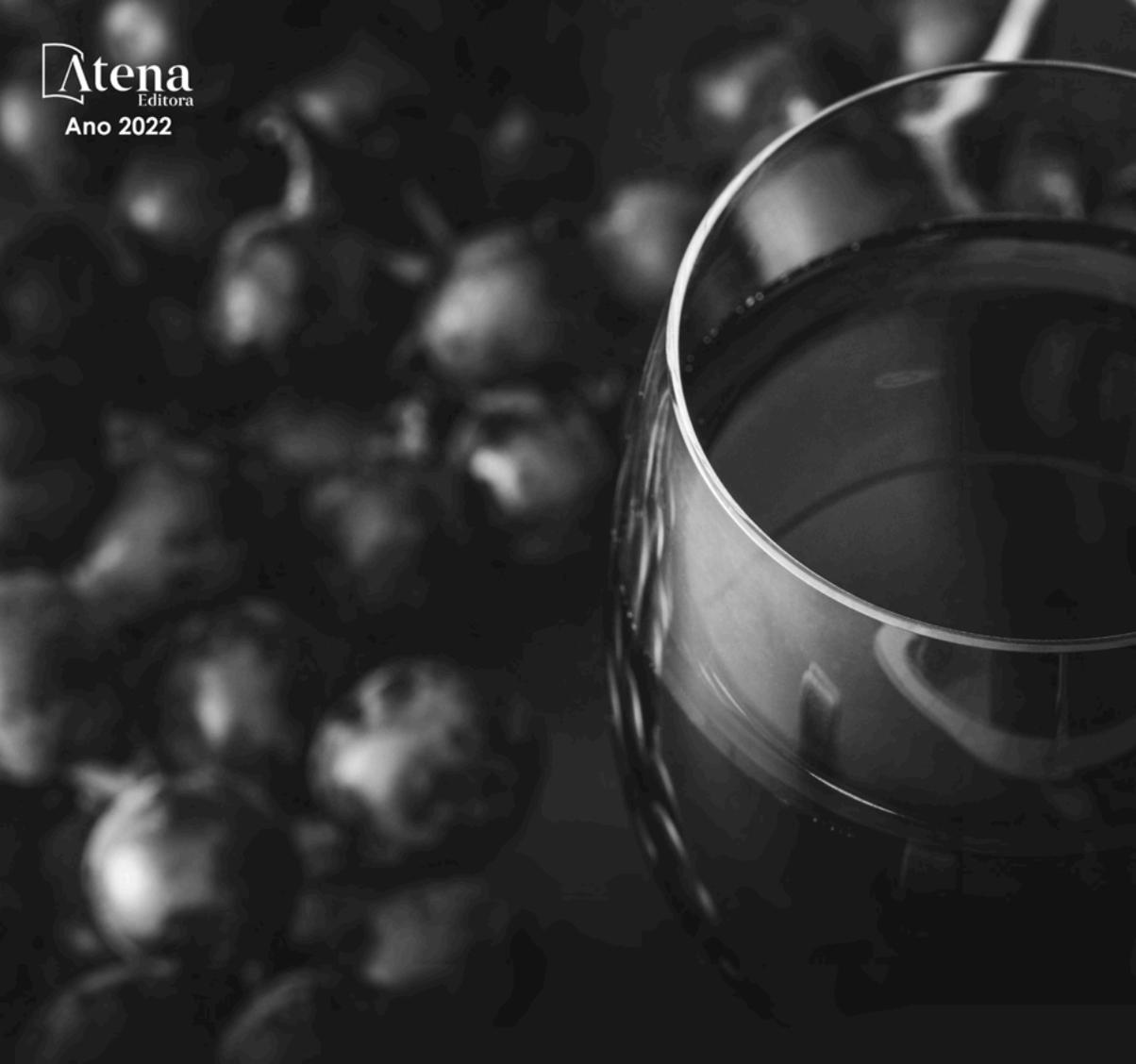




# *Vitivinicultura:*

Cultivo da uva e produção de vinhos

Juan Saavedra del Aguila  
Lília Sichmann Heiffig del Aguila  
(Organizadores)



# *Vitivinicultura:*

Cultivo da uva e produção de vinhos

Juan Saavedra del Aguila  
Lília Sichmann Heiffig del Aguila  
(Organizadores)

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial****Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria



Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas



## Vitivinicultura: cultivo da uva e produção de vinhos

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Maiara Ferreira  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizadores:** Juan Saavedra del Aguila  
Lília Sichmann Heiffig del Aguila

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

V844 Vitivinicultura: cultivo da uva e produção de vinhos /  
Organizadores Juan Saavedra del Aguila, Lília  
Sichmann Heiffig del Aguila. – Ponta Grossa - PR:  
Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-0492-7

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.927220809>

1. Indústria vinícola. 2. Vinhos. 3. Vitivinicultura. I.  
Aguila, Juan Saavedra del (Organizador). II. Aguila, Lília  
Sichmann Heiffig del (Organizadora). III. Título.

CDD 338.476632

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**  
Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br



## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



## APRESENTAÇÃO

O livro “Vitivinicultura: Cultivo da Uva e Produção de Vinhos” é uma obra que tem como foco principal a discussão científica por intermédio de trabalhos diversos, que compõem seus capítulos nos vários caminhos do manejo da Uva e da elaboração do Vinho. Nesta oportunidade, está sendo disponibilizado o presente livro para a comunidade técnico-científico e para a comunidade em geral, como mais uma contribuição da Ciência Brasileira ao Mundo do Vinho.

Num planeta, onde os efeitos das Mudanças Climáticas estão sendo sentidos ao redor do planeta e de todas as regiões produtoras de Uva, a pesquisa sobre o manejo do dossel vegetativo da Videira é fundamental. O Vinho é obtido da fermentação do mosto pela ação de leveduras, e este mosto contido nas bagas nada mais é do que açúcares fabricados pela Videira, a partir da transformação de energia luminosa em energia química, num processo fisiológico essencial para o nosso planeta, a Fotossíntese. Desta forma, pode se dizer que, em suma, a produção do Vinho tem como ponto de partida o Sol.

A temática, do manejo de dossel vegetativo, é abordada no Capítulo 1, apresentando resultados de pesquisa numa região que no ano de 2020 obteve a Indicação Geográfica (IG), na modalidade de Indicação de Procedência (IP), região denominada de Campanha Gaúcha, localizada, em grande parte, na metade sul do Rio Grande do Sul (RS).

No Capítulo 2, se traz indicativos que a seleção e melhoramento de leveduras com baixa capacidade de adsorção de antocianinas poderia ser uma ferramenta interessante para aumentar a coloração dos Vinhos Tintos.

No Capítulo 3, um trabalho com levedura do gênero *Issatchenkia*, trouxe resultados promissores desta levedura para reduzir a acidez málica em fermentações de Vinho.

No último Capítulo, são apresentados achados científicos interessantes sobre leveduras não convencionais, em Vinhos elaborados com uma cultivar brasileira de uva, a BRS Lorena.

Finalmente, se quer ressaltar a importância dos Institutos Federais e das Universidades, sejam estas públicas ou privadas, na geração de conhecimento no Brasil, como fica demonstrado nos trabalhos científicos aqui descritos, desenvolvidos pela Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)/Campus Dom Pedrito/Curso de Bacharelado em Enologia; Universidade Federal de Pelotas (UFPeL); Universidade de Caxias do Sul (UCS) e; pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS).

Juan Saavedra del Aguila  
Lília Sichmann Heiffig del Aguila

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

MANEJO DO DOSSEL VEGETATIVO NA PRODUTIVIDADE E NA QUALIDADE DA UVA E DO VINHO ‘CABERNET SAUVIGNON’ NO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO-RS

Jansen Moreira Silveira  
César Valmor Rombaldi  
Marcos Gabbardo  
Giovana Paula Zandoná  
Wellynthon Machado da Cunha  
Lília Sichmann Heiffig-del Aguila  
Juan Saavedra del Aguila

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9272208091>

### **CAPÍTULO 2..... 16**

INFLUÊNCIA DA CEPA DE LEVEDURA NA COLORAÇÃO DE VINHO MERLOT/TANNAT TERMOVINIFICADO E SUA RELAÇÃO COM A ADSORÇÃO DE PIGMENTOS

Gabriel Carissimi  
Fernanda Knaach Sandri  
Fernando Joel Scariot  
Ana Paula Longaray Delamare  
Sergio Echeverrigaray

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9272208092>

### **CAPÍTULO 3..... 30**

SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DE LEVEDURAS DO GÊNERO *Issatchenkia* COM POTENCIAL ENOLÓGICO PARA DEGRADAÇÃO DE ÁCIDO L-MÁLICO

Luisa Vivian Schwarz  
Angela Rossi Marcon  
Fernando Joel Scariot  
Fernanda Knaach Sandri  
Sergio Echeverrigaray  
Ana Paula Longaray Delamare

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9272208093>

### **CAPÍTULO 4..... 42**

CONTRIBUIÇÃO DE *Torulaspora delbrueckii* NAS CARACTERÍSTICAS DE VINHO DA VARIEDADE BRS-LORENA

Daniel Moacir Grison  
Fernanda Knaach Sandri  
Luisa Vivian Schwarz  
Bruno Cisilotto  
Ronaldo Kauê Mattos Rocha  
Sergio Echeverrigaray  
Ana Paula Longaray Delamare

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9272208094>

<b>SOBRE OS ORGANIZADORES .....</b>	<b>56</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO.....</b>	<b>58</b>

# CAPÍTULO 1

## MANEJO DO DOSSEL VEGETATIVO NA PRODUTIVIDADE E NA QUALIDADE DA UVA E DO VINHO 'CABERNET SAUVIGNON' NO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO-RS

Data de aceite: 01/09/2022

Data de submissão: 05/07/2022

**Lília Sichmann Heiffig-del Aguila**

Embrapa Clima Temperado

Pelotas - RS

<http://lattes.cnpq.br/9268717260815217>

**Jansen Moreira Silveira**

Curso de Bacharelado em Enologia, Campus Dom Pedrito, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

Dom Pedrito - RS

<http://lattes.cnpq.br/2208795683029977>

**Juan Saavedra del Aguila**

Curso de Bacharelado em Enologia, Campus Dom Pedrito, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

Dom Pedrito - RS

<https://orcid.org/0000-0002-6989-0799>

**César Valmor Rombaldi**

Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel" (FAEM), Departamento de Ciência dos Alimentos

Pelotas - RS

<http://lattes.cnpq.br/0102364512482073>

**Marcos Gabbardo**

Curso de Bacharelado em Enologia, Campus Dom Pedrito, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

Dom Pedrito - RS

<http://lattes.cnpq.br/4004785161262286>

**Giovana Paula Zandoná**

Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel" (FAEM), Departamento de Ciência dos Alimentos

Pelotas - RS

<http://lattes.cnpq.br/8628129403258651>

**Wellynthon Machado da Cunha**

Curso de Bacharelado em Enologia, Campus Dom Pedrito, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

Dom Pedrito - RS

<http://lattes.cnpq.br/3767080842113297>

**RESUMO:** O manejo do dossel vegetativo da videira pode alterar a produtividade e a qualidade da uva e do vinho. Uma das práticas mais importantes desse manejo é a definição da altura do dossel vegetativo. Por isso, testaram-se, na safra 2016/17, as seguintes alturas de desponde: 60 cm (T1), 80 cm (T2), 100 cm (T3) e 120 cm (T4). Como variáveis respostas, avaliaram-se o peso médio dos cachos (g), a produtividade por planta (kg), a produtividade estimada por hectare (t.ha<sup>-1</sup>), a composição físico-química do mosto e do vinho. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando o programa Assistat 7.7. Desse estudo, se verificou que as principais variáveis agrônômicas (peso médio dos cachos, produtividade por planta e por área) não foram afetadas pela altura do dossel vegetativo, nas duas safras avaliadas. No entanto, a composição físico-química do mosto e do vinho foram afetadas. A manutenção de dossel com 120 cm de altura foi o que mais agregou qualidade ao mosto e ao vinho, especialmente

por ter acumulado maiores teores sólidos solúveis e açúcares redutores no mosto, e gerando vinhos com maiores valores de teor alcoólico, antocianinas totais, índice de polifenóis totais (IPT), intensidade de cor e menor tonalidade. O perfil qualitativo das principais antocianinas do vinho ‘Cabernet Sauvignon’ foi afetado pela altura do dossel vegetativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Vitis vinifera* L., enologia, vitivinicultura, Campanha Gaúcha.

## VEGETATIVE CANOPY MANAGEMENT ON YIELD AND QUALITY OF GRAPE AND ‘CABERNET SAUVIGNON’ WINE FROM THE MUNICIPALITY OF DOM PEDRITO-RS

**ABSTRACT:** The management of the vegetative canopy of the vine can alter the productivity and the quality of the grape and the wine. One of the most important practices of this management is the definition of vegetative canopy height. Therefore, the following heights of emergence were tested: 60 cm (T1), 80 cm (T2), 100 cm (T3) and 120 cm (T4) in season 2016/17. As response variables, the average weight of the bunches (g), the productivity per plant (kg), the estimated productivity per hectare (t.ha<sup>-1</sup>), and the physicochemical composition of the must and the wine were evaluated. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA), and when significant, the averages were compared by the Tukey test at 5% probability, using the program Assisat 7.7. From this study, it was verified that the main agronomic variables (average weight of bunches, yield per plant and area) were not affected by the height of the vegetative canopy, in the two harvests evaluated. However, the physico-chemical composition of the must and wine were affected. The maintenance of a canopy with 120 cm of height was the one that added more quality to the must to the wine, especially for having accumulated higher solid soluble soluble sugars content in the must, and generating wines with higher values of alcoholic content, total anthocyanins, IPT, color and less tonality. The qualitative profile of the main anthocyanins of the ‘Cabernet Sauvignon’ wine was affected by the height of the vegetative canopy.

**KEYWORDS:** *Vitis vinifera* L., oenology, viticulture, Campanha Gaúcha region.

## 1 | INTRODUÇÃO

A região da Campanha, localizada no sul do Brasil, na fronteira com o Uruguai, já está consolidada como polo vitivinícola, responsável por aproximadamente 25% da produção de uvas *V. vinifera* L. (DEBON, 2016). Nessa região, o clima é classificado como subtropical úmido, tipo Cfa, segundo classificação de Köppen (MORENO, 1961). O solo do local pertence à unidade de mapeamento Bexigoso, classificando-se como Luvisolo Háplico Órtico Típico (STRECK et al., 2002). As uvas produzidas nessa região já são reconhecidas pelo potencial de produção de vinhos de alta qualidade, no que concerne à quantidade de álcool, polifenóis totais e compostos aromáticos, tanto em processos de obtenção de vinhos jovens, como naquele de produção de vinhos para envelhecimento prolongado (PÖTTER, 2010; ZOCHE, 2017).

No ano de 2020, a Campanha Gaúcha, recebeu a Indicação Geográfica (IG), na modalidade de Indicação de Procedência (IP) (EMBRAPA, 2022).

As Indicações Geográficas identificam vinhos originários de uma área geográfica delimitada quando determinada qualidade, reputação ou outra característica são essencialmente atribuídas a essa origem geográfica (EMBRAPA, 2022).

A Indicação de Procedência da campanha compreende uma área geográfica que totaliza 44.365 km<sup>2</sup>, abrange, em todo ou em parte, 14 municípios da região: 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. Para a elaboração dos vinhos, 100% das uvas devem ser produzidas na área delimitada (EMBRAPA, 2022).

Para a elaboração dos vinhos, são autorizadas 36 cultivares de videira produzidas na região, todas do gênero *Vitis vinifera*, sendo algumas destas 'Alvarinho', 'Ancellota', 'Cabernet Franc', 'Cabernet Sauvignon', 'Chardonnay', 'Chenin Blanc', 'Gewurztraminer', 'Malbec', 'Marselan', 'Merlot', 'Petit Verdot', 'Pinot Grigio', 'Pinot Noir', 'Riesling Itálico', 'Riesling', 'Renano', 'Ruby Cabernet', 'Sauvignon Blanc', 'Syrah', 'Tannat', 'Tempranillo', 'Touriga Nacional' e 'Trebiano' (EMBRAPA, 2022).

É liberada a produção de vinhos finos tranquilos brancos, rosados e tintos e os espumantes naturais, sendo os varietais com no mínimo 85% da variedade indicada no vinho varietal (EMBRAPA, 2022).

No entanto, dentre os multifatores que interferem na qualidade da uva, o manejo do dossel vegetativo da videira é um dos mais impactantes (BRIGHENTI et. al., 2010; FREGONI, 1987; GUIDONI; SCHUBERT, 2001; LAVIN; PARDO, 2001; LEEUWEN; SEGUIN, 2006; MANDELLI, 2008, PETERSON; SMART, 1975; SMART, 1985, 1991). Assim, em cada região vitícola, e dentro de cada uma delas, para cada proposta de vinho a ser produzido, se estudam manejos dos dosséis vegetativos, de modo a se definir a melhor relação de fonte/dreno (SANTOS, 2006; DA SILVA, 2010). De modo geral, o princípio fisiológico básico que norteia as ações fitotécnicas é a relação fonte/dreno, que se manifesta na produtividade e na qualidade da uva e do vinho (SANTOS, 2006).

No sistema de condução em espaldeira, as alturas de dosséis mais empregadas variam de 100 cm a 120 cm (KLEWER, 1981; MIELE et. al., 2003; REYNIER, 2002; SANTOS, 2006). Esse manejo busca ter um equilíbrio entre a área foliar e a produção de uva, de modo a haver equilíbrio entre a fração majoritariamente vegetativa (ramos e folhas), com a reprodutiva (cachos de uva). Em função disso, se buscam manejos que gerem índice de Ravaz entre 4 e 7, sendo que índices maiores que 7 indicam excesso de produção de frutos, e os menores que 4 demonstram vigor excessivo da planta (YUSTE, 2005).

Para se garantir esses indicadores, uma das formas mais empregadas é a desponta, alterando as dimensões do dossel vegetativo (NACHTIGAL; ROBERTO, 2005). Vários autores relatam a influência da modificação da área foliar através da desponta, influenciando as variáveis agrônomicas e a qualidade da uva e, conseqüentemente, do vinho (BORGHEZAN et al., 2011; MIELE, 2010; MIELE; MANDELLI, 2012; MOTA, 2010).

Nesse contexto avaliou-se a influência do manejo do dossel vegetativo, mais especificamente a altura do dossel, obtida por despontes periódicos, nas variáveis agrônômicas, do mosto e no vinho da uva 'Cabernet Sauvignon'.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no ciclo 2016/17, em vinhedo localizado no município de Dom Pedrito-RS, Brasil (31° 01' S, 54° 36' W, altitude 159m). O solo pertence à unidade de mapeamento Bexigoso, classificando-se como Luvissolo Háplico Órtico Típico (STRECK et al., 2002). O clima da região é classificado como subtropical úmido, tipo Cfa, segundo classificação de Köppen (MORENO, 1961). A região é caracterizada por clima subtropical úmido, com precipitação média anual de 1300 mm, e média mensal de janeiro a março de 100 mm, com temperatura média anual é de 17,9°C e a média de janeiro a março de 23,0°C.

O experimento foi realizado em vinhedo implantado em 2000, cultivar Cabernet Sauvignon, Clone R8, sobre o porta enxerto 'SO<sub>4</sub>', sustentado em espaldeira, com espaçamento de 3,0 m entre linhas e 1,2 m entre plantas e fileiras com orientação solar Leste-Oeste. O vinhedo foi conduzido em sistema de cordão esporonado duplo, indicado para alta produtividade por hectare, deixando-se 2 gemas por esporão. A carga de gemas por planta foi de 24 a 28. O ciclo fenológico iniciou em meados de setembro (brotação) e se estendeu até a primeira quinzena de março (colheita). Por ocasião da maturação, colocou-se tela de proteção na área dos cachos, de modo a proteger a uva do ataque de pássaros.

O trabalho consistiu em manter a altura dos dosséis em 60 cm (T1), 80 cm (T2), 100 cm (T3) e 120 cm (T4) (Figura 1). Essas alturas de dossel já vinham sendo mantidas nos vinhedos e foram mantidas, nos ciclos avaliados até o momento da colheita, através de despontes periódicos.

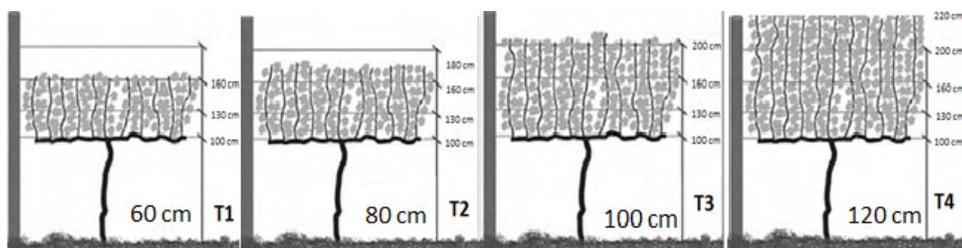


Figura 1 - Ilustração dos diferentes manejos do dossel vegetativo. Tratamentos de despona dos sarmentos a 60 cm (T1), 80 cm (T2), 100 cm (T3) e 120 cm (T4), Dom Pedrito - RS, adaptado de Brighenti et. al. (2010).

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados. Para cada tratamento (altura do dossel) foram feitas seis repetições, com 7 plantas por repetição, 42

plantas cada tratamento, perfazendo um total de 168 plantas para o experimento.

Durante o ciclo de produção, todas as práticas fitotécnicas (adubação, roçadas, desfolha) e fitossanitárias (herbicidas, fungicidas e inseticidas) foram aplicadas uniformemente em todos os tratamentos. As uvas foram colhidas manualmente no mês de março para ambas as safras. Para as uvas colhidas na safra 2016/17, as médias entre os tratamentos foi de 19,45 °Brix e acidez total de 2,89 g.L<sup>-1</sup> expressa em ácido sulfúrico. Antes do processamento, as uvas foram armazenadas em câmara fria a 6°C e 80% de UR, por 24 h. Após esse período, a uva foi desengaçada e esmagada e transferida para recipientes de vidro com capacidade de 14 L, adicionando-se metabisulfito de potássio (100 mg.kg<sup>-1</sup>), levedura (20 g.hL<sup>-1</sup> *Saccharomyces cerevisiae*, Zymaflore FX 10; Laffort; França), enzima pectolítica (5 g.hL<sup>-1</sup> Rohapect VC-R; AB Enzymes; Alemanha) e nutrientes para levedura (50 g.hL<sup>-1</sup> Gesferm Plus; Amazon Group; Brasil).

Os vinhos foram elaborados por método clássico, com oito dias de maceração com cascas e sementes. Durante a maceração/fermentação, se realizou remontagens (duas vezes ao dia), e a temperatura de fermentação foi mantida entre 20 e 22°C em ambiente controlado. Ao final da maceração, o vinho flor foi extraído e a massa sólida foi prensada com auxílio de uma prensa vertical manual. O vinho flor e o vinho da prensagem foram reunidos e, 48 horas após, foi realizada uma trasfega para retirada dos sedimentos. A fermentação malolática ocorreu de forma espontânea (30 dias de duração) e após seu término os vinhos foram adicionados de dióxido de enxofre (concentração ajustada para 35 mg.L<sup>-1</sup> de SO<sub>2</sub> livre). Após três meses, os vinhos foram submetidos à trasfega para remover a borra fina e proporcionar oxigenação. Por fim, após sete meses, os vinhos foram engarrafados em garrafas de 750 mL.

Como variáveis agronômicas avaliaram-se o peso médio de cacho (g), a produtividade por planta (kg) e a produtividade estimada em toneladas por hectare (t.ha<sup>-1</sup>). Essas avaliações foram conduzidas por pesagem da uva, e para o cálculo da produtividade por área, considerando-se uma população de 2.775 plantas por hectare. Também, calculou-se o Índice de Ravaz, que faz uma relação da produção de uva por planta (kg) sobre o peso dos ramos no momento da poda seca (kg).

As análises físico-químicas da uva/mosto foram: a determinação de pH; sólidos solúveis totais (SST), expresso em °Brix; açúcares redutores (AR); acidez total (AT); concentração de ácido tartárico, de ácido málico, todas por espectrometria de infravermelho (FTIR), com o uso do equipamento WineScan™ SO<sub>2</sub> (FOSS, Dinamarca).

Para a análise clássica dos vinhos, determinou-se o teor de álcool, a acidez total, o pH, o teor de açúcares redutores e de glicerol e a acidez volátil, todas através de espectrometria de infravermelho (FTIR), com o uso do equipamento WineScan™ SO<sub>2</sub> (FOSS, Dinamarca). As concentrações de taninos totais, de antocianinas totais, os índices de etanol, de gelatina, índice de polifenóis totais (IPT) e o índice de HCl foram determinados de acordo com métodos propostos por Zamora (2003). A intensidade de cor e

a tonalidade foram analisadas de acordo com método oficial da Organização Internacional da Uva e do Vinho (OIV) (2015). Para a análise de antocianinas individuais, 200  $\mu\text{L}$  de vinho foram diluídos em 800  $\mu\text{L}$  (5 vezes) metanol grau HPLC (Sigma-Aldrich) e posteriormente filtrados com membrana de 0.45  $\mu\text{M}$ . Após o preparo da amostra, 10  $\mu\text{L}$  da amostra diluída foram injetados em cromatógrafo líquido de alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, BrukerDaltonics, Bremen, Alemanha). Para a separação cromatográfica foi utilizada a pré-coluna C18 (2,0 x 4 mm) e coluna Luna C18 (2.0 x 150 mm, 100 Å, 3  $\mu\text{m}$ ) (Phenomenex Torrance, CA, USA). As fases móveis foram: água acidificada com 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila acidificada com 0,1% de ácido fórmico (eluente B). Para separação foi utilizado gradiente de eluição de: 0 - 2 min, 10% B; 2 - 15 min, 10 a 75% B; 15 - 18 min, 90% B; 18 - 21 min, 90% B; 21 - 23 min, 10% B; 23 - 30 min, 10% B. O fluxo foi de 0,2  $\text{mL min}^{-1}$  e a temperatura da coluna foi mantida a 40°C. O espectrômetro de massas foi operado nos modos ESI negativo (ácidos fenólicos e flavonoides) e positivo (antocianinas) com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de  $m/z$  50 a 1200, com voltagem capilar em 3.5 kV, pressão do gás de nebulização ( $\text{N}_2$ ) de 2 bar, gás de secagem em 8  $\text{L min}^{-1}$ , temperatura da fonte de 180°C, colisão de RF de 150 Vpp; transfer 70 mS e armazenamento pré-pulso de 5 mS. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10mM, cobrindo a faixa de aquisição de  $m/z$  50 até 1200. Experimentos automáticos de MS/MS foram realizados ajustando os valores de energia de colisão como se segue:  $m/z$  100, 15 eV;  $m/z$  500, 35 eV;  $m/z$  1000, 50 eV, usando nitrogênio como gás de colisão. Os dados de MS e MS/MS foram processados por meio do software Data analysis 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

As antocianinas foram caracterizadas pelo espectro de UV/Vis (210-800 nm) e massa exata, padrões de fragmentação  $\text{MS}^n$  em comparação com os dados da biblioteca do equipamento, bases de dados (padrões, Metlin, MassBank, KeggCompound, ChemSpider) e em comparação com padrão isotópico. A quantificação dos ácidos fenólicos e flavonoides foi realizada através de curva de calibração externa com padrões de cada composto. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . O teor de antocianinas foi quantificado em relação à curva de calibração externa de pelargoinidina e os resultados foram expressos em  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e padrão interno (reserpina).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade usando o programa Assistat 7.7.

### 3 | RESULTADO

O manejo fitotécnico dos dosséis vegetativos da cultivar Cabernet Sauvignon, Clone R 8, com alturas que foram de 60 cm até 120 cm, não alterou as respostas correspondentes

à maioria das variáveis agrônômicas testadas, como é o caso do peso médio dos cachos que ficou entre 112,5 g (60 cm) e 128,7 g (120 cm); da produção por planta, que variou de 4,2 (kg) 80 cm a 5,2 (kg) (100 cm); da produtividade por hectare, que variou de 11,5 (t.ha<sup>-1</sup>) a 14,5 (t.ha<sup>-1</sup>). A única variável alterada foi o Índice de Ravaz, que atingiu 5,5 no vinhedo com dossel de 60 cm, e 3,0 no vinhedo com dossel de 120 cm (Tabela 1).

Variáveis	Alturas dos dosséis				
	Ciclo	60 cm	80 cm	100 cm	120 cm
<b>Peso médio de cacho (g)</b>	2016/17	112,51 ns*	119,477	123,34	128,66
<b>Produtividade por planta (kg)</b>	2016/17	5,11 ns	4,16	5,21	4,85
<b>Produtividade estimada por hectare (t.ha<sup>-1</sup>)</b>	2016/17	14,17 ns	11,54	14,45	13,47
<b>Índice de Ravaz</b>	2016/17	5,50 a**	4,02 ab	3,54 ab	3,04 b

\*ns – diferença não significativa. \*\*Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p<0,05).

Tabela 1 - Peso médio dos cachos, produção média por planta e produtividade por hectare de uvas 'Cabernet Sauvignon', manejado com dosséis de 60 cm, 80 cm, 100 cm e 120 cm, na safra 2016/17

Em relação às variáveis clássicas de avaliação da uva/mosto para vinificação, se observou que a altura do dossel interferiu na maturação tecnológica da uva (Tabela 2). De modo geral, se considerado o conjunto de resultados, foi a uva colhida no tratamento com dossel de 120 cm que apresentou maturação tecnológica mais avançada, ou seja, é o mosto que teve maior teor de sólidos solúveis totais (19,7 °Brix), maior teor de açúcares redutores (197,6 g.L<sup>-1</sup>) e menores teores de ácido tartárico (5,7 g.L<sup>-1</sup>) e málico (2,7 g.L<sup>-1</sup>).

Variáveis	Tratamentos				
	Ciclo	60 cm	80 cm	100 cm	120 cm
<b>Sólidos Solúveis Totais (°Brix)</b>	2016/17	19,43 b*	19,50 b	19,20 c	19,70 a
<b>Acidez Total (g.L<sup>-1</sup> ác. sulfúrico)</b>	2016/17	2,70 c	2,86 bc	3,13 a	2,90 b
<b>pH</b>	2016/17	3,55 a	3,53 b	3,50 c	3,47 d
<b>Açúcares Redutores (g.L<sup>-1</sup>)</b>	2016/17	194,50 b	195,76 ab	191,00 c	197,56 a
<b>Ácido Tartárico (g.L<sup>-1</sup>)</b>	2016/17	5,53 b	5,53 b	6,03 a	5,66 b
<b>Ácido Málico (g.L<sup>-1</sup>)</b>	2016/17	2,60 b	2,86 a	2,90 a	2,66 b

\*ns – diferença não significativa. \*\*Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p<0,05).

Tabela 2 - Composição físico-química do mosto de uva 'Cabernet Sauvignon' proveniente de vinhedos manejados com dosséis de 60 cm, 80 cm, 100 cm e 120 cm, na safra 2016/17

No contraponto, foi à uva do vinhedo com dossel de 100 cm que se caracterizou por uma maturação menos avançada com menores sólidos solúveis totais (19,2 °Brix), maior acidez total titulável (3,1 g.L<sup>-1</sup>), menor teor de açúcares redutores (191,0 g.L<sup>-1</sup>) e maiores teores de ácido tartárico (6,0 g.L<sup>-1</sup>) e málico (2,9 g.L<sup>-1</sup>). Para a variável pH, os valores foram diminuindo com o aumento da altura do dossel (Tabela 2). Esse comportamento ocorreu nas duas safras.

Ao se analisarem os vinhos produzidos com as uvas dos vinhedos com as diferentes alturas de dosséis, se observou que, seguindo a tendência observada para o mosto das uvas do tratamento com dossel de 120 cm, o maior teor de álcool (11,4 v/v) foi observado nesses vinhos (Tabela 3).

Em contrapartida, o menor teor de álcool foi obtido no vinho produzido com uvas do tratamento com dossel de 60 cm (10,6 v/v). Em relação às demais variáveis descritivas de qualidade dos vinhos, se observou que os vinhos são equivalentes, tendo acidez total entre 5,23 e 5,40 g.L<sup>-1</sup>, acidez volátil entre 0,50 e 0,56 g.L<sup>-1</sup> e teores de açúcares redutores de 2,4 g.L<sup>-1</sup> a 2,5 g.L<sup>-1</sup>. O teor de glicerol foi maior nos vinhos do tratamento de 120 cm (8,1 g.L<sup>-1</sup>) e o menor no tratamento de 60 cm (7,5 g.L<sup>-1</sup>).

Variáveis	Tratamentos				
	Ciclo	60 cm	80 cm	100 cm	120 cm
Álcool v/v	2016/17	10,60 b*	11,10 ab	11,08 ab	11,43 a
Acidez total em ác. tartárico (g.L <sup>-1</sup> )	2016/17	5,33 ns*	5,26	5,40	5,23
pH	2016/17	3,63 ns	3,68	3,64	3,66
Acidez volátil (g.L <sup>-1</sup> )	2016/17	0,50 ns	0,56	0,56	0,50
Açúcar redutor (g.L <sup>-1</sup> )	2016/17	2,43 ns	2,43	2,26	2,53
Glicerol (g.L <sup>-1</sup> )	2016/17	7,50 b**	7,67 ab	7,73 ab	8,07 a
DO 420 nm	2016/17	0,29 b	0,36 ab	0,37 ab	0,41 a
DO 520 nm	2016/17	0,29 b	0,39 ab	0,42 ab	0,47 a
Intensidade de Cor (420 nm + 520 nm)	2016/17	0,57 b	0,75 ab	0,78 ab	0,88 a
Tonalidade (420 nm/520 nm)	2016/17	1,00 a	0,92 ab	0,88 b	0,87 b
Antocianinas totais (mg.L <sup>-1</sup> )	2016/17	214 b	214 b	218 b	252 a
Taninos totais (g.L <sup>-1</sup> )	2016/17	0,97 ns	1,02	1,12	1,03
Índice de Etanol (%)	2016/17	90 ns	90	91	61
Índice de HCL (%)	2016/17	3,8 ns	3,4	8,0	5,5
Índice de Gelatina (%)	2016/17	55 ns	46	48	37
IPT	2016/17	22,5 b	24,7 ab	25,9 ab	27,7 a

\*ns – diferença não significativa. \*\*Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p<0,05).

Tabela 3 - Composição fenólica e físico-química geral dos vinhos 'Cabernet Sauvignon'. Teor alcoólico, acidez total, pH, , acidez volátil, glicerol, DO 420 nm, DO 520 nm, índice de cor e tonalidade, antocianinas totais, taninos totais e índices de etanol, HCL, Gelatina e polifenóis totais (IPT) , proveniente de vinhedos manejados com dosséis de 60 cm, 80 cm, 100 cm e 120 cm, na safra 2016/17

Em relação à cor, os vinhos, aqueles produzidos com uvas colhidas das plantas com altura do dossel de 120 cm foram os que apresentaram maior intensidade de cor (0,88) e tonalidade (1,00). Em relação à composição fenólica (Tabela 3), os vinhos produzidos com uvas do tratamento com dossel de 120 cm de altura foram os que apresentaram maior concentração (252 mg.L<sup>-1</sup>), assim como o maior IPT (27,7). Para as demais variáveis analisadas não houve efeito dos tratamentos, tendo-se um teor de taninos totais de 0,97 a 1,12 g.L<sup>-1</sup>, um índice de etanol de 61 a 91 %, um índice de HCl de 3,4 a 8,0 % e um índice de gelatina de 37 a 55 %. A identificação das principais antocianinas do vinho revelou que as principais componentes dessa categoria são a malvidina 3-O-glicosídeo e malvidina 3-O-acetilglicosídeo. Na comparação dos tratamentos, o perfil qualitativo foi o mesmo para, petunidina-3-O-glicosídeo entre 1,09 a 1,40 mg.L<sup>-1</sup>, malvidina-3-(6-cumaril)-glicosídeo entre 3,07 e 3,67 mg.L<sup>-1</sup>, delphinidina-3-O-glicosídeo entre 0,69 e 0,71 mg.L<sup>-1</sup>, e as maiores concentrações de peonidina-3-O-monoglicosídeo (1,49 mg.L<sup>-1</sup>), malvidina-3-O-glicosídeo (17,85 mg.L<sup>-1</sup>), delphinidin-3-O-acetilglicosídeo (0,81 mg.L<sup>-1</sup>), peonidina-3-(6-acetilglicosídeo), (2,03 mg.L<sup>-1</sup>), petunidina-3-(6-cumaril-glicosídeo) (0,16 mg.L<sup>-1</sup>) foram detectadas no vinho produzido com uvas do vinhedo com dossel de 120 cm (Tabela 4).

Compostos	Tratamentos			
	60 cm	80 cm	100 cm	120 cm
<b>Peonidina-3-O-monoglicosídeo</b>	1,29±0,06 <sup>c**</sup>	1,20±0,01 <sup>d</sup>	1,40±0,02 <sup>b</sup>	1,49±0,00 <sup>a</sup>
<b>Malvidina-3-O-glicosídeo</b>	16,74±0,50 <sup>b</sup>	14,35±0,44 <sup>c</sup>	16,81±0,35 <sup>b</sup>	17,85±0,16 <sup>a</sup>
<b>Delphinidin-3-O-acetilglicosídeo</b>	0,75±0,01 <sup>c</sup>	0,74±0,00 <sup>c</sup>	0,79±0,00 <sup>b</sup>	0,81±0,00 <sup>a</sup>
<b>Malvidina-3-O-acetilglicosídeo</b>	18,38±0,89 <sup>a</sup>	14,17±0,24 <sup>c</sup>	15,25±0,24 <sup>b</sup>	15,65±0,20 <sup>b</sup>
<b>Peonidina-3-(6-acetilglicosídeo)</b>	1,85±0,09 <sup>b</sup>	1,65±0,04 <sup>c</sup>	1,97±0,06 <sup>a</sup>	2,03±0,03 <sup>a</sup>
<b>Petunidina-3-O-glicosídeo</b>	1,25±0,10 <sup>ns*</sup>	1,09±0,02	1,40±0,08	ND
<b>Petunidina-3-(6-cumaril-glicosídeo)</b>	0,15±0,00 <sup>b</sup>	0,15±0,00 <sup>b</sup>	0,16±0,00 <sup>a</sup>	0,16±0,00 <sup>a</sup>
<b>Malvidina-3-(6-cumaril)-glicosídeo</b>	3,67±0,53 <sup>ns</sup>	3,07±0,27	3,65±0,40	3,61±0,30
<b>Delphinidina-3-O-glicosídeo</b>	0,71±0,00 <sup>ns</sup>	0,69±0,00	0,70±0,00	0,71±0,00

\*ns – diferença não significativa. \*\*Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p<0,05).

Tabela 4 - Concentração em (mg.L<sup>-1</sup>) de antocianinas individuais no vinho 'Cabernet Sauvignon' manejado com dosséis de 60 cm, 80 cm, 100 cm e 120 cm, na safra 2016/17

## 4 | DISCUSSÃO

A altura do dossel vegetativo é amplamente conhecida como uma variável importante no manejo de vinhedos, por afetar produtividade e qualidade da uva e do vinho (BORGHEZAN et al., 2011; MIELE, 2010; MIELE; MANDELLI, 2012; MOTA, 2010, SANTOS, 2006). Vários trabalhos científicos abordam essa temática, monitorando variáveis mais

específicas, como área foliar total, taxas fotossintéticas, fluxos de carbono, dentre outras, todas com o intuito de se chegar a um parâmetro tecnológico, que é a altura de dossel. De modo geral, alturas de dosséis com 100 cm a 120 cm são amplamente recomendados para vinhedos com média produtividade (KLEWER, 1981; MIELE et. al., 2003; REYNIER, 2002; SANTOS, 2006). Frente ao exposto, emitiu-se a hipótese de que com a redução da altura dos dosséis para 80 cm ou 60 cm, se poderia economizar em arames e, inclusive, em volumes de calda nos tratamentos, e mantendo boa produtividade e qualidade da uva e do vinho.

A produtividade não foi afetada pela altura do dossel, mantendo-se entre 4,16 kg a 5,11 kg por planta, e 11,5 a 14,5 t.ha<sup>-1</sup>. Esse achado é relevante, tendo em vista que, se não há variações estatísticas de produtividade em função da altura do dossel, pode-se economizar na implantação do vinhedo, modificando a estrutura de sustentação, reduzindo, em média 6600 m a 13200 m por hectare de arame, além da redução de volume de soluções de fungicida a serem utilizadas, em média 40% a menos num dossel com 60 cm em relação a um dossel com 120 cm.

Em relação ao Índice de Ravaz, efetivamente confirmou-se o esperado, ou seja, maiores valores no vinhedo em que o dossel foi mantido em 60 cm (5,5), por conta do desponte realizado, resultando em menor massa de sarmentos por planta. No tratamento em que se manteve o dossel em 120 cm, o índice de Ravaz foi de (3,04), coerente com o fato de se ter deixado os ramos com maior comprimento. Esses valores podem ser considerados bons, tendo em vista que valores entre 4 e 7 (BRIGHENTI et. al., 2011; FICAGNA et. al., 2008; YUSTE, 2005; MOTA et.al., 2010), indicam bom equilíbrio entre a parte vegetativa e a de produção.

Como se trata de uva para produção de vinhos, a característica físico-química básica do mosto é importante (GUERRA, 2002; RIZZON; ZANUS; MANFREDINI, 1996). Assim, esperava-se que além de maior produtividade, os dosséis maiores (100 cm e 120 cm) proporcionassem maior aporte de fotoassimilados, e resultasse em maior produtividade e maior acúmulo de açúcares. Isso foi parcialmente verdadeiro. Não houve contribuição do aumento da altura do dossel no aumento da produtividade (como mencionado anteriormente), mas houve incremento nos sólidos solúveis totais (°Brix) e maior acúmulo de açúcares redutores nas uvas do vinhedo com dossel de 120 cm (Tabela 2). Esse resultado vai ao encontro daqueles obtidos por Borghezán et. al., (2010) onde a redução excessiva da área foliar (<1,0 m<sup>2</sup> de área foliar/kg de uva) limitou a acumulação de açúcares nas bagas. Embora no presente trabalho não se tenha mensurado diretamente a área foliar, a definição de 120 cm de altura de dossel, com dois cordões esporonados de aproximadamente 60 cm, com 24 a 28 ramos por planta, com a característica fenológica da cultivar Cabernet Sauvignon, clone R8, e com produtividade média geral de 4,85 kg por planta, se tem uma relação de área foliar/kg de uva de aproximadamente, 1,42 m<sup>2</sup>.

Pelas características gerais do mosto, era esperado que o vinho produzido a partir

das uvas do vinhedo com maior dossel (120 cm), tivesse maior teor de álcool, tendo em vista serem as uvas com maiores teores de sólidos solúveis totais (°Brix) e maior teor de açúcares redutores (Tabela 2). Isso ocorreu, produzindo vinhos com 11,43% (v/v) de álcool. Apesar dos mostos terem pHs distintos em função da altura do dossel, após a vinificação todos os vinhos equilibraram-se em valores similares nessa variável, entre 3,47 e 3,55 (Tabela 3). Esse comportamento é coerente com o fato de que, no processo de vinificação e estabilização do vinho, se tenha estabilização do pH, mesmo com diferenças iniciais mensuradas no mosto (RIBEREAU-GAYON et al, 2003). Afora isso, os valores obtidos entre 3,63 e 3,66 são adequados para vinhos dessa cultivar, com um ano pós vinificação. No entanto, salienta-se que, especialmente na Região da Campanha Gaúcha, tem-se detectado elevados teores de potássio nas uvas e vinhos, sobretudo na cultivar Cabernet Sauvignon, resultado em elevação do pH, tanto no mosto, quanto nos vinhos (3,92 a 4,18) (ZOCCHÉ, 2017). Isso não foi observado nesse trabalho, tendo em vista que a colheita foi feita com uvas em estágio de maturação menos avançado do que nos trabalhos de Zocche (2017).

Como o vinho produzido com as uvas de vinhedo com 120 cm de dossel tiveram maior teor de álcool, era esperado que também tivessem maior teor de glicerol. Isso foi confirmado, ou seja, os vinhos produzidos com uvas do vinhedo com 120 cm de dossel tiveram 8,1 g.L<sup>-1</sup> de glicerol, enquanto aqueles de uvas de vinhedo com de 60 cm apresentaram o menor valor (7,5 g.L<sup>-1</sup>). O glicerol é um composto secundário produzido pelas leveduras na fermentação alcoólica e, em média, são formados 8 a 15g a cada 100g de etanol sintetizado (BRUMM; HEBEDA, 1988; MENEGUZZO, 2006; OURA, 1977).

Considerando que as uvas do vinhedo com dossel de 120 cm apresentaram uma maturação tecnológica mais evoluída, também era esperado que se tivessem maiores teores de antocianinas, e menores teores de taninos e alterações nos índices de etanol, HCl e de gelatina, e/ou do IPT. O maior teor de antocianinas foi confirmado, assim como um maior índice IPT (Tabela 3), o que é coerente com o fato de condições que favoreçam a síntese de açúcares, dentro de certos limites, também contribuem para o incremento desses pigmentos, com é o caso dos trabalhos de Brighenti et. al., (2010) e Fregoni (1998). Mas, o teor de taninos, assim como os demais índices estudados, não foi afetado pela altura do dossel. Esses índices que estimam a percentagem taninos ligados com polissacarídeos (índice de etanol entre 61% e 91%), a percentagem taninos com grande grau de polimerização (índice de HCl, 3,4% e 8,0%), e o nível de reação dos taninos com proteínas (índice de gelatina, 73% e 55%), não diferiram entre os tratamentos, indicando que os vinhos provavelmente expressem a mesma característica sensorial frente ao quesito adstringência e estrutura (análise não realizada nesse trabalho). Em outro trabalho com vinhos Cabernet Sauvignon tem esses índices com valores de (índice de etanol entre 8% e 24%), (índice de HCl, 17% e 21%), (índice de gelatina, 40% e 54%) (GABBARDO, 2009).

O tratamento com restrição mais severa da altura do dossel vegetativo (60 cm) teve

menor intensidade de cor (0,57) e a maior tonalidade (1,00). Isso indica que os vinhos produzidos com uvas desse vinhedo, além da menor intensidade de coloração, provavelmente pelo menor teor de antocianinas, também tiveram maior alterações na pigmentação, tendo em vista que a relação DO 420 nm/520 nm indicou aumento da coloração amarelada em relação à avermelhada. Em relação à identificação e quantificação das antocianinas individuais (Tabela 4), foi confirmado que as principais antocianinas do vinho da cultivar Cabernet Sauvignon são malvidina 3-O-glicosídeo e malvidina 3-O-acetilglicosídeo (WANG et. al., 2003). Do ponto de vista quantitativo, se confirmou o esperado, ou seja, o vinho com maior intensidade de cor também teve maior concentração de antocianinas totais e das individuais majoritárias.

Assim, considerando-se o conjunto de resultados obtidos, pode-se observar que a produtividade técnica/agronômica não é afetada pela altura do dossel. Mas, quando se considera o fato de que essa uva será destinada à produção de vinhos, nesse caso, vinhos jovens, esse manejo do dossel (120 cm) interferiu na composição do vinho, especialmente em duas características: 1) uvas com maior teor de açúcares e vinhos com maior teor de álcool e de glicerol; e, 2) uvas com maior teor de antocianinas, refletindo em vinho com maior concentração desses compostos, maior coloração e maior IPT.

## 5 | CONCLUSÃO

A produtividade de uva, não é afetada pela altura do dossel (de 60 cm a 120 cm), mas o tratamento com o dossel com 120 cm altura foi o que mais agregou qualidade as propriedades físico-químicas na uva e, conseqüentemente, do vinho, especialmente por ter acumulado maiores teores sólidos solúveis totais e açúcares redutores no mosto, gerando vinhos com maiores valores de teor alcoólico, antocianinas totais, IPT, intensidade de cor e menor tonalidade. O perfil qualitativo das principais antocianinas do vinho Cabernet Sauvignon foi afetado pela altura do dossel vegetativo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Sr. Adair Camponogara, pela parceria e incentivo à pesquisa, colocando à disposição o Vinhedo Comercial para a instalação desse experimento.

## REFERÊNCIAS

BORGHEZAN, Marcelo et al. Comportamento ecofisiológico da videira (*Vitis vinifera* L.) cultivada em São Joaquim, Santa Catarina: área foliar, crescimento vegetativo, composição da uva e qualidade sensorial dos vinhos. **Programa de Pós – Graduação, Centro de Ciências Agrárias**. Florianópolis, 2010. Disponível em: <<http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/94071>> Acesso em: 05 jul. 2022.

BORGHEZAN, Marcelo et al. Efeito da área foliar sobre a composição da uva e a qualidade sensorial dos vinhos da variedade Merlot (*Vitis vinifera* L.) cultivada em São Joaquim, SC, Brasil. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 26, n. 1, p. 1-9, 2011.

BRIGHENTI, Alberto Fontanella et al. Desempenho vitivinícola da Cabernet Sauvignon sobre diferentes porta-enxertos em região de altitude de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 096-102, 2011.

BRIGHENTI, ALBERTO FONTANELLA et al. Desponte dos ramos da videira e seu efeito na qualidade dos frutos de 'Merlot' sobre os porta-enxertos 'Paulsen 1103' e 'Couderc 3309'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 19-26, 2010.

BRUMM, P.J. & HEBEDA, R.E. Glycerol production in industrial alcohol fermentations. **Biotechnology Letters, Surrey**, 10 (9): 677-82, 1988.

DA SILVA, Leonardo Cury et al. Raleio de cachos em vinhedos de altitude e qualidade do vinho da cultivar Syrah. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 2, p. 148-154, 2010.

DEBON A. A Vindima "Campanha Gaúcha se consagra no cultivo de uvas e elaboração de vinhos." Disponível em: <http://www.avindima.com.br/?p=7226> Acesso em: 05 jul. 2022.

EMBRAPA. Ciência ajuda vinho da Campanha Gaúcha a conquistar Indicação Geográfica. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/52668635/ciencia-ajuda-vinho-da-campanha-gaucha-a-conquistar-indicacao-geografica>. Acesso em: 05 jul. 2022.

FICAGNA, Paulo Ricardo et al. Efeito do manejo do dossel vegetativo na qualidade da uva Merlot produzida na Serra Catarinense. Programa de Pós-Graduação. Lages-SC 2008. 98p. Disponível em: <http://tede.udesc.br/handle/handle/1095> Acessado em: Acesso em: 05 jul. 2022.

FREGONI, M. Viticoltura di qualità. **Verona: Edizional'Informatore Agrário**, 1998. 707p.

FREGONI, M. Viticulture generale: compendiodidattici e scientifici. Roma: Reda, 1987. 728 p.

GABBARDO, M. **Borras finas e manoproteínas na maturação de vinho tinto cabernet sauvignon**. 2009. 62f. **Dissertação (Mestrado)** – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp128271.pdf> Acesso em: 05 jul. 2022.

GUERRA, Celito Crivellaro. Maturação da uva e condução da vinificação para a elaboração de vinhos finos. In: **Embrapa Uva e Vinho-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Viticultura e Enologia: atualizando conceitos. Caldas: EPAMIG, 2002, 2002.

GUIDONI, S.; SCHUBERT, A. Influenza del diradamento dei grappoli e dell' defogliazione sul profilo antocianico diacini di *Vitis vinifera* cv. Nebbiolo. **Frutticoltura**, v. 63, n. 12, p. 75-81, 2001.

KLIEWER, W. Mark. Grapevine physiology: how does a grapevine make sugar? **Leaflet-University of California, Cooperative Extension Service (USA)**, 1981.

LAVIN, A.; PARDO, M., C. Épocas de deshoje y susefectos sobre la composición química de mostos y composición química y calidad sensorial de los vinos de los cv. Chardonnay y Cabernet Sauvignon, en el área de cauqueses. **Agricultura Técnica**, v.61, n.2, p.129-139. 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-28072001000200003&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072001000200003&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 05 jul. 2022.

LEEUEWEN, V. Cornelis; SEGUIN, Gerard. The concept of terroir in viticulture. **Journal of Wine Research**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2006.

MANDELLI, Francisco et al. Efeito da poda verde na composição físico-química do mosto da uva Merlot. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 667-674, 2008.

MENEGUZZO, Julio et al. Effect of Botrytis cinerea on the composition of Gewürztraminer wine. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 3, p. 527-532, 2006.

MIELE, A. et al. **Uvas** viníferas para processamento em regiões de clima temperado. **Embrapa Uva e Vinho**, 2003.

MIELE, ALBERTO; MANDELLI, FRANCISCO. Manejo do dossel vegetativo e seu efeito nos componentes de produção da videira Merlot. **Embrapa Uva e Vinho-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2012.

MIELE, Alberto; RIZZON, Luiz Antenor; MANDELLI, Francisco. Manejo do dossel vegetativo da videira e seu efeito na composição do vinho Merlot. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 463-470, 2010.

MORENO, J.A. Clima do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: **Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul**, 1961. 42p. Disponível em: <https://revistas.fee.tche.br/index.php/boletim-geografico-rs/article/view/3236/3310> Acesso em: 05 jul. 2022.

MOTA, Renata Vieira da et al. Biochemical and agronomical responses of grapevines to alteration of source-sink ratio by cluster thinning and shoot trimming. **Bragantia**, v. 69, n. 1, p. 17-25, 2010.

NACHTIGAL, J. C.; ROBERTO, S. F.. Sistema de Produção de Uva de Mesa no Norte do Paraná. **Embrapa uva e vinho sistema de produção**, 10 ISSN 1678-8761. Versão eletrônica Des. 2005.

OURA, E. Reaction products of yeast fermentations. *Process Biochemistry*, London, 12: 19-21, 35, 1977.

PETERSON, Jeffrey R.; SMART, Richard E. Foliage removal effects on 'Shiraz' grapevines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 26, n. 3, p. 119-124, 1975.

PÖTTER, Gabriela Hermann et al. 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, n. 9, 2010.

REYNIER, Alain. **Manual de viticultura: guia técnica de viticultura**. Mundi-Prensa Libros, 2002.

RIBEREAU-GAYON, P.; Glories, I.; Maujean, A. Tratado de enología: Química Del vino estabilización y tratamientos. **1ª, Ed. Buenos Aires: Hemisfério Sur**, 2003. 554 p.

RIZZON, Luiz Antenor; ZANUS, Mauro Celso; MANFREDINI, Sadi. Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade. **Embrapa Uva e Vinho-Documents (INFOTECA-E)**, 1996.

SANTOS, H.P. dos. Aspectos ecofisiológicos na condução da videira e sua influência na produtividade do vinhedo e na qualidade dos vinhos. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2006. 9p.

SMART, Richard E. Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality. A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 36, n. 3, p. 230-239, 1985.

SMART, Richard et al. **Sunlight into wine: a handbook for wine grape canopy management**. Winetitles, 1991. 88p.

STRECK, E.V. et al. Solos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: **EMATER/RS; UFRGS**, 2002. 222p. Disponível em: <<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=INIA.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=031722>> Acesso em: 05 jul. 2022.

WANG, Haibo; RACE, Edward J.; SHRIKHANDE, Anil J. Anthocyanin transformation in Cabernet Sauvignon wine during aging. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 27, p. 7989-7994, 2003.

YUSTE, D.J. Factores de desequilibrio de lavid: alternativas para el manejo eficaz del potencial vegetativo hacia equilibrio del viñedo. In: **Control del vigor y del rendimiento en el marco de una viticultura de calidad**, 1., 2005, La Rioja. **Anais...** La Rioja: APROVI, 2005.

ZAMORRA, F. Elaboración y crianzadelvino tinto: aspectos científicos y prácticos. **1. Ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa**, 2003. 225p.

ZOCHE, Renata Gimenez Sampaio et al. Wines produced with 'Cabernet Sauvignon' grapes from the region of Bagé in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Pesquisa **Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 5, p. 311-318, 2017.

## INFLUÊNCIA DA CEPA DE LEVEDURA NA COLORAÇÃO DE VINHO MERLOT/TANNAT TERMOVINIFICADO E SUA RELAÇÃO COM A ADSORÇÃO DE PIGMENTOS

Data de aceite: 01/09/2022

Data de submissão: 21/07/2022

### Gabriel Carissimi

Laboratório de Enologia e Microbiologia Aplicada, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul e G. Carissimi Prestadora de Serviços Ltda., Garibaldi  
<http://lattes.cnpq.br/9121246498866239>

### Fernanda Knaach Sandri

Laboratório de Enologia e Microbiologia Aplicada, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/2945650765506736>

### Fernando Joel Scariot

Laboratório de Enologia e Microbiologia Aplicada, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/4847799778738260>

### Ana Paula Longaray Delamare

Laboratório de Enologia e Microbiologia Aplicada, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/2612829295648932>

### Sergio Echeverrigaray

Laboratório de Enologia e Microbiologia Aplicada, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/5630031784004533>

**RESUMO:** As leveduras que participam na fermentação vínica realizam um amplo conjunto de transformações bioquímicas determinando as características do produto final. Assim, as características dos vinhos podem variar significativamente de acordo com a cepa de levedura empregada. Neste contexto, no presente trabalho foi avaliada a influência de oito cepas de *S. cerevisiae* na coloração de vinhos termovinificados e sua relação com a adsorção de pigmentos pelas leveduras. No experimento foi utilizado mosto obtido por termovinificação (Flash-Détente) com uvas Merlot/Tannat (4:1) e oito cepas de leveduras: duas leveduras comerciais, um isolado nativo e cinco híbridos. As leveduras foram inoculadas no mosto ( $10^6$  células/ml), e as fermentações (800 mL) foram conduzidas a 22°C e acompanhadas pela densidade. As análises básicas e de cor seguiram metodologias oficiais ou convencionais, e a adsorção de pigmentos foi realizada através de análise digital de coloração das leveduras. Todas as cepas completaram a fermentação em 10 dias, resultando em vinhos com <1,2 g/L AR, 72 a 85 meq/L AT, 9,7 a 10,6 % (v/v) etanol. A densidade de cor e tonalidade dos vinhos, assim como a concentração de fenóis, flavonas, antocianinas totais, livres e polimerizadas variou significativamente dependendo da levedura empregada. As leveduras com maior adsorção de pigmentos originaram os vinhos com menor coloração, concentração de antocianinas totais, livres e polimerizadas dos vinhos, mas não foi detectada correlação entre adsorção, tonalidade, fenóis e flavonas. Os dados indicam que a seleção e melhoramento de leveduras com baixa

capacidade de adsorção de antocianinas pode ser uma ferramenta útil para aumentar a coloração de vinhos tintos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *S. cerevisiae*, cor do vinho, melhoramento, antocianinas.

## INFLUENCE OF YEAST STRAINS ON THE COLOR OF THERMOVINIFIED MERLOT/TANNAT WINE AND ITS RELATIONSHIP WITH THE ADSORPTION OF PIGMENTS

**ABSTRACT:** The yeasts that participate in wine fermentation carry out a wide range of biochemical transformations that determine the characteristics of the final product. Thus, the characteristics of wines can vary significantly according to the strain of yeast used. In this context, the present work evaluated the influence of eight strains of *S. cerevisiae* on the color of thermovinified wines and their relationship with the adsorption of pigments by yeasts. In the experiment, musts obtained by thermovinification (Flash-Détente) with Merlot/Tannat grapes (4:1) and eight yeast strains were used: two commercial yeasts, one native isolate and five hybrids. Yeasts were inoculated into the must ( $10^6$  cells/ml), and fermentations (800 ml) were carried out at 22°C and monitored for density. The basic and color analyzes followed official or conventional methodologies, and the adsorption of pigments was performed through digital analysis of yeast staining. All strains completed fermentation in 10 days, resulting in wines with <1.2 g/L AR, 72 to 85 meq/L AT, 9.7 to 10.6 % (v/v) ethanol. The color and tone density of the wines, as well as the concentration of phenols, flavones, total, free and polymerized anthocyanins varied significantly depending on the yeast used. Yeasts with higher adsorption of pigments originated wines with lower color, concentration of total, free and polymerized anthocyanins in the wines, but no correlation was detected between adsorption, tone, phenols and flavones. The data indicate that the selection and breeding of yeasts with low anthocyanin adsorption capacity can be a useful tool to increase the color of red wines.

**KEYWORDS:** *S. cerevisiae*, wine color, breeding, antocianins.

## 1 | INTRODUÇÃO

O processo tradicional de produção de vinhos tintos envolve desengace e esmagamento, maceração com fermentação alcoólica simultânea envolvendo sistemas variados de remontagem, drenagem e prensagem, fermentação malolática, trasfegas, envelhecimento e engarrafamento. Uma das etapas mais características e relevantes no processo de vinificação em tintos é a maceração. A maceração é definida como os estágios pós-esmagamento nos quais as cascas das uvas são mantidas em contato com o mosto durante a vinificação, visando a extração de cor, taninos, aromas, entre outros compostos que determinam, em última instância, as características organolépticas do produto final. Cabe ressaltar que o tempo de contato com as cascas determina a extração de aromas varietais (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

Ribereau-Gayon et al. (2006) aponta três métodos alternativos para vinificação automatizada em tintos, desenvolvidos para resolver pelo menos parcialmente os problemas

de maceração/extração, entre eles: (1) a vinificação contínua, (2) a termovinificação, e (3) a maceração carbônica. Dentre estas, a termovinificação tem apresentado maior desenvolvimento tecnológico e vem sendo aplicada em vinícolas da Europa e de outras regiões do mundo, entre as quais o Brasil (CUEVAS-VALENZUELA; GONZALEZ, 2017; NTULI et al., 2021; SILVA et al., 2019; entre outros).

A termovinificação ou termomaceração é um processo relativamente antigo com referências já no século XVIII, mas que passou a ser difundido a partir da década de 1970 com o surgimento de novas tecnologias (MAZA et al., 2019). Por definição a termovinificação envolve a extração do mosto a temperaturas elevadas (60 a 80°C) seguido de vinificação na presença ou ausência de cascas (RIBEREAU-GAYON et al., 2006). Apesar de antiga, a técnica de termovinificação continua em desenvolvimento. Atualmente, a técnica mais utilizada envolve desengace e esmagamento seguido de rápido aumento de temperatura (>80°C) em trocador contínuo com resfriamento rápido a ~30°C em sistema de alto vácuo, conhecida como *Flash-Détente* (MAZA; ÁLVAREZ; RASO, 2019; NORDESTGAARD, 2017;). Esta técnica permite o processamento contínuo e automatizado de volumes elevados, sendo adequada para vinícolas grandes.

A termovinificação ou termomaceração levam a modificações na composição dos mostos e conseqüentemente dos vinhos já que a temperatura e o tempo de exposição das cascas alteram a extração, solubilização, evaporação e inclusive estrutura de moléculas no sistema.

De um modo geral, a utilização da termovinificação apresenta quatro justificativas: (1) o aumento da extração de polifenóis (antocianinas, taninos, entre outros); (2) a degradação de enzimas oxidativas (polifenol oxidases e lacases); (3) a redução da concentração de pirazinas; (4) a otimização do uso das instalações das cantinas (MAZA; ÁLVAREZ; RASO, 2019; NORDESTGAARD, 2017; NTULI et al., 2021), sendo assim, particularmente interessante na obtenção de mostos a partir de uvas de maturação desuniforme e/ou danificadas ou doentes. Por outro lado, os mostos obtidos por termovinificação apresentam redução das características varietais (MAZA et al., 2019), e conseqüentemente, os vinhos produzidos a partir deles expressam de forma mais evidente as características organolépticas oriundas do processo fermentativo. Apesar de alta eficiência de extração de pigmentos, uma das limitações atribuídas a termovinificação é a instabilidade da cor dos vinhos durante o envelhecimento (MAZA; ÁLVAREZ; RASO, 2019), particularmente no caso de mostos obtidos com *Flash-Détente* (NTULI et al., 2021).

Diversos trabalhos mostram que as leveduras (*Saccharomyces* e/ou não-*Saccharomyces*) que participam no processo de fermentação vínica afetam a coloração dos vinhos tintos através da adsorção de pigmentos e/ou a modificação das antocianinas pela ação de enzimas, produção ou degradação de cofatores de polimerização (CARIDI et al., 2007; ECHEVERRIGARAY et al., 2019, 2020; LOPEZ-TOLEDANO et al., 2004; MANZANARES et al., 2000; MORATA et al., 2003, 2006; RIZZON et al., 1999; VASSEROT;

CAILLET; MAUJEAN, 1997).

Desta forma, já é conhecida a contribuição das distintas cepas de leveduras no aroma, sabor, cor e outras características do vinho, sendo particularmente importantes em vinhos termovinificados. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes cepas de leveduras na coloração e parâmetros de cor de vinhos obtidos a partir de mosto (Merlot/Tannat) produzido por termovinificação industrial (Flash-Détente), assim como a adsorção de pigmentos (antocianinas) pelas distintas cepas de *S. cerevisiae*.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### Cepas de leveduras, manutenção e multiplicação

No presente trabalho foram empregadas oito cepas de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), sendo duas cepas comerciais, um isolado floculante e cinco híbridos obtidos e selecionados no Laboratório de Microbiologia Aplicada do Instituto de Biotecnologia.

- (1) Y904 – cepa comercial Mauriferm.
- (2) Zymaflore X5 – cepa comercial Laffort.
- (3) IF2 – isolado floculante (safra 2012) de uvas da região serrana do Rio Grande do Sul.
- (4) QA6A x CE2B – híbrido de segregantes de QA23 (Lallemand) e Cross Evolution (Lallemand).
- (5) CE2B x CE3C – híbrido de dois segregantes selecionados de Cross Evolution (Lallemand).
- (6) PDM5A x Y2C – híbrido de segregante de Prise de Mousse (Maurivin) e de Y904 (Mauriferm).
- (7) Y2B x QA2C – híbrido de segregante de Y904 (Mauriferm) e de QA23 (Lallemand).
- (8) 9B x 1L – híbrido de segregante de EC1118 (Lallemand) e de 71B (Lallemand).

Os híbridos foram obtidos pelo cruzamento de segregantes selecionados e escolhidos com base na tolerância ao etanol, capacidade e velocidade fermentativa, baixa produção de gás sulfídrico, caráter killer e produção de aromas fermentativos desejáveis.

As leveduras foram mantidas em meio YEPD (2% glicose, 2% peptona e 1% extrato de levedura) solidificado com 2% de ágar. A multiplicação das leveduras para inoculação nas fermentações foi realizada em YEPD a 28°C por 48 h. Após crescimento as leveduras foram centrifugadas, lavadas com salina (NaCl 0,9%) e a população determinada por contagem microscópica. As leveduras foram ressuspensas em mosto diluído (1:4) de forma a obter uma concentração de  $1 \times 10^9$  células/ml e incubadas por 1 hora. Esta suspensão de leveduras foi utilizada como inóculo das fermentações na proporção de aproximadamente 1:1000 de forma a iniciar as fermentações com  $1 \times 10^6$  células/ml.

## Fermentação de vinhos termovinificados

As fermentações (800 ml) foram conduzidas em frascos Falcon de 1000 ml fechados e com válvula de Müller. O mosto utilizado na fermentação foi cedido pela Cooperativa Vinícola Garibaldi. O mosto (Merlot/Tannat aproximadamente 4:1) foi obtido por termovinificação em sistema Flash-Détente.

O mosto foi transferido para os frascos de fermentação, acrescido de 20 mg/L de metabissulfito e 100 mg/L de fosfato de amônio prévio à inoculação com as leveduras. As leveduras foram inoculadas de forma a obter uma população inicial de  $1 \times 10^6$  células/ml. As fermentações foram realizadas em triplicata.

## Acompanhamento das fermentações e análises básicas dos vinhos

O processo fermentativo foi acompanhado diariamente através da retirada de amostra homogênea e avaliação da densidade. A densidade foi determinada com Densímetro Densito-30XP (Mettler-Toledo).

As análises básicas foram realizadas segundo as recomendações estabelecidas pela legislação vigente do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2005). Foram analisadas as variáveis básicas: densidade (g/ml), álcool (% v/v), acidez total (meq/L), pH e açúcares redutores (g/L).

A concentração de ácido acético (g/L) foi determinada utilizando o kit enzimático K-Acet da Megazyme de acordo com as instruções do fabricante.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## Análises de coloração de mosto e vinhos termovinificados

As análises de cor foram realizadas através de avaliação espectrofotométrica de acordo com os métodos propostos por Somers e Evans (1977) de acordo com o manual de procedimentos do Australian Wine Research Institute ([www.awri.com.au/wp-content/uploads/modified\\_somers\\_colour\\_measure.pdf](http://www.awri.com.au/wp-content/uploads/modified_somers_colour_measure.pdf)) e o Wine and Must Analysis Manual do Napa Valley College.

Estes métodos permitem a determinação de cor e a predição de alguns elementos que contribuem com a mesma, como o equilíbrio de antocianinas e a composição fenólica. O método envolve cinco passos, nas quais o vinho é analisado no seu estado original, tamponado e tratado com excesso de sulfito, de acetaldeído e de ácido clorídrico. Os parâmetros avaliados foram: (a) densidade de cor - DC =  $(A_{420} + A_{520})$ ; (b) tonalidade- T =  $A_{420}/A_{520}$ ; (c) fenóis totais – FT =  $A_{280 \text{ HCl}} - 4$ ; (d) antocianinas totais (mg/L) – AT =  $20 \times (A_{520 \text{ HCl}} - (1,6667 \times A_{520 \text{ sulfito}}))$ ; (e) grau de ionização (%) - GP=  $100 \times \{(A_{520 \text{ tamponado}} - A_{520 \text{ sulfito}}) / [(A_{520 \text{ HCl}}) - (1,6667 \times A_{520 \text{ sulfito}})]\}$ ; (f) antocianinas livres (mg/L) - AL=  $A_{520 \text{ tamponado}} - A_{520 \text{ sulfito}}$ ; (g) antocianinas polimerizadas e co-polimerizadas – AP = AT-AL.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## Avaliação da adsorção de antocianinas

A determinação da adsorção de antocianinas pelas distintas cepas de leveduras foi realizada de acordo com o método proposto por Echeverrigaray, Menegotto e Delamare, (2019), que inclui a determinação digital de cor da biomassa de leveduras empregando o *software* Photoshop. Os valores (RGB) obtidos variam entre 0 (preto ou máximo de cor avaliável) e 255 (branco ou ausência de cor). Os dados são expressos em adsorção relativa (UR) = - (RGB controle – RGB amostra celular). As análises foram realizadas em triplicata.

### Análises estatísticas

Dependendo dos dados, os mesmos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey (<5%). As análises foram realizadas utilizando o programa computacional SPSS para Windows.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser apreciado na Figura 1, as fermentações iniciaram com densidade 1,0933 (22,3°Brix) e todas terminaram após 10 dias com densidades da ordem de 0,9915 a 0,9938. As fermentações começaram lentamente nas primeiras 24 horas, passando a fermentar rapidamente, fase tumultuosa, nos cinco dias seguintes. As fermentações com a levedura floculante IF2 foram mais lentas do que aquelas com leveduras não floculantes, especialmente no início da fermentação, fato que pode ser atribuído a menor número inicial de células inoculadas já que a contagem de leveduras floculantes é particularmente complexa. Entre as cepas não floculantes, aquelas com maior velocidade de fermentação foram 9B x 1L e QA6B x CE2B com redução de 0,0205 unidades de densidade/dia e as mais lentas foram Y2B x QA2C e PDM5A x Y2B com redução de 0,0177 e 0,0188 unidades de densidade/dia, respectivamente.

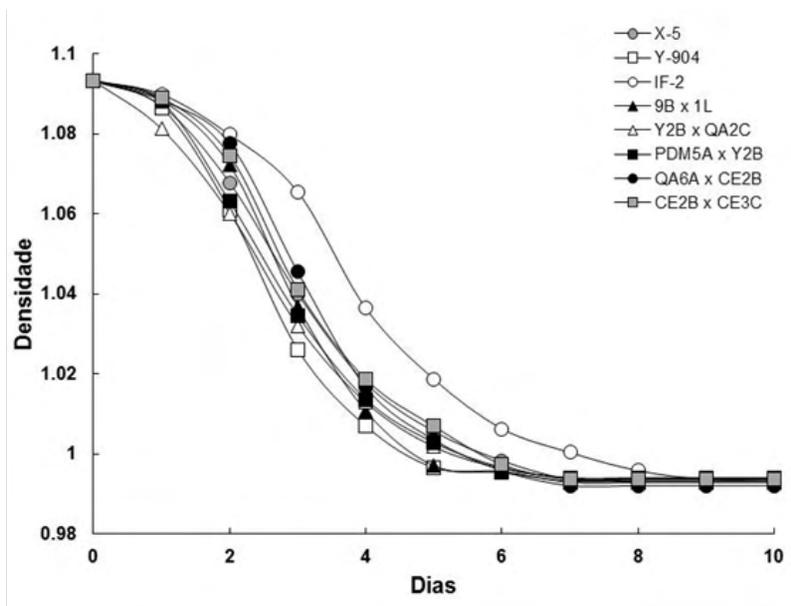


Figura 1. Dinâmica dos termovinificados com distintas cepas de leveduras (redução de densidade durante as fermentações). Valores médios de três repetições.

Na Tabela 1 são apresentados os dados relativos às análises básicas do mosto e dos vinhos obtidos com as oito cepas de leveduras avaliadas. Os açúcares residuais totais (AR) foram iguais ou inferiores a 1,14 g/L, mostrando que todas as cepas de leveduras completaram a fermentação gerando vinhos com açúcares residuais relativamente baixos e compatíveis com vinhos “secos”. Por sua vez, o teor alcoólico dos vinhos variou entre 9,7 e 10,6 % (v/v), que descontada a concentração de açúcares residuais correspondente a rendimentos de 79,63% para QA6A x CE2B a 85,10% para CE2B x CE3C e PDM5A x Y2B.

	Densidade	AR (g/L)	ETOH (v/v)	Acidez total (meq/L)	Ác. Acético (g/L)	pH
IF-2	0,9936	1,11 ± 0,02	9,7 ± 0,5	82 ± 2	0,53 ± 0,05	3,23
CE2B x CE3C	0,9935	1,12 ± 0,05	10,1 ± 0,6	79 ± 3	0,22 ± 0,04	3,43
QA6A x CE2B	0,9920	1,14 ± 0,08	10,6 ± 0,2	74 ± 5	0,41 ± 0,06	3,31
X5	0,9936	1,14 ± 0,02	9,9 ± 0,7	84 ± 4	0,29 ± 0,02	3,28
Y2A x QA2C	0,9940	1,10 ± 0,05	10,3 ± 0,2	72 ± 3	0,35 ± 0,03	3,32
PDM5A x Y2B	0,9938	1,12 ± 0,06	10,6 ± 0,5	84 ± 1	0,36 ± 0,01	3,25
Y904	0,9928	1,09 ± 0,07	10,2 ± 0,4	80 ± 3	0,40 ± 0,05	3,29
9Bx1L	0,9931	1,07 ± 0,08	10,0 ± 0,4	85 ± 4	0,27 ± 0,02	3,31
<b>MOSTO</b>	<b>1,0933</b>	<b>21,02 ± 0,22</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>60 ± 4</b>	<b>0,00 ± 0,00</b>	<b>3,27</b>

Tabela 1. Análises básicas de mosto termovinificado e vinhos correspondentes obtidos com oito cepas de leveduras distintas.

A acidez total do mosto foi de 60 meq/L, enquanto a dos vinhos termovinificados oscilou entre 74 e 85 meq/L. A maior acidez dos vinhos em relação ao mosto pode ser atribuída ao acúmulo de ácidos orgânicos (succínico, cítrico, etc) derivados do metabolismo fermentativo e solubilização, durante a fermentação, de tartaratos e outros ácidos presentes em formas combinadas no mosto. A acidez do mosto e dos vinhos é considerada relativamente baixa para vinhos tintos, mas dentro de valores previamente descritos no caso de vinhos termovinificados. A menor concentração de ácidos fixos em vinhos oriundos de processos de termovinificação em comparação com aqueles de processos convencionais de maceração tem sido associada à baixa extração de ácido tartárico e outros ácidos orgânicos no curto espaço de tempo de contato com as cascas e à ausência de etanol durante este período.

A acidez volátil dos vinhos termovinificados variou entre 0,22 e 0,53 g/L, concentrações estas relativamente baixas em relação a vinhos de extração convencional e termovinificados. Cabe ressaltar que estas concentrações são muito inferiores ao limiar de percepção do ácido acético que é 0,7 a 1,0 g/L (LAMBRECHTS; PRETORIOUS, 2000). Além das características básicas, as cepas avaliadas neste trabalho influenciam significativamente na concentração de compostos voláteis e as características aromáticas e gustativas de vinhos Merlot/Tannat (CARISSIMI et al., 2017).

Uma característica relevante em vinhos tintos é a coloração dos mesmos. A coloração é dependente da concentração de antocianinas livre, a concentração de pigmentos polimerizados e a concentração de cofatores que se ligam aos antocianos (HE et al., 2012). Em geral, as antocianinas encontram-se localizadas principalmente na casca da uva e são extraídas, no caso de vinhos tintos, durante o processo de maceração, o qual nos métodos tradicionais de vinificação em tinto ocorre junto com a fermentação alcoólica (RIBEREAU-GAYON et al., 2006). Já na termovinificação, a extração das antocianinas ocorre durante o processo de preparo do mosto a alta temperatura, durante a descompressão e durante a curta maceração antes da retirada das cascas e prévia à fermentação (GIRARD et al., 2001; MAZA; ÁLVAREZ; RASO, 2019; NTULI et al., 2021).

Conforme pode ser observado nos resultados apresentados na Figura 2A e Tabela 2, importante redução da densidade de cor (A420 + A520) foi detectada nos vinhos obtidos com as oito cepas empregadas em relação ao mosto. Além disso, diferenças significativas foram observadas entre as cepas, sendo a maior densidade de cor obtida com o híbrido Y2A x QA2C e a menor com a cepa comercial X5, com reduções na densidade de cor em relação ao mosto da ordem de 23,3% e 37,8%, respectivamente. Apesar de mostrarem uma redução média de 31,25%, a densidade de cor média dos vinhos obtidos (4,47) foi superior àquela obtida geralmente em vinhos tintos, inclusive termovinificados (CLIFF; KING; SCHLOSSER, 2007; RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

Entre os fatores enológicos determinantes da cor dos vinhos, um que tem chamado especial atenção é o fator microbiológico. Neste sentido, é de consenso geral que leveduras

e bactérias lácticas que participam da fermentação vínica podem interferir de forma positiva ou negativa na coloração dos vinhos (MAZA; ÁLVAREZ; RASO, 2019; RIBEREAU-GAYON et al., 2006; RIZZON et al., 1999). A modificação da intensidade, estabilidade e tonalidade de cor em vinhos por parte das leveduras tem sido atribuídos a adsorção de antocianinas, atividade periplasmática de antocianina- $\beta$ -D-glucosidase, produção de cofatores de co-polimerização de antocianinas, produção ou degradação de compostos fenólicos envolvidos na polimerização, entre outros (ECHEVERRIGARAY et al., 2020; ECHEVERRIGARAY; MENEGOTTO; DELAMARE, 2019; LOPEZ-TOLEDANO et al., 2004; MANZANARES et al., 2000; MORATA et al., 2003, 2006; VASSEROT; CAILLET; MAUJEAN, 1997).

Durante a fermentação e nos anos subsequentes de maturação, as antocianinas sofrem uma série de reações e associações que determinam mudanças de cor e são essenciais na estabilidade da mesma, de tal forma que apesar das antocianinas monoméricas decaírem constantemente os vinhos mantêm essencialmente a sua cor vermelha (BROUILLARD; CHASSANG; FOUGEROUSSE, 2003; HE et al., 2012). Além disso, apesar de serem basicamente inodoras e insípidas, as antocianinas podem interagir com outras substâncias e influenciar as características de aroma e sabor dos vinhos (DUFOUR; SAUVAITRE, 2000).

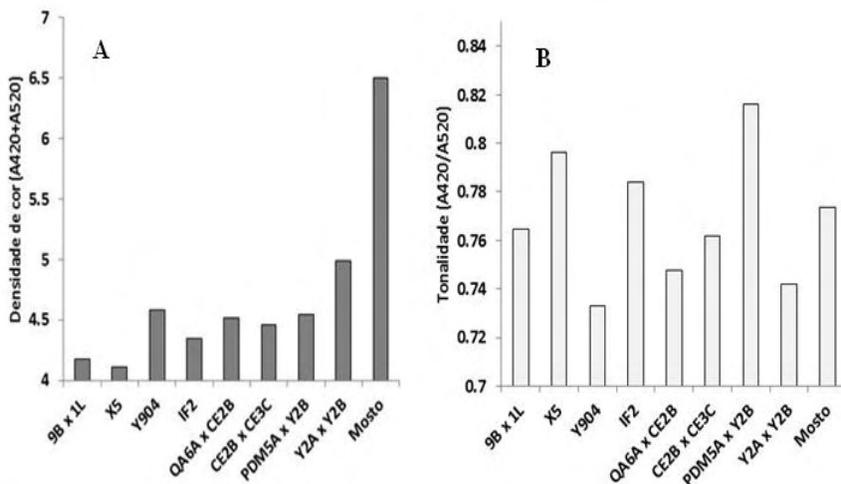


Figura 2. Densidade de cor (A) e tonalidade (B) do mosto e dos vinhos obtidos com oito cepas de leveduras.

Varição significativa foi evidenciada na tonalidade da cor dos vinhos (Figura 2B e Tabela 2), com duas cepas Y904 e Y2A x QA2C se destacando com vinhos de tonalidade inferior aos outros, consequentemente maior contribuição de cores vermelhas sobre amarelas. Cabe ressaltar que o híbrido Y2A x QA2C foi obtido pelo cruzamento de um segregante selecionado da cepa comercial Y904, corroborando dados prévios (CARIDI et

al., 2007; MORATA et al., 2003, 2006;) que mostram a base genética da capacidade de adsorção de antocianinas por leveduras *Saccharomyces*.

Análise dos vinhos obtidos com as oito cepas de leveduras mostram diferenças significativas para todos os parâmetros de cor avaliados (Tabela 2). Considerando apenas os vinhos, a densidade de cor conforme esperado exibiu elevada correlação com a concentração de antocianinas totais ( $R=0,944^{**}$ ). Por outro lado, não apresentou correlação com a concentração de flavonas ( $R=0,205^{ns}$ ) e tonalidade ( $R= -0,462^{ns}$ ), e baixa correlação positiva com antocianinas livres ( $R=0,489$ ). Já as antocianinas totais, como esperado, apresentaram correlação positiva com a concentração de antocianinas polimerizadas ( $R=0,954^{**}$ ), livres ( $R=0,820^{**}$ ) e o grau de ionização ( $R=0,896^{**}$ ).

Elevadas correlações entre os parâmetros de cor e concentração de antocianinas é esperada já que as antocianinas, nas suas formas livres, polimerizadas e co-polimerizadas representam a maior parte dos compostos coloridos (pigmentos) presentes em uva, e consequentemente, vinhos (HE et al., 2012).

	A 420	A 520	A 620	Densidade de Cor	Tonalidade	Fenóis totais (A 280)
<b>9B x 1L</b>	1,81 <sup>E</sup>	2,37 <sup>G</sup>	0,56 <sup>CD</sup>	4,59 <sup>B</sup>	0,76 <sup>CDE</sup>	27.63 <sup>E</sup>
<b>X5</b>	1,82 <sup>DE</sup>	2,29 <sup>H</sup>	0,53 <sup>D</sup>	4,11 <sup>E</sup>	0,80 <sup>AB</sup>	28.77 <sup>CD</sup>
<b>Y904</b>	1,94 <sup>C</sup>	2,65 <sup>C</sup>	0,60 <sup>BCD</sup>	4,18 <sup>E</sup>	0,73 <sup>F</sup>	29.43 <sup>BC</sup>
<b>IF2</b>	1,91 <sup>CD</sup>	2,44 <sup>FG</sup>	0,61 <sup>BC</sup>	4,35 <sup>D</sup>	0,78 <sup>BC</sup>	30.05 <sup>B</sup>
<b>QA6A x CE2B</b>	1,93 <sup>C</sup>	2,59 <sup>D</sup>	0,59 <sup>BCD</sup>	4,52 <sup>BC</sup>	0,75 <sup>DEF</sup>	29.32 <sup>BC</sup>
<b>CE2B x CE3C</b>	1,93 <sup>C</sup>	2,53 <sup>DE</sup>	0,64 <sup>B</sup>	4,46 <sup>C</sup>	0,76 <sup>CDE</sup>	28.13 <sup>DE</sup>
<b>PDM5A x Y2B</b>	2,04 <sup>B</sup>	2,50 <sup>EF</sup>	0,66 <sup>B</sup>	4,55 <sup>B</sup>	0,82 <sup>A</sup>	29.82 <sup>B</sup>
<b>Y2A x QA2C</b>	2,13 <sup>B</sup>	2,87 <sup>B</sup>	0,62 <sup>BC</sup>	4,66 <sup>B</sup>	0,74 <sup>EF</sup>	29.18 <sup>BC</sup>
<b>Mosto</b>	2,83 <sup>A</sup>	3,66 <sup>A</sup>	0,91 <sup>A</sup>	6,50 <sup>A</sup>	0,77 <sup>BCD</sup>	32.71 <sup>A</sup>

	Antocianinas totais (mg/L)	Antocianinas livres (mg/L)	Antocianinas polimerizadas (mg/L)	Grau de ionização (%)	Flavonas (A 365)
<b>9B x 1L</b>	339,3 <sup>C</sup>	49,53 <sup>BC</sup>	289,76 <sup>C</sup>	11,76 <sup>AB</sup>	4,94 <sup>C</sup>
<b>X5</b>	232,7 <sup>E</sup>	36,47 <sup>D</sup>	226,23 <sup>F</sup>	7,71 <sup>C</sup>	4,95 <sup>C</sup>
<b>Y904</b>	283,52 <sup>D</sup>	47,87 <sup>C</sup>	235,65 <sup>E</sup>	10,73 <sup>B</sup>	5,29 <sup>B</sup>
<b>IF2</b>	319,23 <sup>CD</sup>	51,20 <sup>BC</sup>	268,03 <sup>D</sup>	9,71 <sup>BC</sup>	5,38 <sup>B</sup>
<b>QA6A x CE2B</b>	330,11 <sup>C</sup>	54,47 <sup>B</sup>	275,64 <sup>CD</sup>	11,83 <sup>AB</sup>	5,25 <sup>B</sup>
<b>CE2B x CE3C</b>	328,54 <sup>C</sup>	53,00 <sup>B</sup>	275,54 <sup>CD</sup>	11,15 <sup>AB</sup>	5,03 <sup>C</sup>
<b>PDM5A x Y2B</b>	330,77 <sup>C</sup>	51,93 <sup>B</sup>	278,84 <sup>C</sup>	10,94 <sup>B</sup>	5,27 <sup>B</sup>
<b>Y2A x QA2C</b>	368,74 <sup>B</sup>	50,00 <sup>BC</sup>	318,74 <sup>B</sup>	11,38 <sup>AB</sup>	5,39 <sup>B</sup>
<b>Mosto</b>	410,00 <sup>A</sup>	70,60 <sup>A</sup>	341,40 <sup>A</sup>	13,35 <sup>A</sup>	6,43 <sup>A</sup>

\* Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 2. Parâmetros de cor, fenóis e flavonas em vinhos obtidos com oito cepas de leveduras.

Durante a fermentação e nos primeiros anos de maturação, as antocianinas monoméricas sofrem uma série de reações e associações, gerando um conjunto de derivados de novos pigmentos essenciais para a estabilidade de cor (HE et al., 2012). Assim, a concentração de antocianinas monoméricas decai constantemente, e mesmo assim, o vinho pode manter a sua cor. As reações e associações envolvem mecanismos complexos, alguns relativamente rápidos como associações entre antocianinas livres e copolimerizadas, e outros mais lentos, como a formação de antocianinas polimerizadas com flavan-3-óis e proantocianidinas, ou a formação de piranoantocianinas e outros produtos polimerizados (HE et al., 2012). Assim, não é de surpreender que os vinhos novos avaliados neste trabalho apresentem alta correlação entre densidade de cor, antocianinas livres, antocianinas totais e antocianinas polimerizadas.

Considerando que distintas cepas de *Saccharomyces* apresentam diferenças na capacidade de adsorção de antocianinas (CARIDI et al., 2007; ECHEVERRIGARAY et al., 2020; ECHEVERRIGARAY; MENEGOTTO; DELAMARE, 2019; MORATA et al., 2003) foi avaliada a capacidade de adsorção relativa de antocianinas por parte das leveduras (borras) no término da fermentação. Conforme os dados apresentados na tabela 3, as cepas avaliadas apresentaram diferenças significativas de adsorção de antocianinas. Neste sentido, o híbrido Y2A x QA2C apresentou a menor adsorção e a maior densidade de cor do vinho, já a leveduras comercial X5, recomendada para vinhos brancos, teve o maior valor de adsorção e a menor densidade de cor do vinho.

	Densidade	Adsorção
Y904	4,59 ± 0,02 <sup>B</sup>	83,2 ± 0,6 <sup>D</sup>
X5	4,11 ± 0,03 <sup>E</sup>	114,6 ± 1,1 <sup>A</sup>
9B x 1L	4,18 ± 0,03 <sup>E</sup>	108,3 ± 0,8 <sup>B</sup>
IF2	4,35 ± 0,02 <sup>D</sup>	92,3 ± 1,3 <sup>C</sup>
QA6A x CE2B	4,52 ± 0,01 <sup>BC</sup>	86,4 ± 0,9 <sup>C</sup>
CE2B x CE3C	4,46 ± 0,02 <sup>C</sup>	88,1 ± 1,7 <sup>BC</sup>
PDM5A x Y2B	4,55 ± 0,04 <sup>B</sup>	94,7 ± 2,4 <sup>C</sup>
Y2A x QA2C	4,99 ± 0,02 <sup>B</sup>	74,6 ± 0,7 <sup>E</sup>
Mosto	6,50 ± 0,04 <sup>A</sup>	-

\* Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 3. Adsorção de antocianinas por distintas cepas de leveduras após fermentação de mosto termovinificado (Merlot/Tannat).

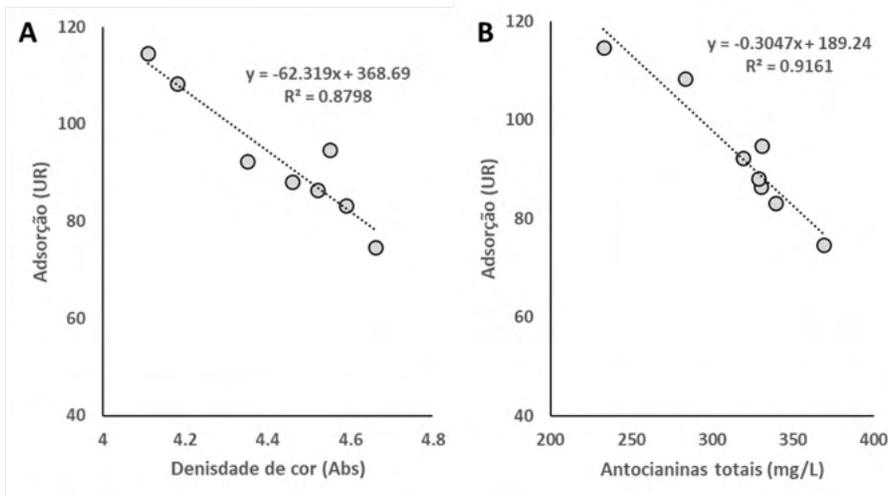


Figura 3. Relação entre a adsorção de antocianinas das oito cepas de leveduras avaliadas e a densidade (A) e concentração de antocianinas totais (B) nos vinhos termovinificados.

Uma análise de correlação entre a adsorção de antocianinas pelas células das distintas cepas de leveduras e os parâmetros de cor dos vinhos obtidos mostrou elevada correlação negativa entre a adsorção e a densidade de cor do vinho ( $R = -0,938^{**}$ ) e a concentração de antocianinas totais ( $R = -0,957^{**}$ ). Por outro lado, não foi observada correlação entre a adsorção e a tonalidade dos vinhos ( $R = 0,5^{ns}$ ).

Quando comparada a adsorção de pigmentos por parte das células das distintas cepas de leveduras e as variáveis antocianinas livres e antocianinas polimerizadas, foram evidenciadas correlações negativas de  $-0,708^*$  e  $-0,969^{**}$ . A maior correlação com as antocianinas polimerizadas pode ser tomada como indicativo de que as leveduras adsorvem preferencialmente antocianinas polimerizadas, mas também as antocianinas livres. Estes dados corroboram aqueles de Medina et al., (2005) que evidenciaram maior remoção de compostos com alta polaridade, como as antocianinas acetiladas, por leveduras.

## 4 | CONCLUSÃO

De um modo geral, os resultados mostraram que as características de coloração: densidade de cor, tonalidade, e concentração de fenóis, flavonas, antocianinas totais, livres e polimerizadas dos vinhos são significativamente dependentes da cepa de levedura empregada. As cepas de leveduras com menor adsorção de pigmentos originaram os vinhos com maior coloração, concentração de antocianinas totais, livres e polimerizadas. Por outro lado, não foi detectada correlação entre a adsorção e a tonalidade, concentração fenóis e flavonas. Os dados indicam que a seleção e melhoramento de leveduras com baixa capacidade de adsorção de antocianinas pode ser uma ferramenta útil para aumentar

a coloração de vinhos tintos, em particular, os vinhos termovinificados.

## REFERÊNCIAS

BROUILLARD, R.; CHASSAING, S.; FOUGEROUSSE, A. Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red wine color lasts so long? **Phytochemistry**, v. 64, p. 1179–1186, 2003.

CARIDI, A.; SIDARI, R.; SOLIERI, L.; CUFARI, A.; GIUDICI, P. Wine colour adsorption phenotype: an inheritable quantitative trait loci of yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 735–742, 2007.

CARISSIMI, G.; MARCON, A.; DELAMARE, A.P.L.; VANDERLINDE, R.; ECHEVERRIGARAY, S. Características de vinhos termovinificados produzidos com distintas cepas de *Saccharomyces*. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, v. 9, p. 96-103, 2017.

CLIFF, M.A.; KING, M.C.; SCHLOSSER, J. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. **Food Research International**, v.40, p. 92–100, 2007.

CUEVAS-VALENZUELA, J.; GONZÁLEZ-ROJAS, A. Using the Flash Détente technology to effectively improve quality in Chilean red wines. *In: ASEV National Conference*, 68., 2017, Bellevue, Washington USA. **Anais [...]**. doi:10.13140/RG.2.2.14375.85922

DUFOUR, C.; SAUVAITRE, I. Interactions between anthocyanins and aroma substances in a model system. Effect on the flavor of grape-derived beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1784–1788, 2000.

ECHEVERRIGARAY, S.; MENEGOTTO, M.; DELAMARE, A.P.L. A simple and reliable method for the quantitative evaluation of anthocyanin adsorption by wine yeasts. **Journal of Microbiological Methods**, v. 157, p. 88-92, 2019.

ECHEVERRIGARAY, S.; SCARIOT, F.J.; MENEGOTTO, M.; DELAMARE, A.P.L. Anthocyanin adsorption by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation is associated to the loss of yeast cell wall/membrane integrity. **International Journal of Food Microbiology**, v. 314, 108383, 2020.

GIRARD, B.; YUKSEL, D.; CLIFF, M.A.; DELAQUIS, P.; REYNOLDS, A.G. Vinification effects on the sensory, colour and GC profiles of Pinot noir wines from British Columbia. **Food Research International**, v.34, p. 483–499, 2001.

HE, F.; LIANG, N.N.; MU, L.; PAN, Q.H.; WANG, J.; REEVERS, M.J.; DUAN, C.Q. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. **Molecules**, v. 17, p. 1571-1601, 2012.

HE, F.; LIANG, N.N.; MU, L.; PAN, Q.H.; WANG, J.; REEVERS, M.J.; DUAN, C.Q. Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution. **Molecules**, v. 17, p. 1483-1519, 2012.

LOPEZ-TOLEDANO, A.; VILLANO-VALENCIA, D.; MAYEN, M.; MERIDA, J.; MEDINA, M. Interaction of yeasts with the products resulting from the condensation reaction between (+)-catechin and acetaldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2376–2381, 2004.

- MANZANARES, P.; ROJAS, V.; GENOVES, S.; VALLES, S. A preliminary search for anthocyanin- $\beta$ -d-glucosidase activity in non-Saccharomyces wine yeasts. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, p. 95–103, 2000.
- MAZA, M.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Thermal and non-thermal physical methods for improving polyphenol extraction in red winemaking. **Beverages**, v. 5, 47, 2019. doi:10.3390/beverages5030047.
- MEDINA, K.; BOIDO, E.; DELLACASSA, E.; CARRAU, F. Yeast Interactions with Anthocyanins during Red Wine Fermentation. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 56, p. 104-109, 2005.
- MORATA, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, M.C.; SUBERVIOLA, J.; BARTOLOMÉ, B.; COLOMO, B.; SUÁREZ, J.A. Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4084–4088, 2003.
- MORATA, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, M.C.; CALDERÓN, F.; SUÁREZ, J.A. Effects of pH, temperature and SO<sub>2</sub> on the formation of pyranoanthocyanins during red wine fermentation with two species of Saccharomyces. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 123–129, 2006.
- NORDEDTGAARD, S. Pre-fermentation heating of red grapes: a useful tool to manage compressed vintages? **Grapegrower & winemaker**, v. 637, p. 54-61, 2017.
- NTULI, R.G.; PONANGI, R.; JEFFERY, D.W.; WILKINSON, K.L. Color extraction and stability of Rubired juice concentrate produces via conventional must heating or Flash Détente processing. **ACS Food Science and Technology**, v. 1, p. 829-838, 2021.
- RIBEREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. **Handbook of Enology, Vol I: The microbiology of wine and vinifications**, Chichester, UK: John Wiley and Sons, 2006.
- RIZZON, L.A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J.; ZANAZ, M.C. Efeito de três processos de vinificação sobre a composição química e a qualidade do vinho Cabernet Franc. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1285-1293, 1999.
- SILVA, I.S.; BARROS, A.P.A.; NUNES, G.S.; TORRES, L.H.P.S.; DO NASCIMENTO, D.C.; DAMASCENO, D.C.C.; MARQUES, A.T.B. Influence of the thermovinification technique on the content of phenolic compounds and color of 'Syrah' tropical red wines. *In*: CONGRESO LATINOAMERICANO DE VITICULTURA Y ENOLOGIA, 16, 2019, Ica. **Anais [...]**. Ica, 2019. p.156-160.
- SOMERS, C.T.; EVANS, M.E. (1977) Spectra evolution of Young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, "Chemical age". **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 28, p. 279-287, 1977.
- VASSEROT, Y.; CAILLET, S.; MAUJEAN, A. Study of anthocyanin adsorption by yeast lees. Effect of some physicochemical parameters. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 48, p. 433–437, 1997.

# CAPÍTULO 3

## SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DE LEVEDURAS DO GÊNERO *Issatchenkia* COM POTENCIAL ENOLÓGICO PARA DEGRADAÇÃO DE ÁCIDO L-MÁLICO

Data de aceite: 01/09/2022

Data de submissão: 26/07/2022

**Ana Paula Longaray Delamare**

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/2612829295648932>

**Luisa Vivian Schwarz**

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/917636177060133>

**Angela Rossi Marcon**

Enologia, Universidade Federal do Pampa  
Dom Pedrito – RS  
<http://lattes.cnpq.br/5908518253142340>

**Fernando Joel Scariot**

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/4847799778738260>

**Fernanda Knaach Sandri**

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/2945650765506736>

**Sergio Echeverrigaray**

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/5630031784004533>

**RESUMO:** Os mostos e os vinhos, principalmente provenientes de zonas vitícolas frias ou com maturação incompleta, tendem a apresentar uma acidez málica elevada. A alta acidez málica é indesejável, pois aumenta a sensação de acidez nos vinhos. Tradicionalmente, a acidez málica é reduzida através da fermentação malolática bacteriana. No entanto, isso nem sempre é eficiente e muitas vezes pode levar à produção de compostos indesejáveis. Nesse contexto, leveduras capazes de realizar fermentação maloalcoólica têm sido objeto de estudo. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo selecionar leveduras do gênero *Issachenkia* isoladas de vinhedos da Serra Gaúcha (Brasil) capazes de degradar o ácido L-málico. Vinte e um isolados *Issachenkia* spp. foram inicialmente avaliados quanto às características enológicas básicas e degradação do ácido málico, e um isolado IP-3 de *I. terricola* foi selecionado. Com este isolado, as fermentações foram realizadas em mosto sintético com inoculação de *I. terricola* IP-3, *Saccharomyces cerevisiae* EC1118, co-inoculação e inoculação sequencial de IP-3 e EC1118. A fermentação com IP-3 não foi concluída, obtendo-se baixa produção de etanol, mas 100% de degradação do ácido L-málico. Por outro lado, as co-fermentações e fermentações

sequenciais atingiram teores alcoólicos >10% e apresentaram redução significativa da acidez málica (>80%). A eficiência de redução da acidez málica foi confirmada em fermentações de mosto vínico (Chardonnay com 3,22 g.L<sup>-1</sup> ácido málico) no qual a inoculação sequencial IP-3/EC1118, finalizou as fermentações com teores alcoólicos >9,0% (v/v), menos de 1 g.L<sup>-1</sup> de açúcares residuais, baixa acidez volátil, acidez total reduzida e, principalmente, 67,7% de degradação málica. De modo geral, os resultados mostram o potencial do IP-3 para reduzir a acidez málica em fermentações de vinho, quer em co-fermentação quer em fermentações sequenciais com *S. cerevisiae*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fermentação, não-Saccharomyces, ácido málico, glicerol/etanol.

## SELECTION AND EVALUATION OF *Issatchenkia* YEASTS WITH ENOLOGICAL POTENTIAL FOR L-MALIC ACID DEGRADATION

**ABSTRACT:** Musts and wines, mainly from cold wine-growing areas or with incomplete maturation, tend to have high malic acidity. High malic acidity is undesirable as it increases the sensation of acidity in wines. Traditionally, malic acidity is reduced through bacterial malolactic fermentation. However, this is not always efficient and can often lead to the production of undesirable compounds. In this context, yeasts capable of carrying out malo-alcoholic fermentation have been the object of study. Therefore, the present work aimed to select yeasts of the genus *Issachenkia* isolated from vineyards in Serra Gaúcha (Brazil) capable of degrading L-malic acid. Twenty-one *Issachenkia* spp. were initially evaluated for basic oenological characteristics and malic acid degradation, and an IP-3 isolate of *I. terricola* was selected. With this isolate, fermentations were carried out in synthetic must with inoculation of *I. terricola* IP-3, *Saccharomyces cerevisiae* EC1118, co-inoculation and sequential inoculation of IP-3 and EC1118. The fermentation with IP-3 was not completed, obtaining low ethanol production, but 100% degradation of L-malic acid. On the other hand, co- and sequential fermentations reached alcohol levels >10%, and exhibited a significant reduction in malic acidity (>80%). The efficiency of malic acidity reduction was confirmed in fermentations of wine must (Chardonnay with 3.22 g.L<sup>-1</sup> malic acid) in which the sequential inoculation IP-3/EC1118 finished the fermentations with alcohol levels >9.0% (v/v), less than 1 g.L<sup>-1</sup> of residual sugars, low volatile acidity, reduced total acidity, and particularly, 67.7% malic degradation. Overall, the results show the potential of IP-3 to reduce malic acidity in wine fermentations, either in co-fermentation or in sequence fermentations with *S. cerevisiae*.

**KEYWORDS:** Fermentation, non-Saccharomyces, malic acid, glycerol/ethanol.

## INTRODUÇÃO

A fermentação alcoólica do mosto de uva é um processo complexo realizado por leveduras enológicas que, em essência, envolve a conversão bioquímica de açúcares em etanol e dióxido de carbono, e ao mesmo tempo em que essa reação geral ocorre, muitos outros processos bioquímicos, químicos e físico-químicos ocorrem, tornando possível transformar o mosto de uva em vinho (MORENO-ARRIBAS; POLO, 2009).

A produção de vinhos de boa qualidade requer o ajuste da acidez em relação aos outros componentes do vinho para criar um produto equilibrado (SAAYMAN; VILJOEN-

BLOOM, 2006). Após a fermentação alcoólica, o vinho resultante pode sofrer a fermentação malolática espontânea ou induzida. Esta fermentação consiste na descarboxilação bacteriana do ácido málico formando ácido láctico e liberando gás carbônico (ALEXANDRE et al., 2004). O ácido málico é um dos ácidos orgânicos mais abundantes, juntamente com o ácido tartárico, encontrado em uvas e pode ser prejudicial para a qualidade final do vinho (VOLSCHENK et al., 2001). Este composto contribui para o gosto ácido em vinhos e serve de substrato para bactérias lácticas contaminantes que podem causar deterioração do vinho após o engarrafamento, sendo essencial remover o excesso de ácido málico dos vinhos para assegurar a estabilidade e qualidade física, bioquímica e microbiológica dos mesmos (DEL COURT et al., 1995; PRETORIUS, 2000).

Os principais microrganismos envolvidos na fermentação malolática são as bactérias lácticas como *Oenococcus*, *Lactobacillus* e *Leuconostoc* (PALACIOS, 2005). Este processo é indispensável em vinhos de regiões frias onde a uva, por não atingir a maturação ideal, apresenta alta acidez. Porém, algumas bactérias lácticas podem causar aumento excessivo de ácido acético, bem como outros aromas desagradáveis, como metálico, terroso, amargo, entre outros (KRIEGER, 2005; MORENO-ARRIBAS; POLO 2005; PALACIOS, 2005).

Embora *Saccharomyces cerevisiae* seja principal microrganismo envolvido na fermentação alcoólica, a produção de vinho é um processo não estéril, sendo que muitas outras espécies de leveduras pertencentes a vários gêneros não-*Saccharomyces* ocorrem no mosto de uva (FLEET, 2008). Cada vez mais, se tem verificado que as estirpes de não-*Saccharomyces* contribuem positivamente para o processo de vinificação, pois possuem algumas características enológicas específicas ausentes em *S. cerevisiae* e que podem contribuir positivamente para aumento da complexidade e qualidade dos vinhos (JOLLY et al., 2003; VIANA et al., 2008; COMITINI et al., 2011; DOMIZIO et al., 2011).

Trabalhos realizados com *Issatchenkia orientalis*, isolada de videiras coreanas, mostrou a capacidade desta levedura de degradar ácido málico rapidamente em meio contendo ácido málico como única fonte de carbono e em co-inoculações com *S. cerevisiae* em mosto vínico (SEO et al., 2007; KIM et al., 2008). Várias estirpes de leveduras têm sido investigadas como uma alternativa para a degradação do ácido málico em vinhos, sendo a mais conhecida *Schizosaccharomyces pombe* (SNOW; GALLENDER, 1979; RODRIGUEZ; THORNTON, 1990). De um modo geral as leveduras capazes de reduzir a acidez málica realizam fermentações malto-alcoólicas (ácido málico para etanol), resultando assim numa redução mais aguda da acidez em vinhos (RODRIGUEZ; THORNTON, 1990; RODRIGUEZ; THORNTON, 1990; SEO et al., 2007). *Issatchenia terricola* é uma levedura que fermenta apenas glicose, pode assimilar glicose, etanol, glicerol e succinato (KURTZMAN e FELL, 1998) e é frequentemente encontrada em vinhedos da Serra Gaúcha (ROCHA et al., 2022). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi selecionar e avaliar isolados de *I. terricola* obtidos de uvas de distintas variedades de *V. vinifera* e *V. labrusca* da região serrana do Rio Grande do Sul, com potencial enológico para a degradação de ácido L-málico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Seleção de leveduras para a degradação de ácido L- málico

Vinte e uma leveduras do gênero *Issatchenkia* foram previamente isoladas de diferentes vinhedos da Serra Gaúcha (Brasil). Estes isolados foram selecionados quanto à tolerância a etanol, produção de gás sulfídrico, e crescimento e degradação de ácido L-málico. A tolerância ao etanol (0 a 16% v/v) foi avaliada pelo crescimento (48h – 28°C) em meio Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YEPD) suplementado com etanol (0 a 16% v/v) de etanol (ECHEVERRIGARAY et al., 2013).

A produção de gás sulfídrico foi avaliada em meio Bismuth Glycine Glucose Yeast Agar (Biggy Agar) após 48h de crescimento a 28°C (COMITINI, CIANI, 2006), e a capacidade de crescimento (48h – 28°C) em meio Yeast Nitrogen Base (YNB) com 1% de ácido málico como única fonte de carbono. A tolerância a etanol e a utilização de ácido málico foram determinadas por análise de absorbância de 600nm.

Os isolados com os melhores resultados em crescimento foram avaliados quanto à degradação de ácido L-málico com o Kit L-Malic Acid Assay Magazyme® em meio YNB contendo 10g.L<sup>-1</sup> de ácido málico como única fonte de carbono (72h- 28°C).

### Ensaio de fermentação em mosto sintético

O mosto sintético continha 240 g.L<sup>-1</sup> de Dextrose, 7 g.L<sup>-1</sup> de Ácido tartárico, 4 g.L<sup>-1</sup> de Ácido D,L – málico, 6 g.L<sup>-1</sup> de Ácido cítrico, 0,67 g.L<sup>-1</sup> de Sulfato de amônia, 0,5 g.L<sup>-1</sup> de Caseína hidrolisada, 0,67 g.L<sup>-1</sup> de Fosfato de potássio dibásico, 0,25 g.L<sup>-1</sup> de Sulfato de magnésio heptahidratado, 0,15 g.L<sup>-1</sup> de Cloreto de sódio, 0,15 g.L<sup>-1</sup> de Cloreto de cálcio, 0,21 g.L<sup>-1</sup> de Sulfato de ferro, 1 mL.L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes (1,5 mg.L<sup>-1</sup> de CuCl<sub>2</sub>; 7,5 mg.L<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub>; 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de KI; 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de Mo...; 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de CoCl<sub>2</sub>) e 0,5 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura. Utilizou-se a linhagem comercial de *Saccharomyces cerevisiae* (EC1118) e o isolado nativo de *Issatchenkia terricola* IP-3. Foram realizados quatro tratamentos inoculados com: (a) EC1118 (1 x 10<sup>7</sup> células. mL<sup>-1</sup>), (b) IP-3 (1 x 10<sup>7</sup> células. mL<sup>-1</sup>), (c) sequencial- IP-3 (5 x 10<sup>6</sup> células. mL<sup>-1</sup>) e EC1118 (5 x 10<sup>6</sup> células. mL<sup>-1</sup>) após 48h, e (d) co-inoculação de ambas as leveduras (5 x 10<sup>6</sup> células. mL<sup>-1</sup> de cada uma).

As fermentações foram acompanhadas pela avaliação do grau °Brix (através de densímetro digital). Para a análise de consumo de glicose foi realizada através do kit enzimático Glicose Bioliquid®, e a degradação de ácido L-málico através do kit enzimático L-Malic Acid Assay Magazyme®. Ao término da fermentação, foi realizada a determinação de etanol através de destilação (% v/v), o conteúdo de glicerol (kit enzimático Kit GPO-Trinder®). Os tratamentos e avaliações foram realizadas em triplicata.

### Ensaio de fermentação em mosto vínicó

A fim de autenticar o potencial para a degradação do ácido L-málico em vinhos,

realizou-se ensaio de microfermentação (5 litros) em mosto da variedade Chardonnay, ajustado para 3,22 g.L<sup>-1</sup> de ácido L-málico. Neste ensaio foram realizados dois tratamentos: (a) apenas com a levedura comercial EC1118 (1 x 10<sup>7</sup> células. mL<sup>-1</sup>) e (b) inoculação inicial com *I. terricola* (5 x 10<sup>6</sup> células. mL<sup>-1</sup>) seguida 48 h depois por inoculação com EC1118 (5 x 10<sup>6</sup> células. mL<sup>-1</sup>). As fermentações foram acompanhadas através de grau °Brix (utilizando um densímetro digital) e ao término das fermentações realizaram-se as análises básicas: teor alcoólico (% v/v), acidez total (meq.L<sup>-1</sup>) e acidez volátil bruta (meq.L<sup>-1</sup>) pelas normas da International Organization of Vine and Wine (2006), açúcares redutores (g.L<sup>-1</sup>) através do método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) descrito por Miller (1959) e o conteúdo de ácido L-Málico (g.L<sup>-1</sup>) através do kit enzimático L-Malic Acid Assay Magazyme®.

### Análises estatísticas

As análises estatísticas incluíram análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey, realizadas com o auxílio do programa computacional IBM SPSS Statistics 20.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As leveduras isoladas foram submetidas inicialmente a um teste de tolerância a etanol, onde os isolados IO-7, BC-4 e IP-3 se destacaram por obterem um maior crescimento em uma concentração de 6% de etanol. Nenhum isolado obteve crescimento em maiores concentrações de etanol, salvo a levedura *S. cerevisiae* EC1118. Da mesma forma, os isolados de *I. terricola* exibiram alta sensibilidade ao sulfito, sendo incapazes de crescer em concentrações superiores a 40 mg.L<sup>-1</sup> de sulfito total. Quanto à produção de gás sulfídrico, todos os isolados de *I. terricola* exibiram produção de gás sulfídrico maior do que *S. cerevisiae* EC1118. Além disso, todos os isolados cresceram em meio contendo glicose e no meio contendo ácido málico como única fonte de carbono.

As leveduras da espécie *I. terricola* são particularmente prevalentes em uvas viníferas (*V. vinífera*) e comuns (*V. labrusca*) cultivadas na serra do nordeste do Rio Grande do Sul, conhecida como Serra Gaúcha (ROCHA *et al.*, 2022). Estas leveduras se caracterizam por apresentar um espectro muito limitado de fermentação (apenas glicose) e assimilação de fontes de carbono (glicose, etanol, glicerol e succinato), células ovóides a alongadas, simples ou em pares (KURTZMAN e FELL, 1998). Dados recentes mostram que mesmo isolados selecionados de *I. terricola* apresentam baixa tolerância ao etanol e ao sulfito e devem ser utilizados em co-fermentações ou fermentações sequenciais para a obtenção de vinhos (WEN *et al.*, 2019).

Com base no primeiro conjunto de resultados, quatro isolados NRU2, IO7, IP3 e IC4 foram avaliados quanto à degradação de ácido L-málico. Neste ensaio todos os isolados de *I. terricola* degradaram entre 55 e 76 % de ácido L-málico, taxa significativamente

maior do que a linhagem EC1118 de *S. cerevisiae*. Entre os isolados de *I. terricola*, IP-3 apresentou média de degradação significativamente superior aos outros isolados (Figura 1). Wen et al. (2011) mostraram que um isolado de *Issatchenkia terricola* foi capaz de degradar aproximadamente 90% do ácido L-málico e do ácido cítrico.

Com base nos resultados de degradação de ácido málico e algumas características enológicas foi selecionado o isolado IP-3 para os ensaios fermentativos. Inicialmente foram realizadas fermentações em mosto sintético. Quatro tratamentos foram incluídos: (a) EC1118, (b) IP-3, (c) sequencial- IP-3 + EC1118, e (d) co-inoculação IP-3/EC. As fermentações foram acompanhadas pela avaliação de sólidos solúveis totais (°Brix) (Figura 2.A) sendo observada uma diminuição dos sólidos solúveis totais ao longo do tempo atingindo valor zero após 15 dias na fermentação com a levedura *S. cerevisiae* (EC1118) e co-fermentação (IP-3/EC). Já o tratamento com inoculação sequencial IP-3 + EC (após 48h) apresentou um retardo na fermentação finalizando o processo após 22 dias. Fermentação inoculadas com apenas *I. terricola* (IP-3) mostraram redução de apenas 8.6 °Brix em 26 dias, resultados são esperados considerando a baixa tolerância ao etanol de *I. terricola* (<8% v/v) evidenciada em linhagens como H5 e objeto de melhoramento (GAO et al., 2022). Já fermentações sequenciais ou co-fermentações envolvendo *I. terricola* e *S. cerevisiae* atingem teores alcoólicos elevados e originam vinhos com concentrações interessantes de compostos voláteis (WEN et al., 2019).

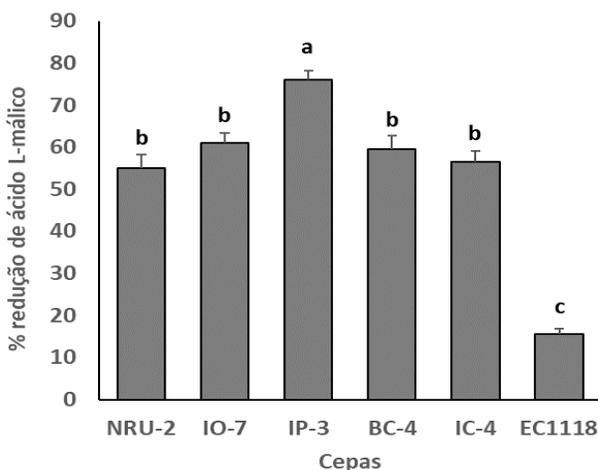


Figura 1. Degradação de ácido L-málico em meio mínimo contendo 10 g/L de ácido L-málico

Como pode ser observado nos gráficos da Figura 2.B, as fermentações com *I. terricola* (IP-3) exibiram redução de 100% do ácido L-málico em 10 dias, enquanto as fermentações co-inoculadas e com inoculação sequencial exibiram 80% de redução no mesmo período. Já a controle (*S. cerevisiae* EC1118) levou a uma redução de apenas 5%

no final do 26 dias de fermentação (Figura 2.B). Estes resultados são comparáveis com aqueles obtidos por Wen et al. (2011).

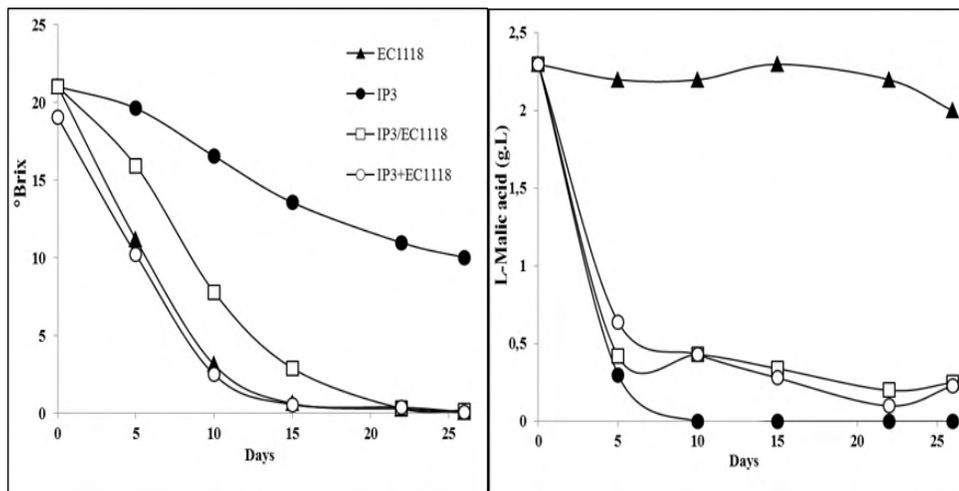


Figura 2. Quantidade de sólidos solúveis (A) e degradação de ácido L-málico (B) durante o processo de fermentação de mosto sintético com 2,4g.L<sup>-1</sup> de ácido L-málico inoculado com: (▲)EC1118, (●) IP-3, (□) IP-3 seguida de EC1118 após 48 horas (IP3/EC1118), e (○) Co-inoculação com IP-3 + EC1118.

As análises de glicose, glicerol e etanol (Tabela 1) revelaram que o mosto inicial continha 202 g.L<sup>-1</sup> de glicose, que os tratamentos incluindo *S. cerevisiae* consumiram praticamente o açúcar presente no mosto, com concentrações de açúcar residual inferiores a 1%. Por outro lado, as fermentações com apenas com *I. terricola* mostraram 100,04 g.L<sup>-1</sup> de açúcar residual.

Fermentações com *S. cerevisiae* atingiram teores alcoólicos de 11,75 a 12,58 % (v/v), enquanto aquelas com apenas *I. terricola* chegaram a 4,73 % (v/v). Neste sentido cabe ressaltar que, de um modo geral, espécies de leveduras não-*Saccharomyces* não são capazes de completar a fermentação vínica, sendo necessária coinoculação ou inoculação sequencial com *S. cerevisiae* (SODEN et al., 2000; CIANI et al., 2006), já que *Saccharomyces*, especialmente cepas enológicas, é capaz de atingir concentrações alcoólicas superiores a 12% (BAUER; PRETORIUS, 2000; FLEET, 2008).

O isolado IP-3 apresentou alta produção de glicerol em relação ao etanol (22,60%) em comparação com *Saccharomyces* (11,90%), entretanto quando utilizada em co-fermentação ou em fermentações sequenciais esta relação diminuí drasticamente não diferindo das fermentações com EC1118 (Tabela 1). O glicerol é um componente do vinho relacionada com o metabolismo de leveduras, que contribui para a doçura, viscosidade e suavidade de vinho (GARDNER et al., 1993; CIANI; FERRARO, 1996). No que se referem à relação glicerol/etanol, segundo Ribéreau-Gayon et al., (2006), vinhos contêm cerca de

8 g de glicerol por 100 g de etanol. Durante a fermentação dos mostos de uvas, 8% das moléculas de açúcar são submetidas à fermentação gliceropiruvica e 92% submetidas à fermentação alcoólica.

	EC-1118	IP-3	IP-3/EC1118	IP-3 + EC1118
Etanol (% v/v)	11,75 ± 0,20 <sup>AB</sup>	4,73 ± 0,14 <sup>C</sup>	12,58 ± 0,52 <sup>A</sup>	11,25 ± 0,25 <sup>B</sup>
Glicerol (g.L <sup>-1</sup> )	11,27 ± 0,86 <sup>A</sup>	8,50 ± 0,2 <sup>C</sup>	11,11 ± 0,32 <sup>AB</sup>	9,94 ± 0,14 <sup>B</sup>
Glicerol/Etanol (% p/p)	11,90 ± 0,57 <sup>B</sup>	22,60 ± 0,16 <sup>A</sup>	10,99 ± 0,38 <sup>B</sup>	11,01 ± 0,20 <sup>B</sup>
Glicose residual (g.L <sup>-1</sup> )	0,80 ± 0,18 <sup>B</sup>	100,04 ± 3,16 <sup>A</sup>	0,50 ± 0,27 <sup>B</sup>	0,50 ± 0,09 <sup>B</sup>

\* Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 1. Quantidade de etanol, glicerol, açúcar residual e relação glicerol/etanol em fermentação com mosto sintético.

O acompanhamento do crescimento populacional mostrou que o maior número de células de levedura foi atingido aos 5 dias de fermentação tanto no tratamento controle (EC1118) quanto no co-inoculado. Por outro lado, o tratamento com *Issatchenka* teve o número máximo de leveduras apenas no décimo dia. Em todas as fermentações a quantidade máxima de leveduras variou entre 3 e 6 x 10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Estes resultados mostram que *I. terricola* apresenta baixa taxa de divisão celular em sistema fermentativo, fato que deve ser levado em consideração no desenvolvimento de processos de co-fermentação ou de fermentações sequenciais.

Na sequência foram realizados experimentos de fermentação em mosto da variedade Chardonnay ajustado para 3,22 g.L<sup>-1</sup> de ácido L-málico. Como pode ser observado na Tabela 2, o mosto inicial continha 180,0 g.L<sup>-1</sup> de açúcares redutores caindo para 3,37 e 3,60 g.L<sup>-1</sup> nos tratamentos com IP-3/EC1118 e EC1118, respectivamente, ao término da fermentação (10 dias). Estes valores de açúcar residual permitem considerar os vinhos como secos (<4%) pela legislação brasileira.

Os teores de etanol foram de 9,0 a 9,2%, correspondendo a um rendimento da ordem de >94%. Elevado rendimento indica baixa interferência de *I. terricola* sobre a capacidade fermentativa de *S. cerevisiae*. Segundo Fleet (1993) a espécie *S. cerevisiae*, é considerada como sendo a responsável pela finalização da fermentação, consumindo praticamente todo o açúcar do mosto.

	EC1118	IP3/EC*	Mosto
Etanol (% v/v)	9,00 <sup>A</sup>	9,20 <sup>A</sup>	-
Acidez total (meq.L <sup>-1</sup> )	110,00 <sup>A</sup>	104,00 <sup>B</sup>	116,00 <sup>A</sup>
Acidez volátil (meq.L <sup>-1</sup> )	10,00 <sup>A</sup>	11,00 <sup>A</sup>	2,00 <sup>B</sup>
Açúcar residual (g.L <sup>-1</sup> )	3,60 <sup>B</sup>	3,37 <sup>B</sup>	186,00 <sup>A</sup>
Ácido málico (g.L <sup>-1</sup> )	2,99 <sup>A</sup>	1,04 <sup>B</sup>	3,22 <sup>A</sup>
Degradação de ácido málico (%)	10,25 <sup>B</sup>	67,70 <sup>A</sup>	-

\* Inoculação sequencial IP3 e EC1118. \*\* Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Quantidade de álcool, acidez total, acidez volátil bruta, açúcar residual, ácido L-málico e percentagem de degradação de ácido L-málico ao término da fermentação em mosto vínico.

Como esperado, houve um aumento da acidez volátil de 2 meq.L<sup>-1</sup> no mosto, para 10 e 11 meq.L<sup>-1</sup> nas fermentações com EC1118 e IP-3/EC1118, respectivamente. Porém, apesar da acidez volátil representar um defeito em vinhos (GIL et al., 1996), as concentrações observadas são muito menores do que o limiar de percepção do ácido acético em vinhos (PRETORIUS, 2000).

Já no que se refere a acidez total, as fermentação com EC1118 e com IP-3/EC1118 apresentaram redução de 6 e 12 meq.L<sup>-1</sup> em relação ao mosto inicial (116 meq.L<sup>-1</sup>). O uso de leveduras não-*Saccharomyces* em co-inoculação com *Saccharomyces* tendem a aumentar a acidez total do vinho (KAPSOPOULOU et al., 2007).

O conteúdo de ácido L-málico no mosto inicial (3,22 g.L<sup>-1</sup>) decaiu significativamente nas fermentações sequenciais IP-3/EC1118, atingindo 67,70% de redução, enquanto nas fermentações com EC1118 o decréscimo de ácido málico foi de apenas 7,14%.

## CONCLUSÃO

De um modo geral os resultados obtidos mostram que a levedura *Issatchenkia terricola* selecionada IP-3, utilizada em co-fermentações, inoculações seriadas e em processo fermentativo individual em mosto sintético e mosto vínico é capaz de reduzir significativamente os níveis de ácido L- málico. Estes dados confirmam a capacidade de degradação este composto, mesmo em fermentações vnicas. Por outro lado, *I. terricola*, em fermentações sequenciais com *S. cerevisiae*, não interfere de forma evidente em outros parâmetros físico-químicos básicos do vinho, indicando seu potencial para utilização em fermentações vnicas visando a redução da acidez málica. Entanto, há necessidade de mais informações em relação ao seu comportamento fermentativo e sua contribuição nas características organolépticas do produto final.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq), pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, código financeiro 001) e pela Universidade de Caxias do Sul (UCS).

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, H., COSTELLO, P. J., REMIZE, F., GUZZO, J., GUILLOUX-BENATIER, M. *Saccharomyces cerevisiae*–*Oenococcus oeni* interactions in wine: current knowledge and perspectives. **International Journal of Food Microbiology**, v. 93, p. 141-154, 2004.
- BAUER F.F., PRETORIUS I.S. Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making of wine—a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 21, p. 27–51, 2000.
- CIANI M., BECO L., COMITINI F. Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, p. 239–245, 2006.
- CIANI, M., FERRARO, L. Enhanced glycerol content in wines made with immobilized *Candida stellata* cells. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 128–132, 1996.
- COMITINI, F., CIANI, M. Survival of inoculated *Saccharomyces cerevisiae* strain on wine grapes during two vintages. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p. 248–253, 2006.
- COMITINI, F., GOBBI, M., DOMIZIO, P., ROMANI, C., LENCIONI, L., MANNAZZU, I., CIANI, M. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Microbiology**, v. 28, p. 873-882, 2011.
- DELCOURT F., TAILLANDIER P., VIDAL F., STREHAIANO P. Influence of pH, malic acid and glucose concentrations on malic acid consumption by *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 321–324, 1995.
- DOMIZIO, P., ROMANI, C., LENCIONI, L., COMITINI, F., GOBBI, M., MANNAZZU, I., CIANI, M. Outlining a future for non-*Saccharomyces* yeasts: Selection of putative spoilage wine strains to be used in association with *Saccharomyces cerevisiae* for grape juice fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 147, p. 170-180, 2011.
- ECHVERRIGARAY, S., RANDON, M., DA SILVA, K., ZACARIA, J., DELAMARE, A. P. L. Identification and characterization of non-*Saccharomyces* spoilage yeasts isolated from Brazilian wines. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, p. 1019-1027, 2013.
- FLEET, G.H. The microorganisms of winemaking— isolation enumeration and identification, *In*: FLEET, G.H. Wine microbiology and biotechnology. Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers, 1993, p. 510.
- FLEET, G.H. Wine yeasts for the future. **FEMS Yeast Research**, v. 8, p. 979-995, 2008.

GARDNER, N., RODRIGUEZ, N., CHAMPAGNE, C.P. Combined effects of sulfites, temperature and agitation time on production of glycerol in grape juice by *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 2022–2028, 1993.

GIL, J.V., MATEO, J.J., JIMENEZ, M., PARTOR, A., HUERTA, T. Aroma compounds in wines as influenced by apiculate yeasts. **Journal of Food Science**, v. 61, p. 1247-1249, 1996.

HEARD, G.M. **Occurrence and growth of yeasts during the fermentation of Australian wines**. 1988. PhD Thesis, University of New South Wales, USA, 1988.

JOLLY, N.P.; AUGUSTYN, O.H.P.; PRETORIUS, I.S. The effect of non-*Saccharomyces* yeasts on fermentation and wine quality. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 24, p. 55–62, 2003.

KAPSOPOULOU, K., MOURTZINI, A., ANTHOULAS, M., NERANTZIS, E. Biological acidification during grape must fermentation using mixed cultures of *Kluyveromyces thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 735-739, 2007.

KIM, D. H., HONG, Y. A., PARK, H. D. Co-fermentation of grape must by *Issatchenkia orientalis* and *Saccharomyces cerevisiae* reduces the malic acid content in wine. **Biotechnology Letters**, v. 30, p. 1633-1638, 2008.

KRIEGER, S. The history of malolactic bacteria in wine. *In*: MORENZONI, R., SPELCHT, K.S. **Malolactic fermentation in wine: understanding the Science of Malolactic Fermentation in Wine**, Canada: Lallemand Inc., 2005. p. 170.

KURTZMAN, C.P. *Issatchenkia*. *In*: KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. **The Yeasts: a taxonomic study**. Netherlands: Elsevier, 1998, p. 221-226.

LONVAUD-FUNEL, A. Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. *In*: SIEZEN R.J., KOK, J., ABEE, T., SCHASFMSA, G. **Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications**. Netherlands: Springer, 1999.

MILLER, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426, 1959.

MORENO-ARRIBAS, M. V., POLO, M. C. **Wine chemistry and biochemistry**. Vol. 735. New York, USA: Springer, 2009.

MORENO-ARRIBAS, M.V., POLO, M.C. Winemaking biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 265-286, 2005.

NOBLE, A.C., BURSICK, G.F. The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 35, p. 110-112, 1984.

PALACIOS, A. Understanding the Science of Malolactic Fermentation in Wine. *In*: MORENZONI, R., SPELCHT, K.S. **Malolactic fermentation in wine**, Canada, Lallemand Inc., 2005. p. 170.

PRETORIUS I.S. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v. 16, p. 675–729, 2000.

RIBEREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUD, A. Biochemistry of Alcoholic Fermentation and Metabolic Pathways of Wine Yeasts. *In*: RIBEREAU-GAYON, P. et al. Handbook of Enology: the microbiology of wine and vinifications. Chinchester, UK: John Wiley & Sons Ltd, 2006. p. 497.

ROCHA, R.K.M.; ANDRIOLI, J.; SCARIOT, F.J.; SCHWARZ, L.V.; DELAMARE, A.P.L.; ECHEVERRIGARAY, S. Yeast diversity in Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes grown in the highlands of Southern Brazil. *Oeno One*, v. 56, n. 2, p. 101-110.

RODRIGUEZ, S.B., THORNTON, R.J. (1990). Factors influencing the utilization of L-malate by yeasts. **FEMS Microbiology Letters**, v.72, p. 17-22, 1990.

SAAYMAN, M., VILJOEN-BLOOM, M. The biochemistry of malic acid metabolism by wine yeasts—a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 27, p. 113-122, 2006.

SEO, S. H., RHEE, C. H., PARK, H. D. Degradation of malic acid by *Issatchenkia orientalis* KMBL 5774, an acidophilic yeast strain isolated from Korean grape wine pomace. **Journal of Microbiology**, v. 45, p. 521-527, 2007.

SNOW, P.G., GALLANDER, J.F. Deacidification of white table wines through partial fermentation with *Schizosaccharomyces pombe*. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.30, p. 45-48, 1979.

SODEN A., FRANCIS I.L., OAKEY H., HENSCHKE P.A. Effects of cofermentation with *Candida stellata* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and composition of Chardonnay wine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 6, p. 21–30, 2000.

VIANA, F., GIL, J., GENOVÉS, S., VALLÉS, S., MANZANARES, P. Rational selection of non-*Saccharomyces* wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits. **Food Microbiology**, v. 25, p. 778-785, 2008.

VOLSCHENK H., VILJOEN-BLOOM M., SUBDEN R.E., VAN VUUREN, H.J.J. Malo-ethanolic fermentation in grape must by recombinant strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v. 18, p. 963–970, 2001.

WEN, L.K., WANG, L.F., WANG, G.Z. Degradation of L-malic and citric acids by *Issatchenkia terricola*. **Food Science**, v. 32, p. 220-223, 2011.

WEN, K.S., WANG, J., CHEN, F.S., ZHANG, X.Y. Effect of *Issatchenkia terricola* and *Pichia kudriavzevii* on wine flavor and quality through simultaneous and sequential co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. **LWT: Food Science and Technology**, v. 116, 108477, 2019.

# CAPÍTULO 4

## CONTRIBUIÇÃO DE *Torulaspora delbrueckii* NAS CARACTERÍSTICAS DE VINHO DA VARIEDADE BRS-LORENA

Data de aceite: 01/09/2022

Data de submissão: 25/07/2022

### Daniel Moacir Grison

Agronomia, Universidade de Caxias do Sul,  
Campus Nova Prata  
Nova Prata - RS

### Fernanda Knaach Sandri

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/2945650765506736>

### Luisa Vivian Schwarz

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/917636177060133>

### Bruno Cisilotto

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
Instituto Federal de Educação, Ciência e  
Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS)  
Bento Gonçalves – RS  
<http://lattes.cnpq.br/0721930436427293>

### Ronaldo Kauê Mattos Rocha

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/3343113227318667>

### Sergio Echeverrigaray

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/5630031784004533>

### Ana Paula Longaray Delamare

Laboratório de Enologia e Microbiologia  
Aplicada, Instituto de Biotecnologia,  
Universidade de Caxias do Sul  
Caxias do Sul – RS  
<http://lattes.cnpq.br/2612829295648932>

**RESUMO:** O uso generalizado de cepas comerciais de *Saccharomyces cerevisiae* na produção de vinhos tem garantido o controle do processo fermentativo, levando à produção de vinhos mais uniformes, porém com menor complexidade organoléptica. Visando a solução deste problema tem sido proposto o uso de leveduras não-*Saccharomyces* e suas misturas com *S. cerevisiae*. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de uma cepa de *Torulaspora delbrueckii* nativa selecionada (BTI5), sobre as características físico-químicas e organolépticas de vinhos da variedade BRS-Lorena. Foram realizadas fermentações com: (1) BTI - *T. delbrueckii*, (2) EC1118 - *S. cerevisiae* e (3) EC+BTI co-inoculação de EC1118 e BTI5, utilizando mosto original, mosto pasteurizado e mosto sulfitado. As fermentações foram acompanhadas por desprendimento de gás carbônico e os vinhos obtidos de mosto original foram analisados quanto a parâmetros físico-químicos e características organolépticas. Os

resultados mostraram que as fermentações de mosto original de BRS Lorena acabaram em sete dias (EC), 13 dias (EC+BTI) e 16 dias (BTI) atingindo teores alcoólicos de 10,6 a 8,4% (v/v). Porém em mosto pasteurizado a cepa BTI5 atingiu apenas 5,3% (v/v), indicando no mosto original houve importante contribuição de *S. cerevisiae* nativas. Os vinhos produzidos através de co-fermentação (EC+BTI) apresentaram valores intermediários para a maior parte dos parâmetros físico-químicos avaliados. Em termos organolépticos, os vinhos obtidos por co-inoculação (EC+BTI) exibiram maior intensidade de aroma (florais e frutados) e maior persistência, qualidade e estrutura de gosto. Em geral, os dados mostram bom potencial enológico de *T. delbrueckii* BTI5, especialmente em co-fermentações com *S. cerevisiae*, para o aumento da qualidade organoléptica de vinhos da variedade BRS-Lorena.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leveduras não convencionais, fermentação vínica, análises básicas, características sensoriais.

## CONTRIBUTION OF *Torulaspota delbrueckii* TO THE WINE CHARACTERISTICS OF THE BRS-LORENA VARIETY

**ABSTRACT:** The widespread use of commercial strains of *Saccharomyces cerevisiae* in wine production has ensured control of the fermentation process but has led to the production of more uniform wines with less organoleptic complexity. To solve this problem, the use of non-*Saccharomyces* yeasts and their mixtures with *S. cerevisiae* has been proposed. In this context, the present work aimed to evaluate the effect of a selected native strain of *Torulaspota delbrueckii* (BTI5) on the physicochemical and organoleptic characteristics of BRS-Lorena wines. For that, fermentations were carried out with: (1) BTI - *T. delbrueckii*, (2) EC1118 - *S. cerevisiae* and (3) EC+BTI co-inoculation of EC1118 and BTI5, using original must, pasteurized must and sulfited must. The fermentations were accompanied by the evolution of carbon dioxide and the wines obtained from the original must were analyzed for physical-chemical parameters and organoleptic characteristics. The results showed that the fermentations of the original BRS Lorena must finished with seven days (EC), 13 days (EC+BTI) and 16 days (BTI) reaching alcoholic levels of 10.6 to 8.4% (v/v). However, in pasteurized must the BTI5 strain reached only 5.3% (v/v), indicating in the original must there was an important contribution of native *S. cerevisiae*. As expected, wines produced through co-fermentation (EC+BTI) showed intermediate values for most of the physicochemical parameters evaluated. In organoleptic terms, the wines obtained by co-inoculation (EC+BTI) exhibited greater intensity of aroma (floral and fruity) and greater persistence, quality, and taste structure. In general, the data show good oenological potential of *T. delbrueckii* BTI5, especially in co-fermentations with *S. cerevisiae*, to increase the organoleptic quality of BRS-Lorena wines.

**KEYWORDS:** Non-conventional yeasts, wine fermentation, basic analysis, sensory characteristics.

## INTRODUÇÃO

Com um importante componente histórico associado à imigração italiana, a vitivinicultura foi se consolidando ao longo dos anos como uma das mais importantes atividades econômicas da Serra Gaúcha. Entretanto, a abertura do mercado internacional e a consequente entrada de vinhos finos, principalmente do Mercosul, colocaram em xeque a

produção local. Grande esforço por parte dos produtores, entidades e centros de pesquisa tem aumentado a competitividade da vitivinicultura brasileira, especialmente para vinhos finos, mas esta ainda enfrenta importantes desafios. Entre as grandes vitórias competitivas destaca-se a produção e comercialização crescente de espumantes e moscatéis brasileiros, os quais ao longo da última década tem apresentado constante aumento de qualidade, produção e demanda (BURGOS; MASCELLEROSA, 2013; MELO; MACHADO, 2020).

As espécies cultivadas no Estado são *Vitis vinifera*, *Vitis labrusca* e alguns híbridos inter-específicos. Os vinhos produzidos a partir das variedades *V. vinifera* são conhecidos como vinhos finos, sendo as variedades Cabernet Sauvignon, Merlot, Chardonnay, Sauvignon Blanc, Moscato Branco e Tannat as mais utilizadas. As variedades Yves (Bordô) e Isabel são, por sua vez, as principais variedades de *Vitis labrusca* e híbridas empregadas na elaboração de vinhos tintos, enquanto Niagara e Lorena são empregadas na produção de brancos comuns. Cabe ressaltar que os vinhos finos representam 21% (37,6 mil litros em 2019), enquanto que os vinhos comuns, produzidos a partir de variedades de *V. labrusca* e híbridos, contribuem com 79% (144,6 mil litros em 2019) da produção vinícola brasileira (MELO; MACHADO, 2020).

A variedade BRS-Lorena foi obtida através do cruzamento de Malvasia Bianca e Seyval. Se caracteriza como uma variedade de vigor médio, alta fertilidade e elevado potencial produtivo, chegando a 25 - 30 T/ha. As uvas atingem de 20 a 22 °Brix, com acidez total de 100 a 110 meq/L. Os vinhos produzidos são aromáticos, com notas de flores brancas. O sabor é complexo e equilibrado, com fundo levemente amargo, e o retrogosto é delicado e persistente (CAMARGO; GUERRA, 2001). Com importante resistência a doenças esta variedade é plantada desde o Rio Grande do Sul até o Nordeste (CAMARGO, 2009). Em 2015, pouco mais de uma década do seu lançamento, a BRS-Lorena já apresentava uma área plantada era de 402,9 ha, com uma produção de 9.806,56 toneladas (MELO; MACHADO, 2017).

O aroma dos vinhos é classificado de acordo com a fonte dos distintos compostos que contribuem para o mesmo. Assim os aromas são divididos em: (1) aromas varietais (compostos aromáticos oriundos das uvas), (2) aromas pré-fermentativos (compostos formados durante as operações de extração e condicionamento dos mostos), (3) aromas fermentativos (compostos produzidos por leveduras e bactérias durante a fermentação alcoólica e maloláctica) e (4) aromas pós-fermentativos (compostos que surgem durante o envelhecimento através de ações enzimáticas ou físico-químicas em madeira ou garrafa). Além dos obviamente conhecidos etanol e glicerol, um amplo conjunto de compostos secundários e oriundos da biotransformação de precursores presentes nos mostos levam a aquele conhecido como “bouquet fermentativo” (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

O “bouquet fermentativo” é influenciado pela cepa ou cepas de leveduras envolvidas e o processo fermentativo empregado (RIBEREAU-GAYON et al., 2006; DUBORDIEU et al., 2006). As dificuldades inerentes ao uso de populações de leveduras autóctones na

produção industrial, especialmente a elevada variabilidade entre safras, levou a partir de meados do século XX à inoculação de leveduras comerciais *Saccharomyces* selecionadas (RIBEREAU-GAYON et al., 2006).

Por outro lado, esta prática determinou uma maior uniformização dos produtos vínicos, que perderam as suas características regionais associadas as populações microbianas participantes da fermentação, mantendo apenas as diferenças decorrentes das características edafoclimáticas e práticas culturais. Assim, nas últimas décadas tem surgido especial interesse na obtenção e seleção de cepas de leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces*, capazes de imprimir características organolépticas especiais e aumentar a complexidade aromática de vinhos.

As propriedades enológicas de isolados de espécies não-*Saccharomyces* têm sido estudadas resultando em alguns casos em produtos de alta qualidade (JOLLY et al., 2006; LAMBRECHTS; PRETORIUS 2000), como aqueles derivados de fermentações com *Torulaspora delbrueckii* (RENAULT et al., 2009). *T. delbrueckii* contribui na qualidade do vinho produzindo baixas concentrações de ácido acético, altas concentrações de glicerol, aumento da quantidade de manoproteínas e polissacarídeos, diminuição de compostos indesejáveis (álcoois superiores, etc) e aumento de compostos aromáticos interessantes com aromas frutais e florais como ésteres, lactonas, tióis, terpenos, entre outros (BENITO 2018; MARCON et al., 2019).

Se por um lado *T. delbrueckii* é considerada a espécie não-*Saccharomyces* mais promissora na produção de vinhos e outros fermentados, a sua utilização industrial é ainda complexa. Sua sensibilidade a sulfito, sua tolerância limitada a etanol, e a grande variação existente entre as distintas cepas ou isolados avaliados impedem uma utilização clara e reproduzível o que determina problemas tecnológicos evidentes (RAMIREZ; VELÁZQUEZ, 2018). Com tolerância ao etanol da ordem de 6 a 8% (v/v) o uso de *T. delbrueckii* requer cofermentação ou fermentação sequencial com *S. cerevisiae*, uma prática que implica em interações levedura/levedura e disputa por nutrientes entre as populações (RAMIREZ ; VELÁZQUEZ, 2018).

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o comportamento fermentativo de *T. delbrueckii*, *S. cerevisiae* e co-inoculação com estas duas leveduras em mostos da variedade BRS Lorena, assim como as características físico-químicas e organoléptica dos vinhos produzidos, visando determinar o potencial de *T. delbrueckii* na tipicidade dos vinhos desta variedade híbrida aromática.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparação do mosto

O mosto original foi produzido a partir de 25 kg de uva BRS-Lorena coletadas em

Caravaggio, Vila Flores, RS, em 2 de fevereiro de 2022. O mosto foi obtido por prensa, originando 17 litros que foi clarificado sem adição de SO<sub>2</sub> e mantido em câmara fria por 1 dia.

### Fermentações vínicas

As fermentações foram realizadas em frascos Duran de 1000 mL contendo 900 mL de mosto. As leveduras utilizadas nos experimentos foram: *T. delbrueckii* BT15 (isolado nativo) e *S. cerevisiae* EC1118 (Lallemand). Os tratamentos foram: 1- inoculação com BT15 (10<sup>6</sup> células/ml), 2- inoculação com EC1118 (10<sup>6</sup> células/ml), e 3- co-inoculação BT15 (10<sup>6</sup> células/ml) e EC1118 (10<sup>3</sup> células/ml). O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado com 3 tratamentos versus 4 repetições.

As fermentações foram acompanhadas pelo desprendimento de CO<sub>2</sub> através de pesagens diárias. O produto final foi avaliado quanto a análises básicas e organolélicas.

Além destes, foi realizado um experimento com mosto Lorena pasteurizado a 80°C por 30 minutos e um com mosto de BRS Lorena adicionado de 60 mg/L de metabissulfito de potássio. Estes experimentos foram inoculados da mesma forma que o primeiro, e as fermentações acompanhadas por desprendimento de CO<sub>2</sub>.

### Determinação de leveduras no mosto e no final de fermentação natural

O número de leveduras presentes no mosto original e no final da fermentação natural de BRS Lorena foram determinados através de plaqueamento de diluições seriadas de base 10 em meio WLN, com três placas por diluição. As placas foram mantidas a 28°C por 96 h. O número de leveduras totais, assim como de leveduras apículas, leveduras não-*Saccharomyces* e *Saccharomyces* foi determinado pela contagem do número de colônias totais e típicas de cada grupo (cor, tamanho, superfície, elevação) e expresso em unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL).

### Análises físico-químicas

As análises do mosto original e dos vinhos obtidos a partir dele foram realizadas de acordo com as metodologias preconizadas pela OIV (Organização Internacional da Vinha e do Vinho) e do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento).

#### a) Açúcares redutores

A análise de açúcares redutores foi feita em microplacas com 96 poços em triplicata com 40 µl de água destilada, 10 µl de amostras, 50 µl DNS, diluídos em 1/5. Foi realizado uma curva padrão com solução de glicose (2g/L), as concentrações variaram entre 0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 2.0 (g/L), as microplacas foram levadas a um banho seco a 96°C por 15 minutos. Após foi retirado 90 µl de cada concentração e repassada para outra microplaca com 90 µl de água destilada. A leitura de absorvância foi realizada a 595nm em espectrofotometro

Libra S12 (Biochrom). Os dados foram apresentados em g/L de açúcares redutores.

#### *b) Acidez total*

Para a análise de acidez total foi usado um Erlenmeyer de 250mL com 100mL de água destilada, 5 mL de amostras de mosto sintético, 4 gotas de fenolftaleína 1%. Foi realizada titulação com hidróxido de sódio a 0,1N até o aparecimento da coloração rosa indicando um pH básico e anotado o volume gasto (mL). Para calcular a acidez total foi usado a fórmula:

$$\text{acidez total}(\text{meq L}^{-1}) = \frac{n \times N \times 1000}{V}$$

onde:

n = mililitros de hidróxido de sódio gastos na titulação

N = normalidade do hidróxido de sódio

V = volume de amostra utilizado em mL.

Os dados de acidez total foram apresentados como miliequivalentes de ácido tartárico por litro (meq/L).

#### *c) Densidade relativa*

A densidade relativa foi determinada com densímetro digital Densito 30PX (Mettler-Toledo).

#### *d) Teor de álcool*

O conteúdo de álcool foi determinado através de destilação, seguida de avaliação da densidade a 20°C com densímetro Densito 30PX (Mettler-Toledo). Os dados foram apresentados em percentagem de álcool por volume (v/v)

#### *e) Conteúdo de Glicerol*

O conteúdo de glicerol foi determinado utilizando o Glycerol Assay Kit (Megazyme) de acordo com as instruções do fabricante. Os dados foram apresentados em mg de glicerol por litro (mg/L).

#### *d) Cor*

A cor do mosto e dos vinhos foi determinada através de leitura espectrofotométrica a 420nm em espectrofotômetro Libra S12 (Biochrom), e os dados apresentados como absorbância.

### **Análises organolépticas**

As análises organolépticas foram realizadas por um painel de 12 degustadores. Para

a avaliação foi empregada uma ficha descritiva/quantitativa (1 a 10) para características de cor (tonalidade e brilho), aroma (intensidade, complexidade, qualidade, frutado, floral, cítrico e defeitos) e sabor (acidez, salgado, estrutura, untuosidade, alcoolicidade, equilíbrio, qualidade e persistência). As amostras foram apresentadas em taças ISO com codificação aleatória. A metodologia empregada seguiu as recomendações da Organização Internacional de Vinha e do Vinho (OIV).

### **Análises estatísticas**

De acordo com a natureza dos experimentos e dos dados, os mesmos foram avaliados através de análise de variância com comparação de médias pelo teste de Tukey, análises multivariadas de componentes principais, ou análises não paramétricas. Em todos os casos foram utilizados os programas SPSS (versão atual) e/ou Statistics.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Como pode ser apreciado na Figura 1, as fermentações de mosto original de BRS Lorena (não pasteurizado ou sulfitado) inoculadas com EC1118 atingiram a fase estacionária com sete dias, enquanto a mistura EC+BTI demorou 13 dias, e BTI não completou a fermentação após 16 dias. O comportamento de *S. cerevisiae* EC1118 é compatível com uma fermentação com inóculo normal ( $1$  a  $3 \times 10^6$  células/ml) num mosto com 20,2° Brix. Da mesma forma, as fermentações da mistura EC+BTI apresentaram um perfil mais lento esperado, considerando a menor taxa fermentativa de *T. delbrueckii* e a progressiva participação de *S. cerevisiae* no processo. Por outro lado, as fermentações conduzidas apenas com BTI exibiram um comportamento distinto daquele esperado para leveduras *T. delbrueckii*, atingindo teores alcoólicos teóricos, com base no desprendimento de gás carbônico, muito elevados em relação àqueles obtidos com esta espécie de levedura (RAMIREZ; VELÁZQUEZ, 2018). Esta discrepância pode ser atribuída à participação de leveduras nativas com elevada tolerância ao etanol (*S. cerevisiae*) presentes no mosto de uva, o que explica a curva com tendência diauxica observada, com um pseudo-plato entre 5 e 6 dias e uma retomada fermentativa após este período.

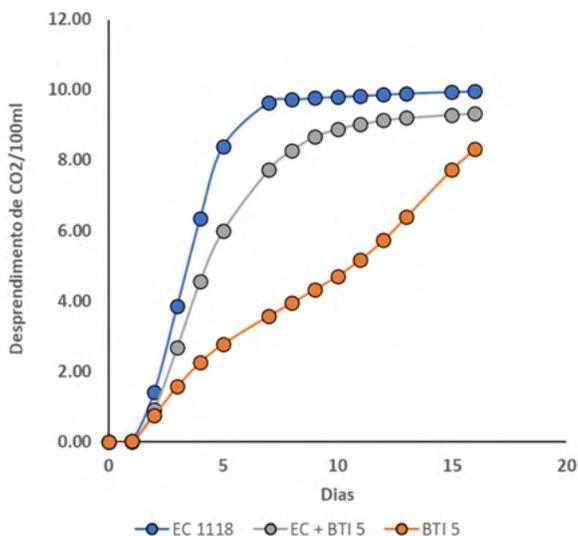


Figura 1 – Cinética das fermentações de mosto Lorena

Um levantamento das leveduras presentes no mosto original de Lorena mostrou uma população total de  $1,85 \times 10^5$  UFC/mL, sendo 64,8% apiculadas (*Hanseniaspora* sp.), 32,4% não-*Saccharomyces* (*Candida* sp., *Pichia* sp., *Starmerella* sp., entre outras), e 2,8% *Saccharomyces* (Figura 2), compatível com levantamentos de populações de leveduras em mostos v\u00ednicos no Brasil (ROCHA et al., 2022) e outros pa\u00edses produtores (BARATA et al., 2012). Por sua vez este mosto no final da fermenta\u00e7\u00e3o mostrou elevado n\u00famero de *Saccharomyces* ( $5,2 \times 10^8$  UFC/mL) contra um pequeno n\u00famero de outras leveduras ( $1,3 \times 10^3$  UFC/mL). Confirmando a presen\u00e7a de leveduras nativas *Saccharomyces* e sua participa\u00e7\u00e3o nas fermenta\u00e7\u00f5es, particularmente evidente naquelas conduzidas com BTI5.

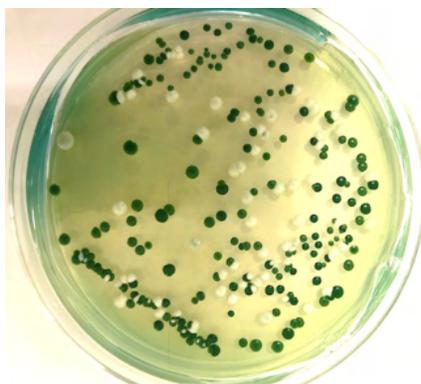


Figura 2 – Diferentes morfologias coloniais em leveduras de mosto original de BRS-Lorena em meio WLN (dilui\u00e7\u00e3o:  $10^{-2}$ ).

Fermentações conduzidas com o mesmo mosto de BRS-Lorena pasteurizado (Figura 3.A), mostraram que as fermentações com EC1118 e com EC+BTI apresentaram comportamento semelhante aquele do mosto não pasteurizado, enquanto que as fermentações com BTI exibiram o comportamento esperado para *T. delbrueckii* atingindo um máximo de 5,3% (v/v) de etanol, confirmando mais uma vez a participação de outras leveduras durante a fermentação em mosto de BRS-Lorena original (Figura 1).

Já as curvas de fermentação de mostos sulfitados (Figura 3.B) exibiram um aumento de fase lag, de adaptação, começando o processo fermentativo a partir do quarto dia. Deste ponto em diante, as curvas de EC, EC+BTI e BTI foram semelhantes, com certo retardo no caso de EC+BTI e BTI. Este comportamento mostra que as leveduras necessitam se adaptar fisiologicamente ao sulfito (NARDI et al., 2010) e confirma a sensibilidade de *T. delbrueckii* a este produto (KURTZMAN, 2010), assim como a presença e contribuição de leveduras (*S. cerevisiae*) autóctones no processo fermentativo.

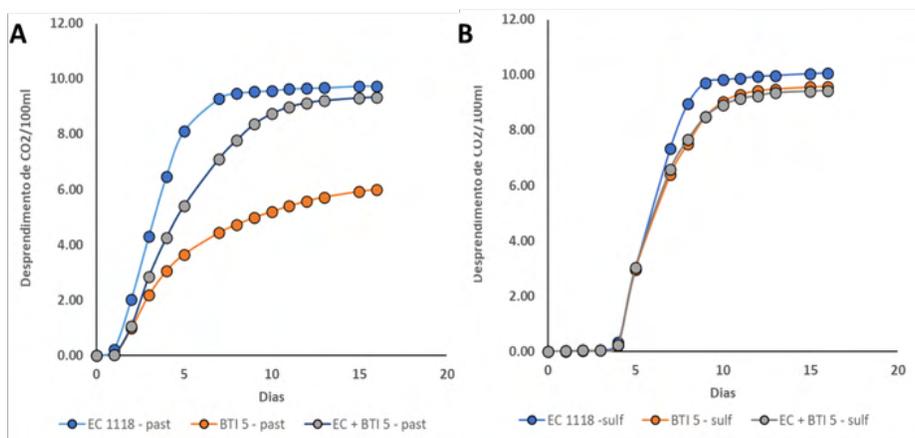


Figura 3 – Curvas de fermentação de mosto de BRS-Lorena. A- pasteurizado, e B- sulfitado (60 mg/L de metabissulfito de potássio)

O sulfito é o agente redutor e antimicrobiano mais utilizado na área vinícola (RIBEREAU-GAYON et al., 2006). Este agente é adicionado na forma de metabissulfito de sódio ou de potássio, os quais por sua vez, no pH baixo e elevado conteúdo de etanol dos vinhos, forma sulfito livre que altera a integridade da membrana celular e aumenta a concentração de radicais livres dentro da célula, reduzindo a viabilidade das leveduras (SCHIMZ, 1980; CISILOTTO et al., 2021). Assim, a sensibilidade de *T. delbrueckii* ao sulfito é considerada um dos problemas na utilização desta espécie, e motivo de pesquisas visando a obtenção de cepas tolerantes (VELÁZQUEZ et al., 2020).

A análise de parâmetros físico-químicos dos vinhos obtidos com mosto original após estabilização a frio, trasfega e manutenção a baixa temperatura (10°C) por três meses,

são apresentados na Tabela 1. Estes resultados mostram que os vinhos, com exceção daqueles fermentados com BTI5, completaram ou chegaram próximo a completar a fermentação em 16 dias, com conteúdos de açúcares redutores próximos aos máximos para vinhos secos (<4.1g/L) pela legislação brasileira, teores alcoólicos compatíveis com os esperados para vinhos produzidos a partir de mosto com 20.2 °Brix, e com acidez total menor do que vinhos de Lorena 86,78-96,39 meq/L (DA SILVA et al., 2015) e dentro da legislação (55 a 130 meq/L).

Estes resultados mostram que os vinhos obtidos com inoculação com EC1118 apresentaram graduação alcoólica, conteúdo de glicerol e índice de cor significativamente maiores do que os outros tratamentos, e menor concentração de açúcares redutores e acidez total do que vinhos inoculados com BTI (Tabela 1). Já os vinhos co-fermentados com EC e BTI (EC+BTI) exibiram valores intermediários para os parâmetros etanol, glicerol, açúcares redutores e acidez total, e cor semelhante as fermentações com BTI (Tabela 1).

	ETANOL (v/v)	Açúcares redutores (g/L)	Densidade	Glicerol (g/L)	Acidez total (meq/L)	pH	COR (420nm)
EC1118	10.6 ± 0.7 <sup>A</sup>	5.04 ± 0.82 <sup>B</sup>	0.9908	8.27 ± 0.09 <sup>A</sup>	85.0 ± 1.4 <sup>A</sup>	3.7	0.112 ± 0.015 <sup>A</sup>
BTI5	8.4 ± 0.2 <sup>C</sup>	6.11 ± 1.71 <sup>A</sup>	0.9891	6.18 ± 0.22 <sup>C</sup>	76.2 ± 2.8 <sup>B</sup>	3.7	0.097 ± 0.009 <sup>B</sup>
EC+BTI	9.6 ± 0.1 <sup>B</sup>	5.64 ± 0.95 <sup>AB</sup>	0.9891	7.25 ± 0.23 <sup>B</sup>	78.9 ± 1.4 <sup>AB</sup>	3.6	0.093 ± 0.007 <sup>B</sup>
MOSTO	0.0 ± 0.0	163.51 ± 4.58	1.0838	1.51 ± 0.11	68.1 ± 0.2	3.5	0.034 ± 0.003

\* Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos de vinhos Lorena fermentados com *S. cerevisiae* (EC1118), *T. delbrueckii* (BTI5) e co-fermentados com EC e BTI.

Os valores intermediários para vários parâmetros dos vinhos fermentados com EC1118 e BTI5 (Tabela 1) mostram que, independentemente da participação eventual de leveduras autóctones, os vinhos co-inoculados apresentam um comportamento esperado. Este resultado é de extrema importância, já que conforme evidenciado na Figura 3.B, a adição de sulfito não é uma opção para o controle de leveduras *Saccharomyces* autóctones ou outras leveduras presentes nos mostos quanto se pretendem inocular com *T. delbrueckii*.

Considerando as curvas da Figura 1 e as características físico-químicas (Tabela 1), os vinhos obtidos por cofermentação *S. cerevisiae* e *T. delbrueckii* (EC+BTI), numa proporção inicial de 1/1000, exibem comportamento fermentativo e características intermediárias entre as fermentações com as duas leveduras independentes, mas atingindo vinhos com baixo conteúdo de açúcar residual, com boa acidez, com importante conteúdo de glicerol e baixa oxidação (cor 420nm). Cabe ressaltar que, estes resultados indicam menor contribuição das leveduras autóctones, fator não controlado, sobre os parâmetros fermentativos do que as leveduras inoculadas (EC1118 e BTI5).

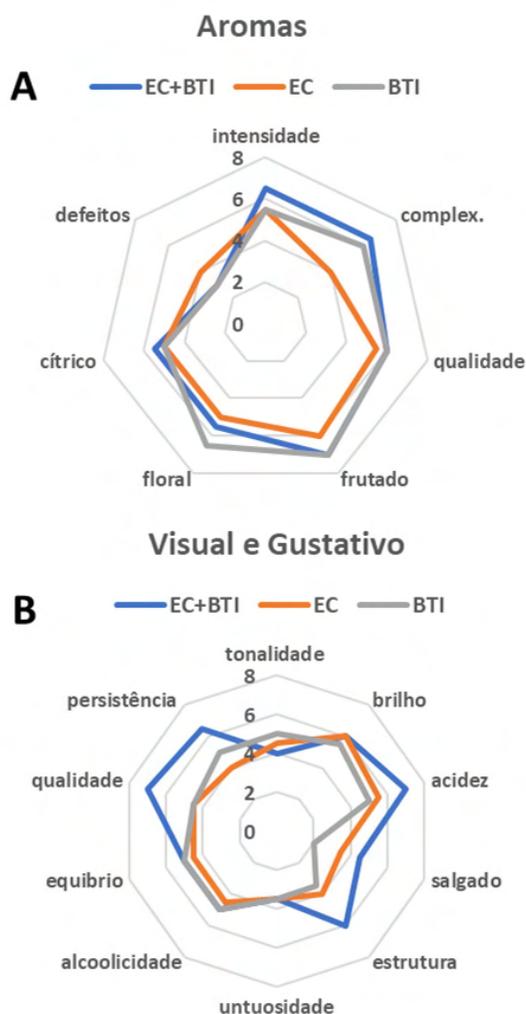


Figura 4 – Análise organoléptica de vinhos de BRS-Lorena fermentados com *S. cerevisiae* EC1118, *T. delbrueckii* BT15 e co-fermentados com as duas leveduras.

Os valores corresponde as medianas de 12 avaliadores.

Os dados resultantes da análise organoléptica dos vinhos BRS-Lorena obtidos com inoculação com EC1118, BT15 e EC+BTI podem ser apreciados na Figura 4. Em termos de aromas, os vinhos oriundos de cofermentação mostraram maior intensidade, sendo semelhante aos vinhos inoculados com BTI para complexidade, qualidade, aromas frutados e cítricos, porém com menores notas florais. Já os vinhos fermentados com EC1118 apresentaram mais defeitos, e menores valores de qualidade e frutado do que aqueles com participação de BTI (Figura 4.A). Em fermentações vínicas, *T. delbrueckii* de forma isolada ou em co-fermentações, contribui positivamente nas características organolépticas através

de aumento de polióis (MBUYANE et al., 2018), ésteres (MARCON et al., 2018), e outros compostos que elevam notas frutadas e florais (ZHANG et al., 2018).

A análise visual mostrou valores muito semelhantes de tonalidade e brilho nos três vinhos avaliados, confirmando os dados de absorbância a 420nm (Tabela 1). Já em termos gustativo, os vinhos co-fermentados com EC1118 e BTI5 apresentaram maior persistência, qualidade, acidez, salgado e textura do que os vinhos obtidos por inoculação com EC ou com BTI isoladamente. Estas características podem estar associadas a maior equilíbrio açúcar/etanol/glicerol (Tabela 1).

## CONCLUSÕES

De um modo geral, os resultados mostram que mostos da variedade BRS Lorena co-inoculados com *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* completam a fermentação dentro de um período semelhante aos mostos inoculados apenas com *S. cerevisiae*. Os vinhos obtidos utilizando as duas leveduras apresentam valores intermediários para a maior parte das características físico-químicas, quando comparado com os vinhos inoculados com cada uma das leveduras individualmente. Além disso, os dados mostram que *T. delbrueckii*, em particular em cofermentações com *S. cerevisiae*, contribui positivamente para as características organolépticas de vinhos da variedade híbrida BRS Lorena, elevando intensidade aromática com notas frutas e florais, e aumentando a persistência, qualidade e estrutura em boca.

## REFERÊNCIAS

BARATA, A., MALFEITO-FERREIRA, M., LOUREIRO, V. The microbial ecology of wine grape berries. *International Journal of Food Microbiology*, v. 153, p. 243-259, 2012.

BENITO, S. The impact of *Torulasporea delbrueckii* yeast in winemaking. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 102, p. 3081-3094, 2018.

BURGOS, Christian; MASCELLAROSA, Sílvia. **A qualidade do vinho brasileiro em números**. 2013. Disponível em: [https://revistaadega.uol.com.br/artigo/a-qualidade-do-vinho-brasileiro-em-numeros\\_5516.html](https://revistaadega.uol.com.br/artigo/a-qualidade-do-vinho-brasileiro-em-numeros_5516.html). Acesso em: 18 jul. 2022.

CAMARGO, U.A. **Cadastro vitícola 2005-2007: BRS Lorena**. Bento Gonçalves: Embrapa. 2009. Disponível em: [http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2005-2007/html/cult\\_brslorena.html](http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2005-2007/html/cult_brslorena.html)

CAMARGO, U.A., GUERRA, C.C. **BRS Lorena: variedade para a elaboração de vinhos aromáticos**. Comunicado Técnico 39. Bento Gonçalves: Embrapa, 2001. 4 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26007/1/ComT39.pdf>

CISILOTTO, B.; SCARIOT, F. J.; SCHWARZ, L. V.; ROCHA, R. K. M.; DELAMARE, A. P. L.; ECHEVERRIGARAY, S. Yeast stress and death caused by the synergistic effect of ethanol and SO<sub>2</sub> during the second fermentation of sparkling wines. *Oeno One*, [S.L.], v. 55, n. 4, p. 49-69, 21 out. 2021.

DA SILVA, M.J.R., TECCHIO, M.A., MOURA, M.F., BRUNELLI, L.T., IAMAIZUMI, V.M., VENTURINI FILHO, W.G. Composição físico-química do mosto e do vinho branco de variedades de videiras em resposta a portaenxertos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, [S.L.], v. 50, p. 1105-1113, 2015.

DUBORDIEU, D., TOMINAGA, T., MASNEUF, I., DES GACHONS, C. P., MURAT, M. L. The role of yeast in grape flavor development during fermentation: The example of Sauvignon Blanc. **American Journal of Enology and Viticulture**, [S.L.], v. 57, p. 474-480, 2006.

JOLLY, N.P., AUGUSTIN, O.P.H., PRETORIU, I.S. The Role and Use of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Wine Production. **South African Journal of Enology and Viticulture**, [S.L.], v. 27, p. 15-39, 2006.

KURTZMAN, C.P. *Torulaspora delbrueckii* (Lindner) Lindner. In: KURTZMAN, C.P., FELL, J. W., BOEKHOUT, T. **The Yeast**: a taxonomic study. USA: Elsevier Science, 2010. p. 2354.

LAMBRECHTS, M.G., PRETORIUS, I.S. Yeast and its importance to wine aroma – A Review. **South African Journal of Enology and Viticulture** 21, Special Issue. 2000.

MARCON, A.R., SCHWARZ, L.V., DUTRA, S.V., MOURA, S., AGOSTINI, F., DELAMARE, A.P.L., ECHEVERRIGARAY, S. Contribution of a Brazilian *Torulaspora delbrueckii* isolate and a commercial *Saccharomyces cerevisiae* to the aroma profile and sensory characteristics of Moscato Branco wines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, [S.L.], v. 24, p. 461-468, 2018.

MARCON, Â.R.; SCHWARZ, L.V.; DUTRA, S.V.; DELAMARE, A.P.L.; GOTTARDI, F.; PARPINELLO, G.P.; ECHEVERRIGARAY, S. Chemical composition and sensory evaluation of wines produced with different Moscato varieties. **Bio Web Of Conferences**, [S.L.], v. 12, p. 02033, 2019. EDP Sciences. <http://dx.doi.org/10.1051/bioconf/20191202033>.

MBUYANE, L.L., KOCK, M., BAUER, F.F., DIVOL, B. *Torulaspora delbrueckii* produces high levels of C5 and C6 polyols during wine fermentations. **FEMS Yeast Research**, [S.L.], p. 1-18, 2018.

MELLO, Loiva Maria Ribeiro de; MACHADO, Carlos Alberto Ely. **Cadastro vitivinícola do Rio Grande do Sul**: 2013 a 2015. Brasília: Embrapa Uva e Vinho, 2017. 85 p. Disponível em: <http://www.cnpqv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/pdf/ebook.pdf>

MELLO, Loiva Maria Ribeiro de; MACHADO, Carlos Alberto Ely. **Vitivinicultura brasileira**: panorama 2019. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2020. 21 p.

RAMIREZ, M., VELÁZQUEZ, R. The yeast *Torulaspora delbrueckii*: an interesting but difficult to-use for winemaking. **Fermentation**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 94-109, 12 nov. 2018.

RENAULT, P., MIOT-SERTIER, C., MARULLO, P., HERNÁNDEZ-ORTE, P., LAGARRIGUE, L., LONVAUD-FUNEL, A., BELY, M. Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspora delbrueckii* species: Potential applications in the wine industry. **International Journal of Food Microbiology**, [S.L.], v. 134, p. 201-210, 2009.

RIBERAU-GAYON, Pascal; DUBOURDIEU, Denis; DONECHE, Bernard; LONVAUD, Aline. Cytology, Taxonomy and Ecology of Grape and Wine Yeasts. In: RIBERAU-GAYON, Pascal et al. **Handbook of Enology**: the microbiology of wine and vinifications. Uk: John Wiley & Sons Ltd, 2006. p. 497.

ROCHA, R.K.M., ANDRIOLI, J., SCARIOT, F.J., SCHWARZ, L.V., DELAMARE, A.P.L., ECHEVERRIGARAY, S. Yeast diversity in Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes grown in the highlands of Southern Brazil. **OENO One**, [S.L.], v. 56, p. 101–110, 2022.

SCHMIZ, K.L. The effect of sulfite on the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Archives of Microbiology**, [S.L.], v. 125, p. 89-95, 1980.

VELÁZQUEZ, R., MARTÍNEZ, A., ZAMORA, E., ÁLVAREZ, M. L., BAUTISTA-GALLEGO, J., HERNÁNDEZ L.M., RAMÍREZ, M. Genetic Improvement of *Torulaspora delbrueckii* for Wine Fermentation: Eliminating Recessive Growth-Retarding Alleles and Obtaining New Mutants Resistant to SO<sub>2</sub>, Ethanol, and High CO<sub>2</sub> Pressure. **Microorganisms**, [S.L.], v. 8, p. 1372 – 1388, 2020.

ZHANG, B.Q., LUAN, Y., DUAN, C.Q, YAN, G.L. Use of *Torulaspora delbrueckii* Co-fermentation With Two *Saccharomyces cerevisiae* Strains With Different Aromatic Characteristic to Improve the Diversity of Red Wine Aroma Profile. **Frontier in Microbiology**, [S.L.], v. 9, p. 606, 2018.

## SOBRE OS ORGANIZADORES

**JUAN SAAVEDRA DEL AGUILA** - Brasileiro Naturalizado, nascido na Região Amazônica, especificamente na Cidade de “Iquitos”, Estado de “Loreto”, no Peru, formou-se Bacharel em Agronomia, pela “Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)” – Peru (1999) e, Engenheiro Agrônomo, também pela UNALM (2001). Exerceu atividades como Engenheiro Agrônomo por cinco anos. Após este período iniciou seus estudos de pós-graduação no Brasil, onde obteve os títulos de Mestre (2005) e Doutor (2009) em Agronomia – Área de concentração: Fitotecnia, pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ)/ Universidade de São Paulo (USP), e o estágio de pós-doutorado na ESALQ/USP (2012). Parte de seu Doutorado realizou no “Postharvest Laboratory, Horticulture and Forestry Sciences”, pertencente ao “Department of Primary Industries and Fisheries (DPI & F), Maroochy Research Station, Nambour, Queensland”, na Austrália. Ao longo do Pós-Doutorado fez visita técnica às cidades de Hainan e Guanzhou, na República Popular da China, tendo palestrado a convite do Prof. Dr. Huang Xu-Ming, na South China Agricultural University. Foi Professor Temporário em Fruticultura da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM)/Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Atuou como Professor Adjunto no Curso de Agronomia, da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Campus Itaqui, onde foi responsável pelas disciplinas de Fisiologia Vegetal, Fruticultura e Pós-Colheita; além de ter atuado como Coordenador do Curso de Agronomia. Atualmente é Professor Associado da UNIPAMPA - Campus Dom Pedrito, sendo um dos responsáveis pela Área de Viticultura do Curso de Bacharelado em Enologia; e Coordenador do Curso de Bacharelado Enologia (fevereiro 2021 - janeiro 2023). Orientou mais de 93 Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC) e/ou Iniciações Científicas. Publicou 69 artigos científicos completos em periódicos nacionais e internacionais, 8 livros e 14 capítulos de livro. Publicou mais de 330 trabalhos em anais de eventos. Participou em mais de 130 eventos no Brasil e no exterior. É Editor Associado do American Journal of Plant Biology, Journal of the Interamerican Society for Tropical Horticulture e da Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha; revisor de 18 Revistas Científicas nacionais e internacionais. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Fisiologia da Produção (Viticultura). Líder do Núcleo de Estudo, Pesquisa e Extensão em Enologia (NEPE<sup>2</sup>) ante o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Atual Coordenador da Comissão - I (Viticultura), da Comissão Técnica Brasileira da Vinha e do Vinho (CTBVV) (Portaria nº298/2019, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA).

**LÍLIA SICHMANN HEIFFIG DEL AGUILA** - A pesquisadora Lília Sichmann Heiffig del Aguila concluiu o Mestrado em Agronomia – Área de concentração: Fitotecnia (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ) pela Universidade de São Paulo em 2003 e o Doutorado em Agronomia – Área de concentração: Fitotecnia (ESALQ) pela Universidade de São Paulo em 2007. Também, concluiu Pós-Doutorado no Departamento de Produção Vegetal da ESALQ, Universidade de São Paulo, como bolsista FAPESP, com o projeto intitulado “Produção de mudas e arranjos espaciais visando a produção de biomassa da cultura do Pinhão-manso”, em 2008. Atualmente, atua como Pesquisadora A na Empresa Brasileira de

Pesquisa Agropecuária - Embrapa Clima Temperado, em Pelotas/RS. De 2008 a 2010 atuou como Pesquisadora Científica do Instituto Agronômico de Campinas - IAC, no Centro Grãos e Fibras, onde atuou como Diretora Substituta e Substituta do Diretor Técnico de Serviço da Unidade Laboratorial de Referência e Membro titular da Comissão de Ética Ambiental na Pesquisa do IAC. Publicou mais de 80 artigos científicos completos em periódicos nacionais e internacionais. Publicou quase 200 trabalhos em anais de eventos. Possui 9 capítulos de livros publicados, além de ter organizado 2 livros publicados. Possui 5 itens de produção técnica. Participou em mais de 50 eventos no Brasil e no exterior. Recebeu 3 prêmios e/ou homenagens. Assessor ad hoc da FAPESP, da FAPEMIG, da EMBRAPA e de periódicos científicos, como a Ciência Rural, a PAB, a Revista Brasileira de Fruticultura, a Semina, a Bragantia, a Interciencia (Venezuela), a Caatinga, a Nucleus e a Pesquisa Agropecuária Tropical. Revisora da Semana Integrada de Inovação, Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) - SIEPE. Em suas atividades profissionais interagiu com mais de 30 colaboradores em co-autorias de trabalhos científicos. Participa como responsável por atividades e planos de ação em projetos relacionados a cultura da soja e aos sistemas de produção. Liderou o Arranjo DiversiSul e na sequência o Portfólio DiversiSul. Atua na área de Agronomia, com ênfase em Manejo e Tratos Culturais. Membro da Comissão Interna de Prevenção de Acidentes da Embrapa Clima Temperado. Membro do Grupo de Trabalho da Embrapa Mulheres Rurais do Brasil. Membro do Grupo de Trabalho ODS da Embrapa Clima Temperado (GT ODS Embrapa Clima Temperado) e GT ODS Capacitação da Embrapa, que visam a internalização, a interiorização e a implementação da Agenda 2030 e os 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) na Embrapa, em conformidade com o valor «Sustentabilidade» do VII PDE.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Ácido málico 5, 7, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38

Análises básicas 16, 20, 22, 34, 43, 46

Antocianinas 2, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27

### C

Campanha Gaúcha 2, 11, 13

Características sensoriais 43

Cor do vinho 17, 26, 27

### E

Enologia 1, 2, 13, 14, 16, 28, 29, 30, 42, 56

### F

Fermentação 5, 11, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 43, 44, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 53

Fermentação vínica 16, 18, 24, 36, 43

### G

Glicerol/Etanol 31, 36, 37

### L

Leveduras não convencionais 43

### M

Melhoramento 16, 17, 27, 35

### S

*S. cerevisiae* 16, 17, 19, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 42, 43, 45, 46, 48, 50, 51, 52, 53

### V

*Vitis vinifera* L. 2, 12, 13

Vitivinicultura 2, 43, 44, 54



# *Vitivinicultura:*

Cultivo da uva e produção de vinhos

-  [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
-  [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

# *Vitivinicultura:*

Cultivo da uva e produção de vinhos

🌐 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

✉ [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

📷 @atenaeditora

📘 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)