácido Tartárico foi maior para a Tannat do que para a Cabernet Sauvignon, o que explica o pH mais baixo de Tannat, mesmo que não exista diferença estatística na Acidez Total, nem para os tratamentos nem para as variedades. A relação da concentração de ácido tartárico com o pH dos vinhos é comprovada por Daudt & Fogaça (2008). Maiores concentrações de ácido tartárico podem ser um problema se ocorrer ainda uma alta concentração de potássio, uma vez que ao se combinarem ocorre a precipitação do sal bitartrato de potássio, cujo principal resultado é a diminuição da acidez do vinho (BOULTON, 1980; RIZZON *et al*, 1998), o que para este estudo não é um problema tendo em vista a concentração baixa de potássio na cultivar Tannat.

As concentrações de Ácido Glucônico evidenciam a qualidade sanitária das uvas utilizadas, uma vez que este ácido em mostos e vinhos é próprio de fontes ácidas. Ele é produzido por fungos e/ou bactérias que oxidam a glucose em ácido glucônico, que não é utilizado pelas leveduras ou bactérias (NUNES, 2008 *apud* ZOECKLEIN, 2006) sendo usado como um indicador de deterioração de frutas (HAMM, 2017), justificando a baixa dose inicial de SO_2 empregada.

O Ácido Málico é um produto intermediário do metabolismo do cacho e sua concentração diminui à medida que a uva amadurece, uma vez que ele pode ser transformado em açúcar mas principalmente sofre combustão devido a pouco resistente à respiração oxidativa (TOGORES, 2011; RIZZON, 2007), além de que é o ácido que sobre uma segunda fermentação, a malolática, tendo em vista que é metabolizado por bactérias lácticas, apresentando-se em concentrações que variam de 0,2 a $7 g \cdot L^{-1}$ (VICENTE, 2022). A Amônia é uma das fontes de nutrição mais importantes para as leveduras durante o processo fermentativo e sua deficiência impacta desde a produção de compostos aromáticos até a para completa da F.A. (BELL *et al*, 2005), motivo pelo qual sua análise é utilizada para determinar a adição de nutrientes ao mosto. O Ácido Málico e a Amonia não apresentaram diferenças estatísticas.

A concentração de Potássio foi muito semelhante para ambas as uvas, mesmo que estatisticamente T2 e T3 de Cabernet Sauvignon sejam diferentes, os valores em si são pouco discrepantes. Presença muito elevada de potássio no mosto podem ser relacionadas a diminuição da acidez total e aumento do pH, importante fator de conservação, sobretudo da estabilidade das antocianinas, a pH menor que 4 (STEIN *et al.*, 2018). Os valores encontrados diferem significativamente dos observados por Aloy (2023), no qual a concentração inicial de

potássio é próxima a 1000 mg.L^{-1} , evidenciando o quão significativo é a influência do *terroir* sobre as variedades, tendo em vista que as uvas originaram-se do município de Bagé e as deste estudo são de Dom Pedrito.

4.2. Análise Físico-Química dos vinhos

A tabela 2 demonstra os resultados dos vinhos, comparando os tratamentos para cada variedade e entre as mesmas, com as análises de Densidade, Álcool, pH, Açúcares Redutores, Acidez Total, Acidez Volátil, Glicerol, Ácido Málico, Ácido Lático, Intensidade de Cor, Tonalidade de Cor, Taninos Totais, Antocianinas Totais, Atividade Antioxidante, SO_2 livre e total.

A respeito da densidade fica evidente que apenas o T2 de Tannat apresentou diferença estatística, isso ocorreu pois foi o único tratamento que não completou a fermentação alcoólica, evidência confirmada pelo resultado dos açúcares redutores, que é o mesmo, tendo esse tratamento permanecido com residual de açúcar de aproximadamente 18 g.L^{-1} , o que representa 1°GL de álcool potencial (TOGORES, 2011) não utilizado. Mesmo que estatisticamente não tenha ocorrido diferença significativa para o álcool dentro deste tratamento fica evidente que a sua produção foi menor, em 0,75 % v/v, comparável com os resultados encontrados por Hranilovic (2021).

A diferença de produção alcoólica entre as variedades é explicável em função do acúmulo inicial de cada uva, com a variedade Cabernet Sauvignon acumulando menos açúcares do que a Tannat (TRICHES, 2020; CUNHA, 2020).

A Acidez total diferiu no T1 para ambas as variedades, isso ocorreu pois esses tratamentos não completaram a FML, mesmo que o parâmetro ácido lático não apresente diferença significativa, o ácido málico se difere no T1 de Tannat e o T1 de Cabernet Sauvignon é estatisticamente igual a ele. Hranilovic (2021) e Sgouros (2020) apresentam resultados contrastantes, uma vez que ao utilizar uma *L. thermotolerans* co-inoculada com *S. cerevisiae* a produção de ácido lático foi aumentada, em consequência da diminuição do pH, o que não acontece aqui, pois a produção de ácido lático para T3 foi a menor registrada.

A FML foi conduzida de forma espontânea e paradas de fermentação nesses casos não são incomuns. Uma hipótese para isso é que, devido a característica da fermentação, ali ocorram várias estirpes de Bactérias Ácido Lácticas (BAL) e estas possuem diferentes níveis de tolerância ao álcool, a capacidade de sobrevivência e crescimento das BAL decresce à medida que as concentrações de etanol aumentam (INÊS, 2008). Importante ressaltar que, o

T1 de Cabernet Sauvignon chegou a realizar mais da metade da sua FML o oposto do T1 de Tannat, que não chegou a metade, o T1 de Tannat é o tratamento com maior concentração de álcool dessa variedade.

Tabela 3: Caracterização físico-química de vinhos Tannat e Cabernet Sauvignon, produzidos na safra 2022/2023, com levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (T1), levedura autóctone *S. cerevisiae* (T2) e leveduras autóctones *Lachancea thermotolerans* com co-inóculo de *S. cerevisiae* (T3)

Amostra*	Tannat T1	Tannat T2	Tannat T3	Cabernet T1	Cabernet T2	Cabernet T3	CV %
Densidade	0,9927 b	0,9979 a	0,9924 b	0,9931 b	0,9939 b	0,9927 b	0,13
Álcool	15,46 a	14,71 abc	14,95 ab	13,35 c	13,74 bc	13,48 bc	3,93
pH	3,42 bc	3,61 ab	3,49 abc	3,39 c	3,58 abc	3,63 a	2,04
Açúcares reduzidos	2,77 b	17,83 a	4,70 b	1,77 b	3,40 b	2,37 b	67,38
Acidez Total	121,73 a	97,33 b	98,27 b	115,6 a	99,6 b	89,73 b	5,11
Acidez volátil	0,47 c	0,47 c	0,73 b	0,57 bc	0,47 c	0,97 a	13,36
Glicerol	13,20 ab	14,00 a	12,30 bcd	11,00 d	12,47 bc	11,77 cd	4,1
Ácido Málico	1,68 a	0,24 b	0,17 b	0,57 ab	0,41 b	0,36 b	76,87
Ácido Lático	1,23 a	1,5 a	1,37 a	2,03 a	1,60 a	1,13 a	32,61
Intensidade de Cor	3,57 a	3,25 a	3,08 a	2,08 b	1,65 bc	1,40 c	8,72
Tonalidade de Cor	0,62 c	0,61 c	0,59 c	0,65 bc	0,72 a	0,71 ab	4,17
Taninos totais	2,80 a	2,95 a	2,45 a	1,50b	1,61 b	1,63 b	10,38
Antocianinas totais	466,38 a	464,63 a	387,04 a	280,29 b	295,10 b	245,49 b	9,11
Atividade Antioxidante	89,30 a	85,98 a	85,14 a	59,38 b	60,49 b	58,93 b	5,32
SO ₂ Livre	18,10 a	7,47 a	14,93 a	10,20 a	12,33 a	30,43 a	57,1
SO ₂ Total	66,77 a	30,20 a	45,20 a	57,40 a	45,20 a	49,83 a	41,23

* unidade de medida dos parâmetros: álcool (% v/v); Acidez Total ($mEq. L^{-1}$); pH; Acidez volátil ($g. L^{-1}$ de ácido acético); Açúcares reduzidos ($g. L^{-1}$); Intensidade de cor; Tonalidade de Cor; Glicerol ($g. L^{-1}$); Ácido Málico ($g. L^{-1}$); Ácido Lático ($g. L^{-1}$); Densidade a 20 °C; Taninos totais ($g. L^{-1}$); Antocianinas Totais ($mg. L^{-1}$); Capacidade Antioxidante (% de inibição); SO₂ Livre ($mg. L^{-1}$) e SO₂ Total ($g. L^{-1}$).

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente com 5% de probabilidade de erro pelo teste Tukey. **Fonte:** Autor, 2023.

A variação da acidez volátil se deu no T3 que foi destaque entre os tratamentos para ambas as variedades, a literatura traz que o aroma característico de vinagre é decorrente dessa acidez e passa a ser perceptível a partir de $0,8 \text{ g.L}^{-1}$ (GABBARDO & JACOBS, 2023). O principal resultado encontrado da utilização de uma *L. thermotolerans* em sequência de uma *S. cerevisiae* (T3) é um aumento nos teores de glicerol associado a diminuição da acidez volátil (MORATA, 2018), fato que não ocorreu neste estudo, já que os maiores valores de glicerol se deram em ambos T2, além que de ambos os T3 apresentaram maiores valores de acidez volátil, no entanto Sgouros (2020) apresenta aumento da acidez volátil em tratamento com *L. thermotolerans* em sequência de uma *S. cerevisiae*, Benito (2018) apresenta dados semelhantes, em que ao utilizar *L. thermotolerans* em sequência de uma *S. cerevisiae* ocorre uma variação na acidez volátil de aproximadamente 50%.

A cor do vinho é o resultado das diferenças de comportamento com relação às luzes que têm comprimentos de onda entre 420 e 620 nm, ou seja, as cores visíveis do amarelo ao azul, passando pelo laranja, vermelho e púrpura. A intensidade de cor é calculada pela soma das absorvâncias de 420 nm (amarelo), 520 nm (vermelho) e 620 nm (azul), a tonalidade é calculada através da relação entre a absorvância de 420 nm e 520 nm (PEYNAUD & BLOUIN, 2010). A intensidade nos dá uma ideia da quantidade de cor em um vinho, a tonalidade nos indica a importância relativa da cor amarela sobre a cor roxa (ZAMORA, 2003).

Ribeiro (2018) aponta que a maturação fenólica das uvas é um fator de grande influência na intensidade de cor, já que os resultados por ela encontrados foram abaixo dos recomendados por Ribéreau-Gayon (2006), devido à colheita muito antecipada da uva, situação que não ocorreu para este estudo. A variedade Tannat não apresentou diferença estatística, no entanto o T3 de Cabernet Sauvignon se difere dos demais tratamentos, isso é compreensível tendo em vista o pH do mesmo, já que quanto mais alto o pH mais baixa a intensidade de cor, uma vez que o pH é o principal fator de relevância para a conservação da coloração do vinho (CASSIANO, 2014), isso ocorre pois o pH tem alta influência na estabilidade do cátion flavilium, em pH próximo a 1 ele é vermelho e próximo a 3,5-4,0 (caso dos vinhos) a cor puxa para o roxo (PINA *et al*, 2015).

A tonalidade indica a evolução da cor em pigmentos amarelos devido a reações de oxidação e/ou redução no teor de antocianinas, quanto maior a tonalidade maior a oxidação do

vinho. Uma vez que se trata do quociente entre a absorvância a 420 nm (amarelo) e a 520 nm (vermelho), tende a ser superior em vinhos mais velhos, dado que, com a oxidação, os pigmentos adquirem tons mais amarelados ou acastanhados. Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (2006), este parâmetro toma valores na ordem dos 0,5-0,7, em vinhos jovens, até valores de 1,2-1,3, em vinhos envelhecidos, demonstrando que os vinhos deste estudo são classificados como jovens.

Os Taninos Totais e as Antocianinas Totais se diferenciam entre as variedades, o que se explica pelo potencial de acúmulo maior da Tannat em comparação com a Cabernet Sauvignon, essa característica da variedade é também demonstrada em outros trabalhos realizados na região da Campanha Gaúcha (SARTORI, 2011; ZOCHE, 2016). Sabe-se que as antocianinas totais são diretamente influentes na intensidade de cor dos vinhos, uma vez que é basicamente composta por flavonoides, que dão a cor aos vinhos (CABRITA *et al.*, 2003), essa relação é comprovada por outros pesquisadores (PÖTTER *et al.*, 2010).

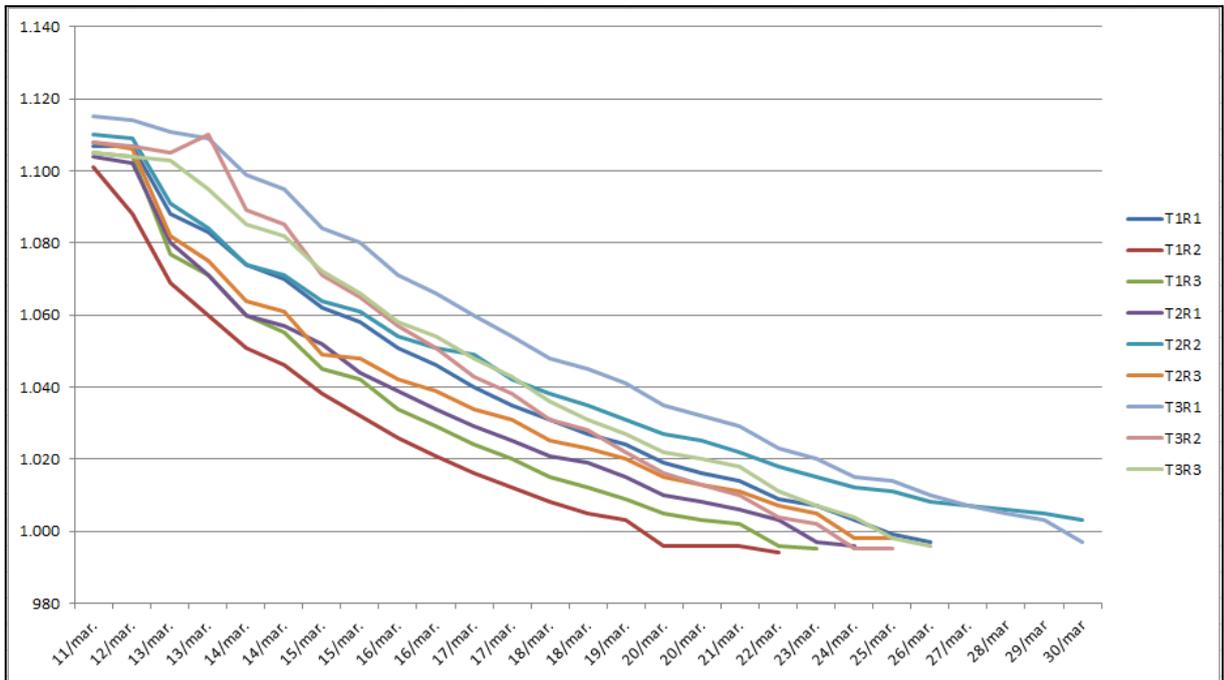
A atividade antioxidante (A.A) apresentou variação apenas entre as variedades, não tendo os tratamentos exercido influência sobre a mesma. Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade de oxidação, através de mecanismos distintos, como a inibição de radicais livres ou complexação de metais, nos vinhos os antioxidantes são os compostos fenólicos, motivo pelo qual a atividade antioxidante é associada a maior concentração de antocianinas, logo, maior atividade antioxidante maior concentração de antocianinas, motivo pelo qual a Tannat apresenta maior A.A. do que a Cabernet Sauvignon (LINS, 2014; IVANOVA-PETROPULOS, 2016; MAIA, 2018).

A legislação brasileira não estabelece um mínimo ou máximo para o SO_2 Livre, porém a literatura recomenda um mínimo de $30 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ (WATERHOUSE *et al.*, 2016) para vinho pronto, e um máximo estabelecido por lei é de $300 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ de SO_2 total para vinho pronto, os vinhos produzidos encontram-se dentro dos parâmetros estabelecidos por lei (BRASIL, 1988).

4.3. Cinética de Fermentação

A figura 5 apresenta a evolução da fermentação alcoólica para o Tannat, a diferença inicial de densidade entre os tratamentos foi em média de 0.010, o mesmo se manteve para o meio do processo. O T3 apresentou início de F.A. com três dias de diferença. Uma das repetições do T2 teve parada de fermentação a densidade 1.003. O fim do processo se deu com oito dias de diferença entre o tratamento controle e os demais.

Figura 5: Gráfico de acompanhamento da evolução da fermentação de Tannat pela diminuição da densidade através do tempo

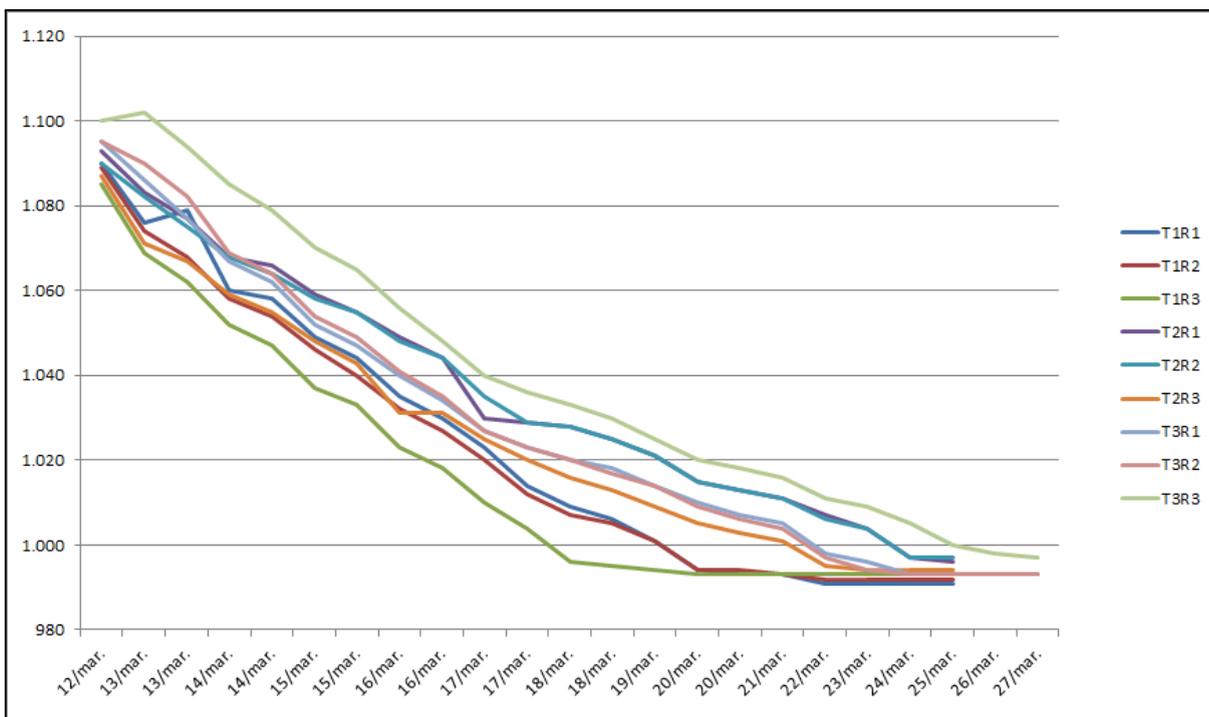


Acompanhamento da evolução da densidade, início em 1.115 em 11/03/2023 e final em 0.995 em 30/03/2023.

Fonte: Autor, 2023.

A figura 6 apresenta a evolução da F.A. da Cabernet Sauvignon, a diferença de densidade inicial entre dos tratamentos foi de aproximadamente 0.020, o mesmo se manteve no meio do processo fermentativo. O início do processo foi mais lento para o T3 se relacionado aos demais tratamentos e todas as repetições terminaram o processo fermentativo, com diferença de 4 dias entre elas.

Figura 6: Gráfico de acompanhamento da evolução da fermentação de Cabernet Sauvignon pela diminuição da densidade através do tempo



Acompanhamento da evolução da densidade, início em 1.102 em 11/03/2023 e final em 0.991 em 27/03/2023.

Fonte: Autor, 2023.

Blanco (2020) apresenta situação semelhante, em seu estudo ela utilizou leveduras *L. thermotolerans* comerciais e autóctones, e as autóctones apresentaram atraso de dois dias para início do processo de fermentação, sugerindo que a levedura foi incapaz de aumentar sua população devido a microbiota do meio. Binati (2020) comparou a utilização de *S. cerevisiae* autóctone e *L. thermotolerans* autóctone sequenciada a uma *S. cerevisiae* autóctone para fermentação e o mesmo resultado é percebido, um atraso de 2 a 3 dias no início da fermentação da *L. thermotolerans*. Esse atraso para iniciar o processo pode ser mais um dos fatores que justificam os elevados valores de acidez volátil detectadas na análise físico química.

4.4. Análise Sensorial

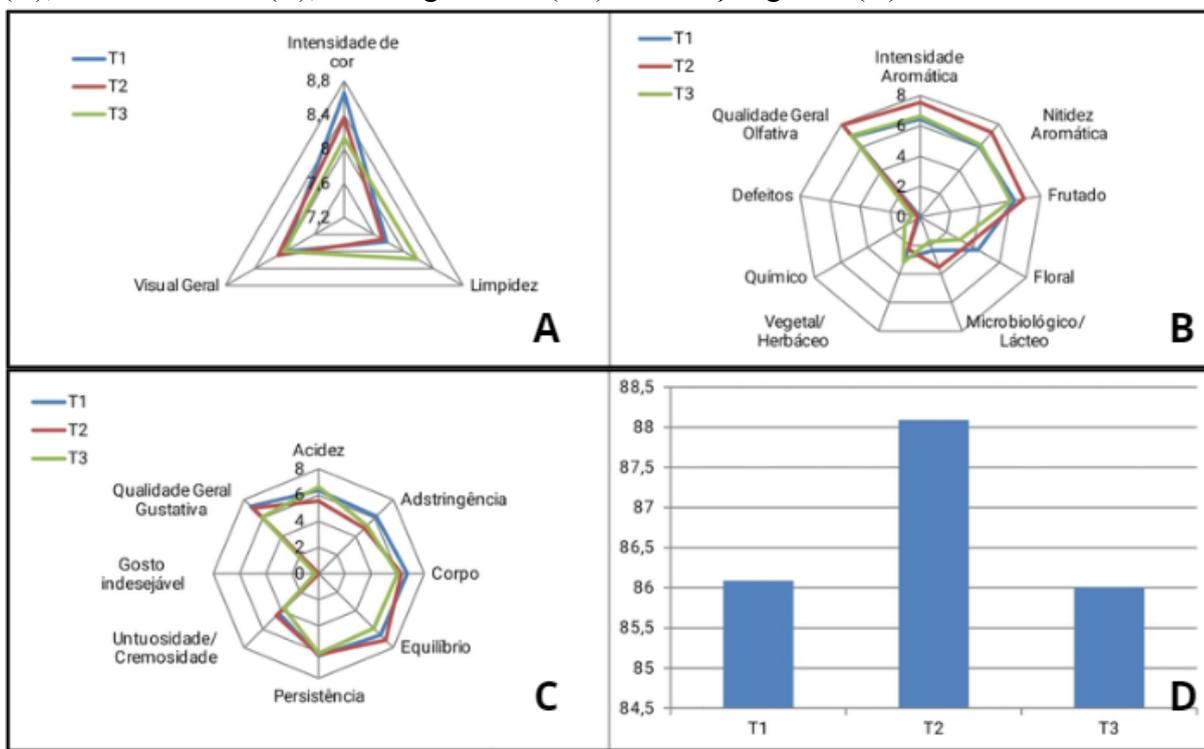
A figura 7 (A) apresenta a análise visual dos vinhos Tannat, tratando-se da intensidade de cor o tratamento com *S. cerevisiae* comercial (T1) foi destaque, porém na avaliação geral o destaque foi a *S. cerevisiae* autóctone (T2), ainda que todos tenham ficado muito próximos. No parâmetro de limpidez, a utilização de *L. thermotolerans* autóctone em co-inóculo da *S. cerevisiae* autóctone (T3) teve influência positiva.

De maneira geral, a *S. cerevisiae* autóctone (T2) teve o maior destaque nos parâmetros olfativos (B), com incremento na percepção do aroma frutado, na nitidez e intensidade de aromas. O tratamento com *S. cerevisiae* comercial e com inoculação sequencial de leveduras autóctones teve percepção muito semelhante, com destaque para o aroma floral no T1 e para o herbáceo para o T3.

Como demonstrado nos apêndices D, E e F, os avaliadores atribuíram mais descritores aromáticos aos tratamentos com leveduras autóctones (T2 e T3), com incremento dos aromas de especiarias, defumação e maior descrição de aromas específicos, como framboesa, violeta, e amora do que simplesmente as famílias aromáticas. O T1 sendo descrito principalmente como um vinho frutado, o T2 sendo frutado com citação de aroma de especiarias e defumação e o T3 sendo o mais complexo, mesmo que com citação de alguns defeitos aromáticos (esmalte ou aroma químico) isso não foi pontuado pelo avaliadores, e a sua complexidade aromática se destaca.

Para a avaliação gustativa (C) todos os tratamentos se apresentaram de forma similar, sem destaques negativos, mesmo que na análise físico-química o T1 seja o destaque aqui o T3 foi avaliado com maior percepção ácida, esse resultado é comparável ao de Hranilovic (2021). Para a avaliação global (D), o T2 foi o tratamento em evidência, com dois pontos a mais de diferença em relação aos demais.

Figura 7: Avaliação sensorial dos vinhos Tannat, produzidos na safra 2022/2023 vinificado com levedura *S. cerevisiae* Comercial (T1), levedura *S. cerevisiae* autóctone (T2) e *Lachancea thermotolerans* co-inoculada com *S. cerevisiae* autóctones (T3): análise visual (A); análise olfativa (B); análise gustativa (C) e avaliação global (D).



Fonte: Autor, 2023

A figura 8 (A) apresenta a análise visual dos vinhos Cabernet Sauvignon, nesta variedade os tratamentos com leveduras autóctones foram melhor avaliados, sendo que a intensidade de cor foi maior para o T2 e a limpidez e avaliação geral foram melhor para o T3.

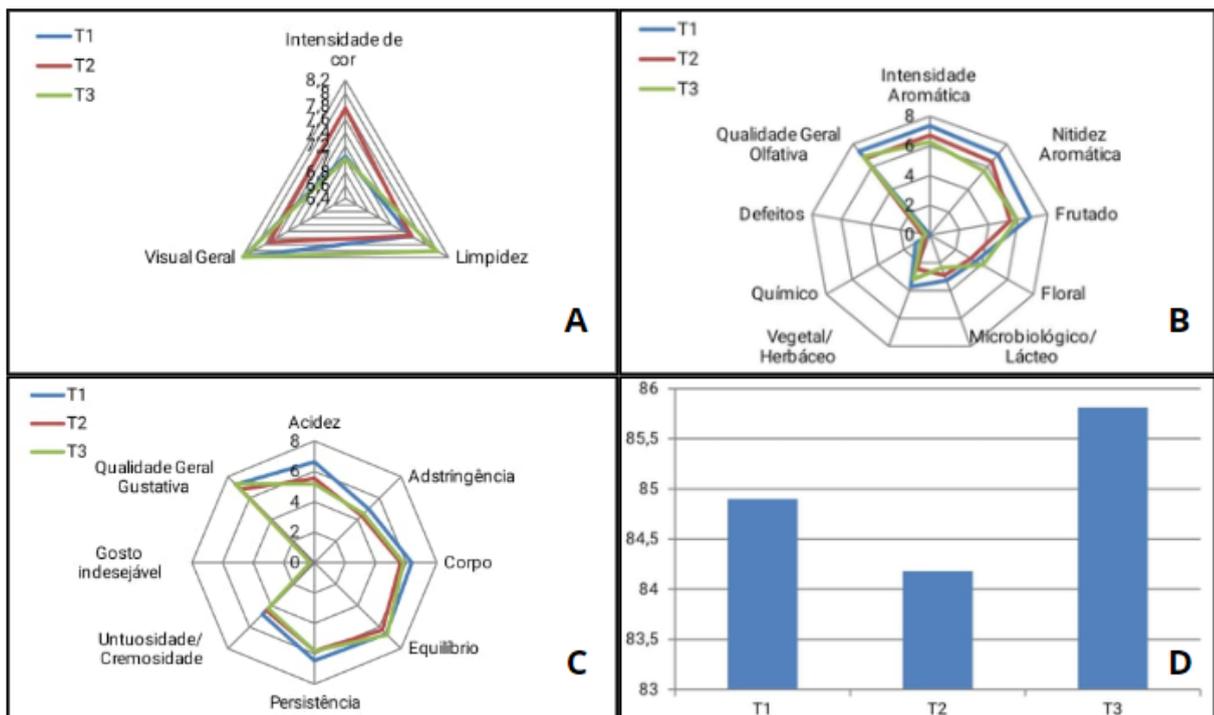
Para a avaliação olfativa (B) o tratamento utilizando levedura comercial foi melhor pontuado por parte dos avaliadores, com exceção de um leve incremento na percepção do aroma floral no T3. Interessante ressaltar que a característica aromática “herbácea/vegetal” não é de muito interesse para a variedade, e ambos os tratamentos utilizando as leveduras autóctones tiveram menor percepção por parte dos julgadores, sendo menor para T2 seguida do T3, Morata (2019) identificou menor aroma herbáceo ao utilizar um *L. thermotolerans* em sequência de uma *S. cerevisiae*. Embora o T3 tenha apresentado elevado valor de acidez volátil é importante destacar que isso não foi apontado como defeito pelos avaliadores, e para este tratamento o aroma floral foi mais perceptível.

Os apêndices G, H e I demonstram os descritores aromáticos percebidos pelo avaliadores para a Cabernet Sauvignon, o tratamento com levedura comercial apresentou maior quantidade de descritores percebidos, como já citado, foi o preferido dos avaliadores, com grande citação de descritores aromáticos específicos (framboesa, açaí, ameixa, flores,

etc.); enquanto que o T2 foi mais descrito com caráter floral, inclusive com apontamento da flor “Dama da Noite”, da “Violeta” e de “Rosas Vermelhas”; e o T3, mesmo que o aroma acético tenha sido citado ele não foi marcado como defeito e o caráter complexo do tratamento é o maior destaque, uma vez que se cita bastante as especiarias (cravo, hibisco e pimenta) e os aromas terciários (manteiga e tostado) para além das frutas e flores, a complexidade aromática desse tratamento é também descrita por outros autores (BENITO, 2018; BRANCO, 2020; HRANILOVIC, 2021).

Mesmo que o tratamento mais destacado pelos avaliadores para a avaliação gustativa (C) tenha sido o T1, é importante ressaltar que para o equilíbrio e a avaliação geral o T3 foi o escolhido, fato que se confirma com a avaliação global (D) na qual o T3 foi o mais pontuado.

Figura 8: Avaliação sensorial dos vinhos Cabernet Sauvignon, produzidos na safra 2022/2023 vinificado com levedura *S. cerevisiae* comercial (T1), levedura *S. cerevisiae* autoctone (T2) e *Lachancea thermotolerans* co-inoculada com *S. cerevisiae* autóctone (T3): análise visual (A); análise olfativa (B); análise gustativa (C) e avaliação global (D).



Fonte: Autor, 2023

Fica evidente que as amostras fermentadas com leveduras nativas destacaram-se na avaliação global para ambas as variedades. Para a Tannat, o grupo de avaliadores identificou que o melhor resultado se deu da utilização apenas da *S. cerevisiae* autóctone, enquanto que para Cabernet Sauvignon o preferido foi o que fez uso de inoculação sequencial entre uma *N-Saccharomyces* e uma *S. cerevisiae* autóctone, demonstrando o potencial de aceitação

destas leveduras, o que é condizente com os resultados encontrados por Callejón (2010), Jacobs (2016), Gabbardo (2020) e Correia (2022).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados encontrados pode se concluir que:

- 1) O período de 48 H para o meio líquido YEPD é o suficiente para produção de células de leveduras viáveis para a fermentação de mosto de uva.
- 2) As leveduras autóctones conseguiram se adaptar ao meio fermentativo, conduzindo a fermentação, em sua maioria até o final, produzindo álcool de maneira muito semelhante à levedura controle;
- 3) Os tratamentos com levedura autóctones influenciaram positivamente a Fermentação Malolática, tendo em vista que foi conduzida de forma espontânea, e estes foram os tratamentos que a completaram;
- 4) Ao contrário do que trás a literatura, a utilização de *L. thermotolerans* não aumentou a acidez total do vinho produzido, nem impactou na produção de ácido lático ou glicerol;
- 5) A *S. cerevisiae* autóctone aqui empregada foi capaz de aumentar a produção de glicerol do vinho;
- 6) A associação específica desta *S. cerevisiae* e *L. thermotolerans* autóctones produziu uma quantidade maior de ácido acético;
- 7) A cinética de fermentação foi influenciada pelas leveduras autóctones, para a *S. cerevisiae* influenciando em uma não F.A. completada dado o potencial alcoólico muito alto do mosto e para *L. thermotolerans* resultou em um atraso para iniciar a F.A. e consequente demora para a conclusão da mesma;
- 8) Sensorialmente, para a Tannat, a *S. cerevisiae* autóctone teve influência positiva sobre os aromas, incrementando principalmente a percepção do aroma frutado, além da citação dos aromas de especiarias, defumação e maior descrição de aromas frutados específicos para ambos os tratamentos com leveduras autóctones;
- 9) Sensorialmente, para a Cabernet Sauvignon, o T2 teve maior percepção de aromas florais específicos e o T3 foi descrito como mais complexo e equilibrado, ambos os tratamentos tiveram impacto positivo sobre o aroma “vegetal/herbáceo”, diminuindo sua percepção;
- 10) Para ambas as variedades os tratamentos com leveduras autóctones foram melhor pontuados pelos avaliadores, sendo os preferidos;

Os resultados aqui encontrados demonstram o grande potencial de emprego de leveduras

autóctones para a produção de vinhos finos, tanto para as características físico-químicas quanto sensoriais dos mesmos.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Os vinhos produzidos neste trabalho passarão por análises cromatográficas para caracterização do perfil volátil através de CG-MS e do perfil fenólico através de HPLC em parceria com o Laboratório de Análise Instrumental do IFSC - Campus São Miguel do Oeste.

REFERÊNCIAS

ALOY, K. G.; ZOCHE, R. G. S.; STEIN, T.; ECKHARDT, D. P.; ALVES, G. B.; MARTINS, H. C. G. B.; JACOBS, B.; JACOBS, S. A. Defoliación e Impactos en la Composición Fisicoquímica Del Vino Cabernet Sauvignon. **Revista Iberoamericana De Tecnología Postcosecha**; v. 24. p. 73-86, n. 1; 2023.

ALVES, M. E. B. Potencial e riscos climáticos para a produção vitícola na região da Campanha Gaúcha. cap 8, 2021.

ARCHELA, E.; DALL'ANTONIA, L. H. Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão. **Semana: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina**, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2013.

BELL, S. J.; HENSCHKE, P. A. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. **Australian journal of grape and wine research**, v. 11, n. 3, p. 242-295, 2005.

BENITO, Santiago. The impacts of *Lachancea thermotolerans* yeast strains on winemaking. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, p. 6775-6790, 2018.

BINATI, R. L.; JUNIOR, W. J. L.; LUZZINI, G.; SLAGHENAUFI, D.; UGLIANO, M.; TORRIANI, S. Contribution of non-Saccharomyces yeasts to wine volatile and sensory diversity: A study on *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia spp.* and *Starmerella bacillaris* strains isolated in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 318, p. 108470, 2020.

BLANCO, P.; Rabuñal, E.; Neira, N.; Castrillo, D. Dynamic of *Lachancea thermotolerans* population in monoculture and mixed fermentations: Impact on wine characteristics. **Beverages**, v. 6, n. 2, p. 36, 2020.

BRAND-WILLIAMS, W.; COUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL, Lei nº 7.678, de 08 de Novembro de 1988 . Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/1980-1988/17678.htm. Acesso em: 26 de Out. de 2023.

BOULTON, R. The relationships between total acidity, titratable acidity and pH in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 31, n. 1, p. 76-80, 1980.

BUCHABQUI, R. P. M. Desenvolvimento territorial e autenticidade: um estudo sobre a região da campanha gaúcha, 2021.

CABRITA, M. J.; RICARDO-DA-SILVA, J.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. **I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. Anais... Ensenada, México**, 2003.

CASSIANO, I. da R. Influência do tempo de maceração na vinificação do cabernet sauvignon da região da campanha. **Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Bacharelado em Enologia, Universidade Federal do Pampa**, p. 32-33, 2014.

CALLEJON, R. M.; CLAVIJO, A.; ORTIGUEIRA, P.; TRONCOSO, A. M.; PANEQUE, P.; & MORALES, M. L. Volatile and sensory profile of organic red wines produced by different selected autochthonous and commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Analytica Chimica Acta**, v. 660, n. 1-2, p. 68-75, 2010.

CHARTERS, S; MENINVAL. D; SENAUX, B; SERDUKOV, S (2013). Value in the territorial brand: The case of champagne. **British Food Journal**. v. 115. p. 1505-1517. 2013.

CIANI, M., BECO, L.; & COMITINI, F. Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. **International journal of food microbiology**, v. 108 n. 2, p. 239-245, 2006.

CORREIA, F. B. Estudo da Influência de Leveduras Autóctones nas Características Organolépticas de Vinhos Tintos da Herdade do Esporão. **Tese de Doutorado**, 2022.

CRABTREE, Herbert Grace. Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. **Biochemical Journal**, v. 23, n. 3, p. 536, 1929.

CRUXEN, C.; FIORENTINI, Â. Microorganismos na fermentação de alimentos e bebidas. Ed 1, Viseu, 2023.

CUNHA, W. M. da. Metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da região da Campanha Gaúcha. **Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas**, p. 63, 2020.

DAMASO, M. C. T.; COURI, S. Fermentação, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - **Embrapa**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimento/s/processos/tipos-de-processos/fermentacao>. Acesso em: 21 de nov. de 2023.

DAUDT, C. E.; FOGAÇA, A. de O. Efeito do ácido tartárico nos valores de potássio, acidez titulável e pH durante a vinificação de uvas Cabernet Sauvignon. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2345-2350, 2008.

DE SOUZA, G. G.; MENEGHIN, L. O.; COELHO, S. P.; MAIA, J. F.; & DA SILVA, A. G. A uva roxa, *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) – seus sucos e vinhos na prevenção de doenças cardiovasculares. 4. **CEP**, V. 29102, P. 770, 2006.

DUBOURDIEU, D. Papel das Leveduras na Génese do Aroma Varietal Derivado de Enxofre dos Vinhos: Exemplo do Sauvignon, **Revista Internet Técnica do Vinho**, n. 11, 2003.

ESCRIBANO, R.; GONZÁLEZ-ARENZANA, L.; GARIJO, P.; BERLANAS, C.; LÓPEZ-ALFARO, I.; LÓPEZ, R.; GUTIÉRREZ, A. R.; SANTAMARÍA, P. Screening of enzymatic activities within different enological non-*Saccharomyces* yeasts. **Journal of food science and technology**, v. 54, p. 1555-1564, 2017.

FERREIRA, D. de S. Determinação do potencial aromático de vinhos espumantes cujos vinhos base foram elaborados com leveduras *Saccharomyces* e *Torulaspora delbrueckii*.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2018.

GABBARDO, E. T. Variabilidade do perfil aromático de vinhos Gewürztraminer em função da levedura utilizada na fermentação alcoólica. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, 2020.**

GABBARDO, E. T.; JACOBS, S. A. Microrganismos na fermentação de alimentos e bebidas, Ed 1, **Viseu**, cap. 4, p. 104-135, 2023.

GIOVANNINI, E. Manual de Viticultura, Bookman, p. 94-95, 2014.

GOFFEAU, A. et al. Life with 6000 genes. **Science** , v. 274, n. 5287, pág. 546-567, 1996.

GOMES, F. P. Curso de estatística experimental 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990.

GONZÁLEZ, V. F. A base química do aroma do vinho: uma viagem analítica desde as moléculas até às sensações olfacto-gustativas. parte 2: classificação dos compostos aromáticos. **Jornal Internet de Viticultura e Enologia**, n. 5, 2010.

HAMM, B. L. Reguladores vegetais na pós-colheita de uvas 'itália'. **Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Bacharelado em Enologia, Universidade Federal do Pampa, 2017.**

HIRST, M. B.; RICHTER, C. L. Review of Aroma Formation through Metabolic Pathways of *Saccharomyces cerevisiae* in Beverage Fermentations. **American Journal of Enology and Viticulture** , v. 67, n. 4, pág. 361-370, 2016.

HRANILOVIC, A.; GAMBETTA, J. M.; SCHMIDTKE, L.; BOSS, P. K.; GRBIN, P. R.; MASNEUF-POMAREDE, I.; BELY, M.; ALBERTIN, W.; JIRANEK, V. Oenological traits of *Lachancea thermotolerans* show signs of domestication and allopatric differentiation. **Scientific Repors**, v. 8 n. 1, p. 14812, 2018.

INÊS, A.; TENREIRO, T.; TENREIRO, R.; MENDES-FAIA, A. Revisão: as bactérias do ácido láctico do vinho—parte I. **Ciência Téc. Vitiv**, v. 23, n. 2, p. 81-96, 2008.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE. Produção de Uva, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/uva/rs>. Acesso em: 14 de Set. de 2023.

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE. OIV . **Resolução nº 333/2010, de 25 de Junho de 2010**, Tbilissi - GA, 2010. Dispõe sobre a definição de "Terroir" Disponível em: <https://www.oiv.int/public/medias/382/viti-2010-1-fr.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2023.

IVANOVA-PETROPULOS, V., DURAKOVA, S., RICCI, A., PARPINELLO, G. P., & VERSARI, A. Extraction and evaluation of natural occurring bioactive compounds and change in antioxidant activity during red winemaking. **Journal of food science and technology**, v. 53, p. 2634-2643, 2016.

JACOBS, S. A; JACOBS, B; ZOCHE, F; ZOCHE, R. G. S; PÖTTER, G. H; SIMÕES, L; SOUZA, V. Q; NARDINO, M; CARVALHO, I. R; ROMBANDI, C. V. Microbiological characterization of grapes in the Campanha region of Rio Grande do Sul, Brazil reveals non-Saccharomyces autochthonous yeasts with oenological potential. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, p. 286-294, 2016.

JOLLY, N. P.; VARELA, C.; PRETORIUS, I. S. Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. **FEMS yeast research**, v. 14, n. 2, p. 215-237, 2014.

KURTZMAN, C. P. Phylogenetic circumscription of *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* and other members of the *Saccharomycetaceae*, and the proposal of the new genera *Lachancea*, *Nakaseomyces*, *Naumovia*, *Vanderwaltozyma* and *Zygorulasporea*. **FEMS yeast research**, v. 4, n. 3, p. 233-245, 2003.

LINS, A. R.; SARTORI, G. V. Qualidade fenólica e atividade antioxidante de vinhos tintos produzidos no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 1, p. 69-76, 2014.

LOPES, R. V. S. Análise De Parâmetros Físico-Químicos De Vinhos Tintos Brasileiros, **Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Licenciatura em Química, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro**, 2017.

MAIA, A. F. Composição físico-química e sensorial de sucos de *Vitis vinifera* L. 'Alicante Bouschet' e 'Merlot' com uvas da região de Santana do Livramento, RS. **Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Bacharelado em Enologia, Universidade Federal do Pampa**, 2018.

MARÍN, F. Z. Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. **Mundi-Prensa Libros**, p. 59-63, 2003.

MARTINS, D. S. R. Otimização de Fermentações Sequenciais com Duas Leveduras do Género *Saccharomyces*. **Tese de Doutorado. Universidade do Minho (Portugal)**, 2015.

MAURIVIN AWRI 796, **Amazon Group**, ficha técnica leveduras - Disponível em: <http://www.amazongroup.com.br/site/produtos/AWRI796.pdf>. Acesso em: 25 de set. de 2023.

MORATA, A.; LOIRA, I.; TEFAYE, W.; BAÑUELOS, M. A.; GONZÁLEZ, C.; & SUÁREZ LEPE, J. A. *Lachancea thermotolerans* applications in wine technology. **Fermentation**, v.4 n. 3, p. 53, 2018.

MORATA, M.; A., BAÑUELOS, M. A., VAQUERO, C., LOIRA, I., CUERDA, R., PALOMERO, F.; GONZÁLEZ, C.; SUÁREZ-LEPE, J. A.; WANG, J.; HAN, S.; BI, Y. *Lachancea thermotolerans* as a tool to improve pH in red wines from warm regions. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 885-894, 2019.

MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. (Ed.). **Wine chemistry and biochemistry**. New York, NY, USA.: Springer, v. 735, p. 975, 2009.

NUNES, E. de O.; JUNIOR, A. F.; VENÂNCIO, A. Ácido D-Glucônico e sua relação com a microbiota de uvas produzidas em Santa Catarina. **Revista Brasileira Ciência da Vida**, v. 28, 2008.

OLIVEIRA, M. R. B. **Efeito protetor da sílica ativada na adaptação de *Saccharomyces cerevisiae* em fermentações com altos teores alcoólicos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2020.

PEYNAUD, É.; BLOUIN, J. O gosto do vinho: o grande livro da degustação. São Paulo: WMF Martins Fontes, p. 240, 2010.

PINA, F.; OLIVEIRA, J.; DE FREITAS, V. Anthocyanins and derivatives are more than flavylum cations. **Tetrahedron**, v. 71, n. 20, p. 3107-3114, 2015.

PÖTTER, G. H.; DAUDT, C. E.; BRACKAMNN, A.; LEITE, T. T.; PENNA, N. G. Desfolha parcial em videiras e seus efeitos em uvas e vinhos Cabernet Sauvignon da região da Campanha do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2011-2016, 2010.

Regulamento de uso da Indicação de procedência campanha gaúcha, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/indicacoes-geograficas/arquivos/cadernos-de-especificacoes-tecnicas/CampanhaGacha.pdf>, acesso em: 07 de nov. de 2023.

RIBÉREAU- GAYON, P.; DUBORDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. Tratado de Enologia: Microbiologia del vino, Vinificaciones. Mundi Prensa: Madrid. p. 655, 2003.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of Enology, Volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments**. John Wiley & Sons, cap. 6, p. 161–242, 2021.

RIBÉREAU- GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEU, D. Handbook of Enology: The Chemistry of Wine, John Wiley & Sons, Ltd. v.2, p. 57, 2006.

RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; MIELE, A. Evolução da acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícolas do Rio Grande do Sul, 1998.

RIZZON, L. A.; SGANZERLA, V. M. A. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves-RS. **Ciência Rural**, v. 37, p. 911-914, 2007.

SADOUDI, M.; TOURDOT-MARÉCHAL, R.; ROUSSEAU, S.; STEYER, D.; GALLARDO-CHACÓN, J.-J.; BALLESTER, J.; VICHI, S.; GUÉRIN-SCHNEIDER, R.; CAIXACH, J.; ALEXANDRE, H. Yeast-yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of Sauvignon Blanc wine fermented by single or co-culture of non-Saccharomyces and Saccharomyces yeasts. **Food Microbiology**, v. 32, n. 2, p. 243–253, 2012.

SANTOS, D. T. D., SARROUH, B. F., SANTOS, J. C. D., PÉREZ, V. H., & SILVA, S. S. D. Potencialidades e aplicações da fermentação semi-sólida em biotecnologia. **Janus**, v. 3 n. 4, 2008.

SANTOS, P. J., CUNHA, H., FRANCO-DUARTE, R., & COUTO, J. A. Os compostos isoprénicos da uva e o seu papel no aroma varietal do vinho. **Vida Rural**, p. 28-35, 2022.

SARMENTO, M. B. Diagnóstico Da Vitivinicultura Na Campanha Gaúcha: Uma Análise Swot. **Revista Científica Agropampa**, v. 1, n. 1, 2016.

SARTORI, G. V. Maturação fenólica de uvas tintas cultivadas no Rio Grande do Sul. **Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria**, p. 49, 2011.

SCHNIERDA, T., BAUER, F. F., DIVOL, B., VAN RENSBURG, E., & GÖRGENS, J. F. Optimization of carbon and nitrogen medium components for biomass production using non-*Saccharomyces* wine yeasts. **Letters in applied microbiology**, v. 58 n. 5 p. 478-485, 2014.

SGOUROS, G.; MALLOUCHOS, A.; FILIPPOUSI, M. E.; BANILAS, G.; NISIOTOU, A. Molecular characterization and enological potential of a high lactic acid-producing *Lachancea thermotolerans* vineyard strain. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 595, 2020.

STEIN, T.; CARVALHO, I. R.; ZOCHE, R. G. S.; JACOBS, S. A.; SZARESKI, V. J.; ZOCHE, F.; ALOY, K. G.; SANTOS, L. de V. dos.; MARTINS, H. C. G. B.; ROSA, T. C. da; SOUZA, V. Q. de. Climatic Variables and Their Effects on Phenolic Maturation and Potassium Uptake in Cabernet Sauvignon Wines. **Journal of Agricultural Science**; v. 10, n. 8; 2018.

STONE, H.; BLEIBAUM, R. N.; THOMAS, H. A. **Sensory evaluation practices**. Academic press, 2020.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2 ed. San Diego: Academic Press, p. 308, 1992.

STYGER, G.; PRIOR, B.; BAUER, F. F. Wine flavor and aroma. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 9, p. 1145, 2011.

TAXIS, C.; KELLER, P.; KAVAGIOU, Z.; JENSEN, L. J.; COLOMBELLI, J.; BORK, P.; STELZER, E. H. K.; KNOP, M. Spore number control and breeding in *Saccharomyces cerevisiae*. **The Journal of Cell Biology**, v. 4, p. 627-640, 2005.

TRICHES, W. dos S. Avaliação agronômica e enológica da cultivar Tannat e sua interação com diferentes portaenxertos e clones em vinhedo na Campanha Gaúcha - RS. **Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas**, p. 62, 2020.

VICENTE, J.; BARAN, Y., NAVASCUÉS, E., SANTOS, A., CALDERÓN, F., MARQUINA, D., RAUHUT, D.; BENITO, S. Biological management of acidity in wine industry: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 375, p. 109726, 2022.

WALKER, G. M.; STEWART, G. G. *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. **Beverages**, v. 2, n. 4, p. 30, 2016.

WATERHOUSE, A. L.; SACKS, G. L.; JEFFERY, D. W. **Understanding wine chemistry**. Jon Wiley & Sons, 2016.

ZAMORA, F. Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. **Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.** p. 53-58 , 2003.

ZHANG, M; MERUNKA, D. The impact of territory of origin on product authenticity perceptions: An empirical analysis in China. **Asia Pacific Journal of Marketing and Logistics**, v. 27, n. 3, p. 385-405. 2015.

ZOCHE, R. G. S.; JACOBS, S. A.; SOUZA, V. Q.; NARDINO, M.; CARVALHO, I. R.; ROMBALDI, C. V.; & RIZZON, L. A. Wine characterization from Merlot, Tannat and Cabernet Sauvignon grapes of the Campanha Region of RS, harvested in two maturation stages. **International Journal of Current Research**, v. 8, n. 6, p. 33078-33086, 2016.

APÊNDICES

Para acompanhamento da multiplicação do fermento, foram realizadas conferências no tempo 0, 24 e 48 H. Os erlenmeyers foram agitados a fim de homogeneizar o depósito, e foram retiradas amostras em microlitros que foram diluídas por diluição seriada com realização da contagem em Câmara de Neubauer. A conta da diluição utilizada foi:

$$\frac{150 * 10 * \text{Fator de diluição}}{4}$$

Togores (2011) diz que inicialmente, para realizar-se a fermentação é ideal que se tenha de 10^7 a 10^8 células viáveis. mL^{-1} de leveduras.

Apêndice A - Contagem de levedura no tempo 0 horas, 24 horas e 48 horas da levedura *N-S. cerevisiae* CS45.

Amostra	Tempo 0 H	Tempo 24 H	Tempo 48 H*
CS45 1	37.500	805.000	7.150.000
CS45 2	185.750	765.000	7.525.000
CS45 3	126.500	815.000	4.875.000
CS45 4	98.000	1.272.500	5.225.000
CS45 5	161.250	750.00	9.025.000
CS45 6	91.500	812.500	6.500.000

*células viáveis. mL^{-1} . Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE B - Contagem de levedura no tempo 0 horas, 24 horas e 48 horas da levedura *S. cerevisiae* TE7a

Amostra	Tempo 0 H	Tempo 24 H	Tempo 48 H*
TE7a 1	327.750	592.500	7.425.000
TE7a 2	332.000	992.500	6.525.000
TE7a 3	124.250	677.500	4.875.000
TE7a 4	315.000	895.000	6.675.000
TE7a 5	106.250	995.000	5.425.000
TE7a 6	207.500	767.500	6.500.000
TE7a 7	114.000	850.000	5.325.000

*células viáveis. mL^{-1} . Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE C - Contagem de levedura no tempo 0 horas, 24 horas e 48 horas da levedura *S. cerevisiae* TE7a para co-inóculo

Amostra	Tempo 0 H	Tempo 24 H	Tempo 48 H*
TE7a1.1	116.250	1.157.500	8.475.000
TE7a 2.1	99.250	712.500	5.075.000
TE7a 3.1	110.500	775.000	3.675.000
TE7a 4.1	105.000	990.000	7.850.000
TE7a 5.1	85.250	1.482.500	8.900.000
TE7a 6.1	85.500	667.500	5.725.000

*células viáveis. mL⁻¹. Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE D - Nuvem de palavra T1 Tannat



Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE E - Nuvem de palavra T2 Tannat



Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE F - Nuvem de palavra T3 Tannat



Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE G - Nuvem de palavra T1 Cabernet Sauvignon



Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE H - Nuvem de palavra T2 Cabernet Sauvignon



Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE I - Nuvem de palavra T3 Cabernet Sauvignon



Fonte: Autor, 2023.

APÊNDICE J - Modelo ficha de avaliação do perfil sensorial dos vinhos

FICHA PARA ANÁLISE SENSORIAL DE VINHOS

Degustador: _____ Data: ____/____/____

Você foi convidado a participar de uma análise sensorial descritiva quantitativa de vinhos espumantes. Para isso, você deve avaliar cada uma das amostras de acordo com a intensidade dos descritores ou características solicitadas. A escala selecionada é de 0 (inexistente) a 9 (muito intenso).

0 (zero) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 (nove)
 Inexistente / pouco intenso Muito intenso

	Características do vinho	Amostra nº				
VISUAL	Intensidade de cor					
	Tonalidade (<i>preencher com texto</i>)					
OLFATIVO	Intensidade					
	Qualidade					
	Frutado					
	Floral					
	Frutas secas					
	Microbiológico/lácteo					
	Especiarias					
	Defeitos (<i>acético, redução</i>)					
	1º Descritor + intenso (<i>preencher com texto</i>)					
	2º Descritor + intenso (<i>preencher com texto</i>)					
3º Descritor + intenso (<i>preencher com texto</i>)						
GUSTATIVO	Acidez					
	Adstringência					
	Corpo					
	Equilíbrio					
	Persistência					
	Creiosidade					
	Gosto indesejável					
Qualidade geral (<i>60 a 100</i>)						

Fonte: Autor, 2023.