

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO RIO GRANDE DO SUL
CAMPUS BENTO GONÇALVES

**AÇÃO ENZIMÁTICA SOBRE A BORRA FINA EM VINHO “MONTEPULCIANO”
SAFRA 2017**

JEFERSON GROLLI MARIANI

Bento Gonçalves, Julho de 2019.

JEFERSON GROLLI MARIANI

**AÇÃO ENZIMÁTICA SOBRE A BORRA FINA EM VINHO “MONTEPULCIANO”
SAFRA 2017**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto ao Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e enologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Viticultura e Enologia.

Orientador: Prof. Dra. Simone Bertazzo Rossato

Bento Gonçalves, Julho de 2019

JEFERSON GROLLI MARIANI

**AÇÃO ENZIMÁTICA SOBRE A BORRA FINA EM VINHO “MONTEPULCIANO”
SAFRA 2017**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto ao Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e enologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Viticultura e Enologia.

Orientador: Prof. Dra. Simone Bertazzo Rossato

Aprovado em julho, 2019.

Prof. Dra. Simone Bertazzo Rossato

Prof. Dr. Evandro Ficagna – Instituto Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Júlio Meneguzzo - Instituto Federal do Rio Grande do Sul

“O vinho é composto de humor líquido e luz”

Galileu Galilei

“O vinho alegra o coração do homem, e a alegria é a mãe de todas as virtudes”

Goethe

RESUMO

As leveduras, durante o processo de transformação do mosto em vinho, modificam quimicamente diversos compostos, e os devolvem ao meio. Além disso, as mesmas utilizam parte dos açúcares e de outros compostos presentes no mosto para sintetizar suas estruturas celulares, que se lisadas e cedidas ao vinho, distribuem propriedades organolépticas agradáveis através da liberação das manoproteínas. O aporte de manoproteínas e outros compostos liberados por autólise pode ser otimizado e acelerado pelo uso de enzimas específicas. Esse trabalho tem por objetivo avaliar química e sensorialmente um vinho Montepulciano que recebeu borra fina tratada enzimaticamente. Para tal, o estudo contou com três tratamentos e uma amostra controle, resultando nas seguintes amostras: T1- Adição de 1% da *battonage* sobre o volume total do vinho; T2- Adição de 2% da *battonage* sobre o volume total do vinho; T3- Adição de 3% da *battonage* sobre o volume total do vinho e uma amostra controle (C) elaborada a partir da remoção das borras finas mediante *trasfegas*. Ao final do tratamento, foram avaliados parâmetros de acidez total e volátil, extrato seco, densidade, características cromáticas e grau alcoólico. Os vinhos foram também submetidos a um teste de ordenação a fim de verificar a melhoria na estrutura e cor das amostras. Pode-se concluir que os vinhos que mantiveram contato com as borras aportaram maior estrutura quando comparado à testemunha. No aspecto de coloração, os tratamentos com adição da borra fina tratada enzimaticamente promoveram aumento da coloração vermelha comparando à testemunha. Ainda, o estudo demonstrou que as borras de fermentação são um recurso enológico de grande valia, pois se complexam com os taninos, resultando em menor sensação de adstringência. Assim, espera-se que a apresentação dos resultados obtidos e discutidos, propicie futuras discussões sobre o tema e auxiliem para futuros estudos na área.

Palavras-chave: *Battonage*, 'Montepulciano', Parâmetros físico-químicos, Análise sensorial.

ABSTRACT

Yeasts, during the process of transformation of the must into wine, modify the aromatic precursors, and return them to the medium. In addition, they use part of the sugars and other compounds present in the must to synthesize their cellular structures, which if lysed and yielded to the wine, distribute pleasant organoleptic properties through the release of mannoproteins. This work was developed on the property of the Don Laurindo winery, located in Vale dos Vinhedos, which covers areas of the municipalities of Bento Gonçalves, Garibaldi and Monte Belo do Sul, in the Rio Grande do Sul. The present study proposes the analysis of the use of enzymes to the fine sludge in the wine of *Vitis vinifera* L. Montepulciano in order to ennoble the profile of the wine with *Vitis vinifera* L. Montepulciano. gustatory and improve the structure of the product. For this, the study had four treatments, and three of them were used enzymatic addition of the sludge with the following doses: T1- Addition of 1% of the battonage on the total volume of the wine; T2- Addition of 2% of the battonage on the total volume of the wine; T3- Addition of 3% of the battonage on the total volume of the wine. Nevertheless, in order to compare the performance of the lees in the wine, the control wine (T) was analyzed from the removal of the fine lees through racking. The results were obtained based on the physical-chemical analysis performed to verify the parameters of total and volatile acidity, dry extract, density, chromatic characteristics and alcoholic degree, and through sensorial analysis that served to determine the structure and color of the wines produced. Where preliminarily, it is concluded that the wines that maintained contact with the lees had a larger structure when compared to the control. In the staining aspect, the treatment with addition of the enzymatically treated thin slurry promoted increased red staining compared to the control. Moreover, the study demonstrated that fermentation lees are an enological resource of great value, as they are complexed with tannins, resulting in less sensation of astringency. Thus, it is expected that the presentation of the results obtained and discussed, provide future discussions on the subject and help future studies in the area.

Keywords: *Battonage*, 'Montepulciano', Physico-chemical parameters, Sensory analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Concentração de polissacarídeos e manoproteínas em vinhos elaborados com e sem contato com borras.....	13
Figura 02: Vitis vinifera L. Montepulciano.....	21
Figura 03: Uvas Montepulciano destinadas para elaboração do vinho para a pesquisa.....	21
Figura 04: Fluxograma da produção dos vinhos em estudo.	22
Figura 05: Fluxograma do procedimento	24
Figura 06: Vinhos resultantes do experimento avaliados pelo teste de ordenação	26
Figura 07: Pontuações obtidas para cada tratamento após teste de ordenação.....	30
Figura 08: Comparação dos tratamentos pelo teste de ordenação.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Valores médios dos parâmetros físico-químicos avaliados nos vinhos tintos Montepulciano com e sem adição de borra fina após tratamento enzimático	28
Tabela 02: Valores médios das características cromáticas avaliadas nos vinhos tintos Montepulciano com e sem adição de borra fina após tratamento enzimático	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 O vinho sobre Borras	12
2.2 Composição da Borra	12
2.3 Parede celular das leveduras	13
2.4 Autólise das Leveduras: conceito e características.....	15
2.4.1 Enzimas β -glucanase	16
2.4.2 Compostos liberados pela autólise	16
2.4.2.1 Polissacarídeos	16
2.4.2.2 Proteínas e peptídeos	17
2.5 Maturação sobre borras	18
2.6 Variedade Montepulciano.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Caracterização da pesquisa.....	20
3.2 Objeto de estudo	20
3.3 Elaboração do vinho Montepulciano.....	21
3.4 Tratamento enzimático da borra fina.....	22
3.5 Análises físico-químicas e sensorial.....	24
3.5.1 Análises físico-químicas.....	24
3.5.2 Análise Sensorial	25
3.6 Análise Estatística	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Características físico-químicas dos vinhos.....	28
4.2 Características cromáticas	29

4.3 Análise sensorial.....	30
5 CONCLUSÃO.....	33
6 REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Ao término da fermentação alcoólica, ocorre a morte das leveduras, essas se depositam e constituirão as borras de fermentação. Na terminologia enológica, se faz uma distinção entre borras finas, constituídas só por leveduras, e borras totais ou grosseiras, que compreendem também fragmentos vegetais derivados da uva.

As leveduras, durante a transformação do mosto em vinho, transformam também os precursores aromáticos e os devolvem ao meio; todavia uma boa parte dos aromas permanece no interior das células e é por este motivo que as borras frescas apresentam *bouquet* agradável e intenso. Além disso, as leveduras utilizam parte dos açúcares e de outros compostos presentes no mosto para sintetizar as suas estruturas celulares, que se lisadas e cedidas ao vinho, distribuem propriedades organolépticas agradáveis através da liberação das manoproteínas. Os aminoácidos cedidos enobrecem o perfil gustativo, pois exaltam o sabor e os derivados sistêmicos (glutatião) conferem uma natural proteção antioxidante.

A maciez de um vinho é uma característica que influencia o consumidor no momento de avaliar um produto. Outro ponto forte diz respeito aos aromas e sabores frutados, que lembram a tipicidade varietal. Ainda, a presença de compostos fenólicos adequados garantem sabor, estrutura e volume de boca, sendo atributos que os consumidores julgam importantes durante uma avaliação sensorial.

Nos últimos anos, com o avanço da tecnologia tanto na produção de uva com estudos para conseguir produzir uma uva com maior qualidade quanto com a tecnologia empregada na elaboração dos vinhos, já é possível produzir vinhos com acidez equilibrada, boa coloração e com um aroma característico da região, mas muitas vezes com um desequilíbrio na estrutura. Para melhorar o equilíbrio da estrutura do vinho, experimentos recentes demonstraram que as borras de fermentação são um recurso enológico considerável, com o objetivo de complexarem-se com os taninos diminuindo a capacidade de reação com as proteínas da saliva, resultando em menor sensação de adstringência. Porém tornam-se uma fonte interminável de defeitos, quando não utilizadas de forma correta.

Diante disso, o estudo em questão tem por objetivo analisar o emprego de enzimas à borra fina do vinho da *Vitis vinifera* L. Montepulciano com o intuito de enobrecer o perfil gustativo e melhorar a estrutura do produto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O vinho sobre Borrás

Tradicionalmente, o envelhecimento em borras é utilizado em vinhos brancos, bem como em vinhos espumantes produzidos pelo método tradicional, mas atualmente o envelhecimento em borras é estendido a todas as áreas vitícolas e é usado em particular para vinhos tintos durante um período de tempo que varia de 2 a 14 meses na maioria das vezes (TRIONE Y COL, 2001).

O depósito de leveduras que resta após a fermentação pode ser incorporado ao vinho para estimular sabores adicionais (KEEVIL *et al.*, 2006). O contato das borras com o vinho melhora-o organolepticamente, reduzindo o amargor e a adstringência e em termos de aroma, enriquece-o com aromas mais complexos.

2.2 Composição da Borra

As borras consistem principalmente em células de levedura mortas produzidas durante a fermentação alcoólica misturadas com cristais de bitartratos, bactérias e resíduos de células vegetais. A composição das borras é variável, uma vez que depende da duração da decantação e da subsequente transferência do vinho.

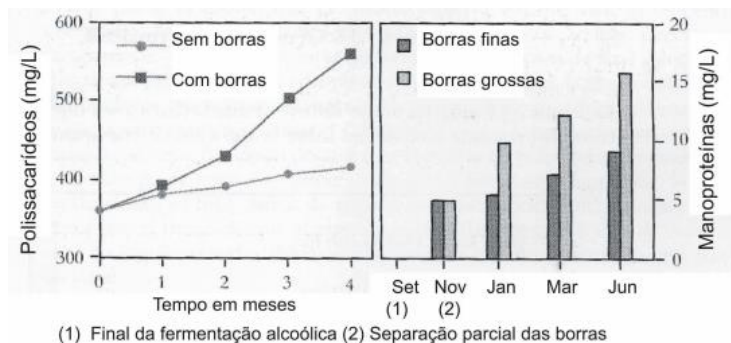
As borras constituem um valioso subproduto na tecnologia da vinificação. São formadas por: 70 a 90% de vinho, 2,5 a 4% de substâncias tartáricas (cristais de bitartrato de potássio e tartarato de cálcio), 6,5 a 7,5% de substâncias diversas que incluem os detritos vegetais (grainhas, películas e engaços), partículas de terra, mucilagens, 4 a 5% de leveduras da fermentação, sílica, ácido pécico e pectato de cálcio, substâncias albuminóides livres e combinados com tanino, fosfato de cálcio e de bário, ácido fosfórico, sulfatos, etc (PATO, 1988).

As borras grossas são constituídas por detritos vegetais e por compostos de texturas mais granuladas como nove substâncias tartáricas e outros produtos provenientes da fermentação (SILVA, 2003); as borras finas têm uma granulometria muito pequena e uma textura macia entre os dedos, e são constituídas por leveduras, bactérias lácticas, polifenóis, açúcares e outra matéria corante (SALMON *et al.*, 2000; CARDOSO, 2007).

Segundo Ribereau-Gayón *et al.*, (2003), as borras finas são o conjunto de sedimentos que permanecem em suspensão após 24 horas da realização de uma trasfega após a fermentação alcoólica. Um dos efeitos benéficos que a borra promove sobre a qualidade do vinho através do processo de autólise é liberação de manoproteínas e polissacarídeos. Segundo Gabbardo (2009), as manoproteínas e os polissarídeos desenvolvem uma ação de colóide protetor, e esse efeito é compreendido como uma atuação frente a possíveis precipitações, o que pode empobrecer o vinho. Além disso, esses colóides estão associados com o incremento gustativo através das sensações de untuosidade, interagindo com os compostos fenólicos e assim, favorecendo a estabilidade de cor e diminuindo a adstringência do vinho.

Na figura 01, Zamora (2003) exemplificou essa liberação, onde é possível visualizar a concentração de compostos em vinhos com e sem maturação sobre borras.

Figura 01: Concentração de polissacarídeos e manoproteínas em vinhos elaborados com e sem contato com borras



Fonte: Zamora (2003) adaptado por Gabbardo (2009).

Essa liberação das borras é proporcionada por alguns fatores como a duração do contato, a temperatura, a agitação da biomassa de levedura, estando essas condições reunidas na maturação de vinhos sobre borras em barricas (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

2.3 Parede celular das leveduras

A parede celular possui uma forma rígida, com pouca elasticidade, de natureza essencialmente polissacarídica e representa cerca de 15 a 25 % do peso seco da célula. Além de sua capacidade protetora, a parede, por sua organização macromolecular, confere à célula

sua própria forma. Ela também é composta de moléculas que determinam certas interações celulares como união sexual, a floculação e o fator *killer* (SILVA, 2017).

As enzimas estão associadas na parede ou alojadas no espaço periplasmático cujos substratos são substâncias nutritivas que se encontram no meio em que se desenvolvem as macromoléculas da parede, constantemente modificadas em transformação da morfogênese celular (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

As manoproteínas constituem de 25 a 50 % da parede de *Saccharomyces cerevisiae*, e podem ser extraídas das células inteiras ou das paredes, isoladas por métodos químicos ou enzimáticos. Os métodos químicos utilizam o sistema de autoclave em presença de álcalis ou em tampão citrato em pH 7. Os métodos enzimáticos liberam as manoproteínas por digestão dos glucanos com β -glucanases. Esses são menos desnaturados que os métodos químicos para a estrutura das manoproteínas (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

A utilização de enzimas com a finalidade de extração de manoproteínas parietais de *Saccharomyces cerevisiae* é concedida através do uso da zimoliase obtida da bactéria *Arthobacter luteus*, e esse complexo enzimático possui ligação com a atividade β -1-3 glucanásica. Outra preparação industrial de β -glucanase (glucanex) é produzida pelo fungo *Trichoderma reesei* e possui atividades endo e exo β -1,3 e endo β -1,6-glucanase, permitindo também extrair facilmente manoproteínas das paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*. As manoproteínas de *Saccharomyces cerevisiae* têm pesos moleculares compreendidos entre 20.000 e mais de 450.000 Da. Possuem graus de glicosilação variáveis, mas algumas delas, com 33 aproximadamente 90% de manose e 10% de peptídeos, são hipermanosiladas (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

A parede celular externa é composta principalmente de polissacarídeos, com destaque para os glucanos, as manoproteínas e a quitina, esta última em menor proporção. Contém ainda numerosas enzimas, geralmente hidrolisadas, responsáveis por um grande número de fenômenos e estão associadas à parede e situadas no espaço periplasmático (HIDALGO *et al.*, 2003).

O mecanismo de autólise das leveduras compreende uma liberação das manoproteínas após a hidrólise dos glucanos parietais. Na realidade, a hidrólise dos glucanos se dá no meio extracelular pela ação das Beta (1,3) glucanases, enquanto as manoproteínas restam praticamente inteiras, tendo em conta a ação muito limitada das manases (BERTRAND *et al.* 2000).

Outras enzimas periplásmicas foram encontradas: β -glucosidase, β -galactosidase,

meibiase, trialase, aminopeptidase, esterase. A parede das leveduras contém também endo e exo β - glucanases do tipo 1,3 e 1,6. Essas enzimas estão envolvidas nas modificações da parede durante o transcurso do crescimento e da brotação das células. A atividade, por outra parte, é máxima durante a fase de crescimento exponencial das populações e depois diminui. As células na fase estacionária de crescimento e as leveduras mortas contidas nas borras possuem ainda em sua parede atividades β -glucanase, vários meses depois de terminada a fermentação. Estas enzimas endógenas intervêm no processo de autodissolução da parede das leveduras durante a conservação dos vinhos sobre borras (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003)

2.4 Autólise das Leveduras: conceito e características

O conceito autólise das leveduras define a auto degradação enzimática das distintas partes da mesma, que começa imediatamente depois da morte das células. A degradação da membrana da levedura compreende uma liberação das enzimas de hidrólise e a destruição dos componentes da parede, permitindo a liberação dos compostos autolisados para o exterior (HIDALGO *et al.*, 2003).

As moléculas liberadas ao vinho durante a autólise da levedura alteram o equilíbrio coloidal, bem como características que definem a estrutura, estabilidade de cor e aromas. Os nucleotídeos e nucleosídeos comportam-se como agentes de aroma, os aminoácidos e peptídeos atuam como precursores de aromas e alguns podem apresentar sabores doces ou amargos (MORATA, 2005).

Freyssinet (1988), Charpentier e Freyssinet (1989) observando a autólise das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* em meio hidro alcólico a pH 3,0 e 40°C propõem as seguintes etapas:

- Desde o princípio da autólise, as atividades das enzimas endo e exo- β -(1-3)-glucanases liberam uma mescla de polissacarídeos e cadeias curtas de oligossacarídeos. Uma fração desses polissacarídeos corresponde às manoproteínas unidas covalentemente aos glucanos da parede intacta.
- Posteriormente, com a hidrólise parcial do glucano há desestabilização da estrutura da parede, que facilita liberação de manoproteínas de elevado peso molecular com baixo conteúdo de glicose e que provêm majoritariamente da zona periplasmática.
- Em uma etapa mais tardia, continua a degradação dos glucanos da parede pelas β -(1-

3)-glucanases nos restos da parede e no meio extracelular.

- No final da autólise, as *exo-β*-(1,3)-glucanases, solubilizadas no meio, degradam o glucano unido às manoproteínas e essas últimas, por sua vez, podem ser hidrolisadas por alfa-manosidades e por outras proteases que liberam peptidomananos de menor tamanho.

A autólise das leveduras nos vinhos pode ser muito rápida em meios com pH 4,5 a 5,0 e temperatura de 35° a 40°C, enquanto que nas condições reais dos vinhos (pH entre 3,0 e 3,5 e temperatura inferiores a 15°C), a autólise pode ocorrer em um período de 2 a 3 meses ou mais, intensificando-se periodicamente por agitação das borras, como se faz com o *battonage* em vinhos jovens de barrica (HIDALGO *et al.*, 2003).

2.4.1 Enzimas β-glucanases

As enzimas β-glucanases hidrolisam os β-glucanos que estão ligados à quitina e às manoproteínas que são responsáveis por dar forma e estrutura à parede celular da levedura. Assim, além de induzir a liberação de manoproteínas no vinho, a ação dessas enzimas produz a liberação de glicose e oligossacarídeos devido à quebra das ligações β-glicosídicas que se ligam às cadeias β-glucanas (HUMBERT-GOFFARD *et al.*, 2004).

Todas as preparações comerciais de enzimas β-glucanase autorizadas para uso enológico são sintetizadas e isoladas de *Trichodermassp.* cultivadas nas condições ideais para a sua produção e purificação. No entanto, se um bom processo de purificação não for realizado, estas preparações enzimáticas podem incluir enzimas com alguma atividade β-glucosidase não específica que é prejudicial ao envelhecimento dos vinhos tintos sobre as borras (PALOMERO *et al.*, 2007).

2.4.2 Compostos liberados pela autólise

Os compostos liberados no decorrer do processo estão descritos a seguir.

2.4.2.1 Polissacarídeos

Os polissacarídeos constituem um dos principais grupos de macromoléculas do vinho. Podem ter origem tanto na uva como em microrganismos. Os que existem em maiores

quantidades são as arabinogalactana-proteínas (AGPs) e as ramnagalacturonanas do tipo II (RGII), que provêm de pectinas nativas da parede celular da uva após degradação por pectinases e as manoproteínas (MP) que são produzidas por leveduras (*S. cerevisiae*) durante e após a fermentação (DOCO *et al.* 2000).

Os polissacarídeos das leveduras são a segunda maior fonte de liberação de polissacarídeos no vinho. Os polissacarídeos das leveduras estão localizados na parede celular, o que representa entre 15-30% do seu peso seco em *S. cerevisiae*. (AGUILAR, *et al.*, 2003).

Os polissacarídeos seriam unidos às proantocianidinas para dar origem a agregados mais estáveis, atuando assim como colóides protetores. Essa união evita a polimerização e a precipitação desses compostos, sendo capaz de reduzir a adstringência e aumentar a redondeza, estrutura e volume na boca dos vinhos (RIOU *et al.*, 2002).

Os polissacarídeos e as manoproteínas formam um grupo de macromoléculas de grande importância na enologia devido as suas funções que podem contribuir nas características organolépticas, assim atua para aliviar a escassez de compostos devido à falta de maturação, que está ligado ao clima e com as alterações climáticas que estão ocorrendo, pode ser uma ferramenta importante para atribuir complexidade aos vinhos.

As manoproteínas são de grande interesse do ponto de vista enológico, uma vez que representam 35% do total de polissacarídeos no vinho tinto (VIDAL *et al.*, 2003b).

2.4.2.2 Proteínas e peptídeos

A uva e o vinho contêm numerosas proteínas de peso molecular variável (de 13.00 a 150.000 Da), sendo algumas delas instáveis e responsáveis pela casse proteica dos vinhos brancos. Certas proteínas estão associadas a frações glicídicas, por exemplo as manoproteínas de leveduras. Como as proteínas são precipitadas pelos taninos, os vinhos tintos praticamente não as contêm em estado livre. O aumento dos teores de nitrogênio peptídico, durante a transformação do mosto em vinho, se deve à liberação de peptídeos pelas leveduras durante a autólise. Esses peptídeos de origem leveduriana são considerados termoestáveis e podem cooperar na complexação taninos-antocianinas (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

Durante a autólise das leveduras, outros compostos também são liberados, como aminoácidos e/ou lipídios, que podem ser precursores aromáticos, melhorando a fração aromática dos vinhos. Os lipídios libertados destas leveduras podem favorecer a formação de ésteres e aldeídos voláteis (CHARPENTIER *et al.*, 1993), podendo apresentar sabores doces

ou amargos e podem melhorar o corpo e volume em boca. (MORATA, 2005).

2.5 Maturação sobre borras

A maturação pós-fermentativa dos vinhos constitui uma etapa fundamental, que pode condicionar a qualidade final do vinho. Em alguns vinhos brancos, por exemplo na Borgonha, há muito tempo se pratica maturar vinhos sobre as borras (*sur lie*), com a ressuspensão das borras finas de tempos em tempos, na operação *bâtonnage*. Acredita-se que também no vinho tinto se obterá aporte de polissacarídeos solúveis, uma estabilidade do ponto de vista potencial de oxido-redução, e um aumento da intensidade dos caracteres frutados do aroma dos vinhos. Além disto, os vinhos tintos assim tratados revelam-se mais untuosos, com mais corpo e menos adstringentes (GIOVANINNI; MANFROI, 2009).

Os constituintes macromoleculares da parede celular da levedura, particularmente as manoproteínas, são parcialmente liberados durante a fermentação alcoólica e especialmente durante a maturação sobre borras. No laboratório, em meio modelo, esta liberação é favorecida pela duração do contato, pela temperatura e pela agitação da biomassa de levedura. Estas condições estão reunidas em um método tradicional de maturação de vinhos sobre borras em barrica. Com relação a um vinho fermentado e maturado sobre borras finas, um vinho fermentado e maturado sobre borras totais em barrica, com homogeneização ou revolvimento semanal, se enriquece muito mais em colóides glucídicos de leveduras. A diferença pode alcançar os 150 a 200 mg.L⁻¹ (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

A liberação das manoproteínas ocorre com a dissolução enzimática das borras. As β -glucanases presentes na parede da levedura conservam uma atividade residual muitos meses depois da morte da célula. Estas hidrolisam os glucanos parietais, ponto de ancoragem das manoproteínas que desta forma se liberam para o meio (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

2.6 Variedade Montepulciano

É uma variedade amplamente cultivada na Itália central e meridional. Esta variedade possui um período de maturação mais tardio, conseqüentemente necessita de uma maior soma térmica para o amadurecimento. Muitas vezes, a maturação fenólica não é alcançada e os taninos não adquirem um amadurecimento completo, o que pode resultar em vinhos com

adstringência e amargor. Os vinhos da variedade Montepulciano são globalmente apreciados por seus sabores suaves, cores fortes e taninos delicados, motivos pelos quais são consumidos quando jovens. Esta cultivar prospera nas regiões italianas de Abruzzo, Marche, Puglia e Molise, mas não se adaptou bem nas regiões do norte da Itália, onde se esforça para atingir um estágio de maturação ideal. A região de Abruzzo é famosa pela produção de Montepulciano de onde provém o bom, embora rústico, Montepulciano d'Abruzzo (MACNEIL, 2003).

A variedade Montepulciano tem sua origem desconhecida, mas pelo seu nome presume-se que ela seja proveniente do território de Montepulciano na província de Siena (CALÒ et al., 2001). Os vinhos produzidos com essa variedade possuem cor vermelho rubi intensa, com aroma característico de frutas vermelhas maduras (RAUSCEDO, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os processos metodológicos que orientam o presente trabalho estão organizados em três sessões, sendo elas: (i) caracterização da pesquisa; (ii) objeto de estudo; (iii) procedimentos realizados e método de análise.

3.1 Caracterização da pesquisa

A pesquisa em questão possui abordagem quantitativa e caráter explicativo, pois busca identificar os fatores determinantes ou contribuintes à ocorrência de fenômenos (GIL, 2010).

De acordo com os procedimentos realizados, a pesquisa classifica-se em método experimental e levantamento. Em sua obra, Gil (2010) define o método experimental (tratamentos/experimento) como o melhor exemplo para pesquisa científica, já que a mesma apresenta resultados obtidos através de um experimento. Já o levantamento é realizado pela interrogação direta das pessoas cujo comportamento se deseja conhecer mediante análise quantitativa (GIL, 2010), que neste estudo se deu com base na análise sensorial realizada.

3.2 Objeto de estudo

O trabalho em questão teve como objeto o estudo de vinhos elaborados com a *Vitis vinifera L.* Montepulciano, utilizando borra tratada enzimaticamente.

O vinhedo da variedade Montepulciano que foi escolhido para elaborar o trabalho está localizado no Vale dos Vinhedos, na propriedade da vinícola Don Laurindo. O vale está localizado no nordeste do Rio Grande do Sul, o qual abrange áreas dos municípios de Bento Gonçalves, Garibaldi e Monte Belo do Sul, concentrando-se na região serrana do estado.

O sistema de condução é espaldeira simples (figura 02), com produtividade em torno de 12 toneladas por hectare. O clima da região caracteriza-se de natureza temperada, úmida, subtropical, com estações bem definidas. Com isso, durante os meses do outono e inverno são comuns as geadas. Nos meses subsequentes, durante o período de brotação até a frutificação e colheita nas videiras, há boa e longa incidência de sol, favorece o bom desenvolvimento das uvas. A chuva não é bem distribuída durante o ano, com média anual de altos 1800mm/ano.

Figura 02: Vitis vinifera L. Montepulciano



Fonte: Autor (2017).

3.3 Elaboração do vinho Montepulciano

Foram colhidos 100 Kg de uva (Figura 03) na propriedade da vinícola Don Laurindo, com um teor de 19° Brix no dia 13/03/2017.

Figura 03: Uvas Montepulciano destinadas para elaboração do vinho para a pesquisa



Fonte: Autor (2017).

A uva foi transportada até a vinícola Don Laurindo onde se deu o início do processo, a primeira etapa foi o foi desengajar logo o mosto foi colocado em quatro tanques com

capacidade de 30 litros cada. Foram adicionadas 20g.hL⁻¹ de Aromplus¹, logo em seguida foi acrescentado o pé de cuba, com levedura Maurivin BP 725 na dose de 30g.hL⁻¹. A fermentação iniciou com uma temperatura de 17°, finalizando com uma temperatura de 25°C e durou nove dias. Após o término da fermentação, foi realizada a descuba e o vinho foi trasfegado para os tanques de polipropileno, com a capacidade de 30 litros cada. Conforme mostra o fluxograma a seguir.

Figura 04: Fluxograma da produção dos vinhos em estudo.



Fonte: Autor (2019).

3.4 Tratamento enzimático da borra fina

A adição de enzimas na borra fina retirada logo após a fermentação alcoólica seguiu protocolo fornecido por uma empresa de produtos enológicos. Tal protocolo objetiva, conforme o fabricante, a empresa AEB Group a produção do seu próprio *batonnage* pela vinícola, com o intuito de enobrecer o perfil gustativo atribuindo mais estrutura para o vinho e exaltar seu sabor.

¹ Segundo a Amazon Group (2019), tal produto é composto a base de ácido ascórbico e metabissulfito de potássio, cuidadosamente balanceados para reduzir os níveis de oxigênio dos mostos.

A primeira parte do experimento consistiu em extrair a borra fina do reservatório, e verificar sua densidade que não deve ser superior a 1,2 kg. L⁻¹.

A primeira enzima adicionada foi a EndozymGlucapec² cuja atividade β -glucanásica enfraquece as paredes celulares, permitindo a liberação dos compostos citoplasmáticos em tempo breve. Foi empregada uma dose de 10g.hL⁻¹ à temperatura de 20 a 25°C e submetida à agitação contínua por vinte e quatro horas em shaker. Para isso utilizou-se Erlenmeyer com volume de 250 ml que permaneceu vedado durante o processo.

Após vinte e quatro horas, foi adicionada a EndozymElevage³ (10g.hL⁻¹) que atua na degradação das partes constituintes do citoplasma. Esta permaneceu em contato com a borra, sob agitação contínua por quarenta e oito horas em shaker.

Após esse período, foi adicionada a enzima Endozym β -Split⁴(10g.hL⁻¹), com funções pectolítica e β -glucosidásica, agindo sobre os compostos terpênicos liberando-os completamente no meio. Esta por sua vez permaneceu vinte e quatro horas em agitação.

A quarta enzima adicionada foi a Ellagitan Chêneele⁵, na dose de 10g.hL⁻¹ com objetivo de transmitir o oxigênio, evitando a formação de compostos sulfurados como o gás sulfídrico (H₂S). Foram realizadas remontagens de ciclo fechado, uma vez ao dia, para evitar a precipitação das partes mais grosseiras. Esse processo teve duração de três dias.

Depois de uma semana do início do tratamento, foi adicionado 10g.hL⁻¹ de Gallovin⁶, para regular o estado óxido-redutivo. Conforme Figura (04) a seguir.

² Segundo a AEB Group (2019), tal enzima é composta por Pectinliase (PL); Betaglucosidase (BGX); Poligalacturonase (PG); Pectinesterase (PE); Celulase (CMC).

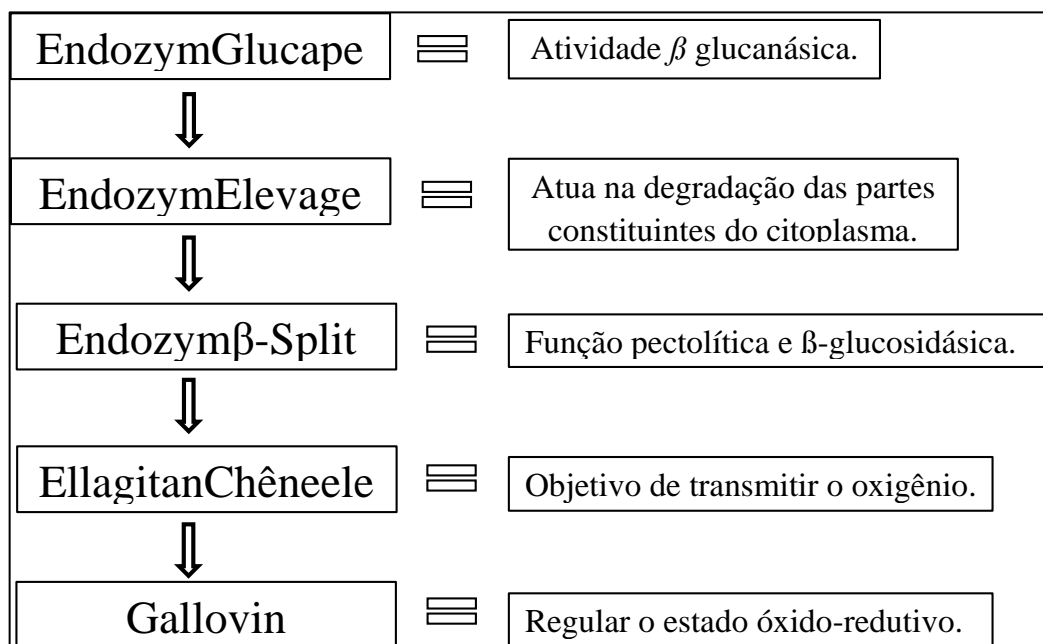
³ São compostos basicamente por derivados de leveduras e tanino proantocianidínico.

⁴ Ainda assim, segundo a AEB Group (2019), tal enzima é composta por Pectinliase (PL); Poligalacturonase (PG); Pectinesterase (PE); Celulase (CMC).

⁵ Possui em sua composição tanino elágico de elevado prestígio.

⁶ Compostos por tanino extraído da galha de *Robinia Pseudoacacia*.

Figura 05: Fluxograma do procedimento



Fonte: Autor (2019).

O tratamento foi mantido em agitação contínua por dez dias. Após, foi sulfitado elevando-se o anidrido sulfuroso para 150 mg.L^{-1} de total com pelo menos 50 mg.L^{-1} deste no estado livre.

Diferentes doses desse extrato foram então adicionadas ao vinho, originando os seguintes tratamentos:

- **T1:** Adição de 1% da *battonage* sobre o volume total do vinho;
- **T2:** Adição de 2% da *battonage* sobre o volume total do vinho;
- **T3:** Adição de 3% da *battonage* sobre o volume total do vinho.

Como mencionado anteriormente, com a finalidade de comparar a vantagem da adição das borras ao vinho, o estudo contou com um vinho testemunha a partir da remoção das borras finas mediante *trasfegas*.

3.5 Análises físico-químicas e sensorial

3.5.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas dos vinhos resultantes foram realizadas no Laboratório de Enoquímica do IFRS – *Campus* Bento Gonçalves/RS. Foram as seguintes:

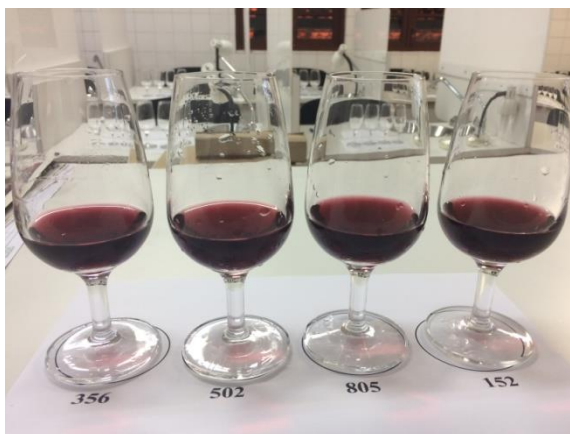
- **Acidez Total:** A acidez total foi mensurada por neutralização dos ácidos tituláveis até pH 8,2 com solução de hidróxido de sódio 0,1N e fenolftaleína como indicador (BRASIL, 1986).
- **Acidez volátil:** Para a determinação da acidez volátil usou-se o Destilador Super D.E.E. Gibertini®, que realiza a separação dos ácidos voláteis através do vapor de água, sendo feita a titulação do destilado para a determinação efetiva da acidez volátil no TituladorQuickAnalyzer®.
- **Extrato seco:** Foi obtido pelo método densimétrico, com auxílio dos equipamentos eletrônicos destilador e balança hidrostática Gibertini que utiliza a fórmula de Tabarié para emissão do resultado no display da balança hidrostática. Esse método segue o REGULAMENTO N°2676/1990, de 17 de novembro de 1990 da Comunidade Europeia.
- **Densidade:** Foi obtido em balança hidrostática Gibertini que expressa o valor da densidade a 20°C. Esse método segue o REGULAMENTO N°2676/1990, de 17 de novembro de 1990 da Comunidade Europeia.
- **Características cromáticas: Densidade óptica (D.O) 420 nm, 520 e 620 nm:** As densidades ópticas D.O. 420, 520 e 620 nm foram obtidas por análise espectrofotométrica em um espectrofotômetro UV/VIS marca PG Instruments T92 com cubeta de 1 mm de percurso óptico. A Intensidade de cor é a soma dos três índices e a tonalidade é a relação entre o índice 420 nm e 520 nm (ZOECKLEIN, 2001).
- **Grau alcoólico:** A quantificação do grau alcoólico ocorreu mediante destilação eletrônica do etanol e seus análogos e medição da densidade do destilado alcoólico a 20 °C em balança hidrostática da marca Gibertini (BRASIL, 1986). O uso de equipamentos eletrônicos está regulamentados pela OIV (Office International de la Vigne et du Vin) “Recueil des méthodes internationales d’analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la fraction aromatique des boissons” e pelo Regulamento CEE 2676/90.

3.5.2 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada pela aplicação do teste de ordenação, com o intuito de

comparar as diferenças das amostras, julgando a intensidade de um atributo (Figura 06). O atributo avaliado neste caso foi a estrutura do vinho, do mais leve (menos estruturado) para o mais encorpado (mais estruturado). O teste foi aplicado para um grupo de 44 pessoas selecionadas, sendo a maioria desses julgadores estudantes de Viticultura e Enologia.

Figura 06: Vinhos resultantes do experimento avaliados pelo teste de ordenação



Fonte: Autor (2017).

Este teste é utilizado para verificar se as amostras diferem entre si, mas não determina o grau de diferença que existe entre elas (DUTCOSKY, 2005). O teste de ordenação não tem o caráter quantitativo e apesar de classificar as amostras em ordem crescente de um atributo, não quantifica a intensidade como em um método descritivo. O teste perde eficiência com o aumento do número de amostras, pois é bastante sujeito ao efeito *carry-over* e à fadiga sensorial dos provadores. Para avaliação de aroma, sabor e textura, recomenda-se 3 a 4 amostras apenas (LAWLESS, HEYMANN, 1999).

Segundo Venturuni (2011), a norma NBR 13170, da Associação Brasileira de Normas Técnicas, utiliza a Tabela de Newel e MacFarlane (anexo 02) para analisar os dados da ordenação. O autor descreve ainda como ocorre o teste:

- Os dados de ordenação de cada provador (linhas) para cada amostra/coluna são tabulados.
- As amostras recebem um valor correspondente à posição que ocuparam, de acordo com o julgamento de cada provador. Assim, se a amostra ocupou a quarta posição na ordenação, recebe o valor 4; se ocupa a terceira, recebe 3; 2, na segunda posição, e 1, se foi ordenada em primeiro posto.

- Somam-se as ordens das amostras, obtendo-se os totais de ordenação.
- Com o número de amostras testadas, obtém-se da Tabela de Newel e MacFarlane a diferença crítica entre os totais de ordenação para estabelecer diferenças estatisticamente significativas entre eles, a 5% ou a 1%. Se a diferença entre duas amostras se dá por um número igual ou maior ao valor tabelado, em módulo, conclui-se que elas diferem ao nível de significância testado.

3.6 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar e na constatação de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta sessão estão apresentados os valores e discussões referentes às características físico-químicas, espectrofotométricas e análise sensorial dos vinhos.

4.1 Características físico-químicas dos vinhos

Os parâmetros físico-químicos dos vinhos resultantes do experimento estão dispostos na tabela 01.

Tabela 01: Valores médios dos parâmetros físico-químicos avaliados nos vinhos tintos Montepulciano com e sem adição de borra fina após tratamento enzimático

Parâmetros físico-químicos	AMOSTRAS			
	T	T1	T2	T3
Álcool (% vol/vol)	13,35 ^a	12,88 ^a	13,35 ^a	12,92 ^a
Extrato Seco Total (g.L ⁻¹)	26,9 ^a	26,5 ^a	26,5 ^a	26,6 ^a
Densidade (g.L ⁻¹)	0,993 ^a	0,9933 ^a	0,9928 ^a	0,9933 ^a
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	74 ^a	65,95 ^a	69,94 ^a	68 ^a
Acidez Volátil (meq.L ⁻¹)	11 ^a	10,5 ^a	11 ^a	10,5 ^a

T: Testemunha; T1: Tratamento 1%; T2: Tratamento 2%; T3: Tratamento 3%. As médias seguidas por mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey à 5% de significância ($p < 0,05$).

Fonte: Autor (2017).

De acordo com os resultados obtidos, é notável que todos os vinhos se apresentam dentro dos padrões de qualidade e identidade regida pela legislação vigente (BRASIL, 2018).

Como exposto na tabela 01, não houve diferença significativa dos resultados do vinho testemunha em relação aos tratamentos. Garrido (2011), ao analisar battonage na fermentação e conservação de vinhos, esboça que os valores mantiveram-se semelhantes entre si. O mesmo fato foi encontrado nos estudos de Leite (2015) que ao empregar manoproteínas durante a maturação do vinho, as características físico-químicas não se diferenciaram estatisticamente.

Em relação ao teor alcoólico, os valores ficaram entre 12,88 e 13,35 % v/v, respectivamente dos tratamentos T1 e T2. Tais valores são resultado da correção do açúcar realizado no mosto, ficando assim dentro da legislação brasileira, a qual define 8,6 % v/v como valor mínimo e 14,0 % v/v como máximo para vinhos finos (BRASIL, 2018).

Os tratamentos e o vinho testemunha não diferiram estatisticamente quanto ao valor de

extrato seco total, apresentando valores entre 26,5 g.L⁻¹ a 26,9 g.L⁻¹. Considerando que para a cultivarem estudo, espera-se uma estrutura de vinhos para serem consumidos jovens e leves, com taninos macios, os valores de extrato seco estão coerentes com essa proposta e atendem à legislação brasileira que preconiza um valor mínimo de 21,0 g.L⁻¹ para vinhos tintos (BRASIL, 2018). Esses resultados condizem com os dados obtidos por Gabbardo (2009) onde o teor de extrato seco variou de 27,59 a 27,77 g.L⁻¹ em vinhos Cabernet Sauvignon elaborados com manoproteínas.

Sobre a acidez total do vinho em análise, expresso em ácido tartárico, os valores variaram de 65, 95 meq.L⁻¹ a 74 meq.L⁻¹, não diferindo estatisticamente entre si e estando de acordo com a legislação que prevê valores de 40 meq.L⁻¹ a 130 meq.L⁻¹ (BRASIL, 2018).

Para acidez volátil, foram encontrados valores entre 10,5 e 11 meq/L⁻¹, respeitando os padrões indicados pela Instrução Normativa de nº 14, de 08 de fevereiro de 2018, o qual prevê o valor máximo de 20 meq/L⁻¹. Esses valores indicam a boa sanidade do vinho que, mesmo com operações adicionais de agitação constante não apresentou indícios de acetificação.

4.2 Características cromáticas

Os dados referentes às características cromáticas dos vinhos testemunha e tratamentos estão descritos na tabela 02.

Tabela 02: Valores médios das características cromáticas avaliadas nos vinhos tintos Montepulciano com e sem adição de borra fina após tratamento enzimático

Características cromáticas	Amostras			
	T	T1	T2	T3
420 nm	1,57 ^b	5,36 ^a	2,87 ^b	2,75 ^b
520 nm	1,73 ^b	5,96 ^a	3,8 ^b	3,31 ^b
620 nm	0,36 ^b	0,59 ^b	1,34 ^a	1,35 ^a
IC	3,66 ^b	11,91 ^a	8,01 ^a	7,41 ^a
Tonalidade	0,90751 ^a	0,89933 ^a	0,75526 ^b	0,83082 ^a

Fonte: Autor (2017).

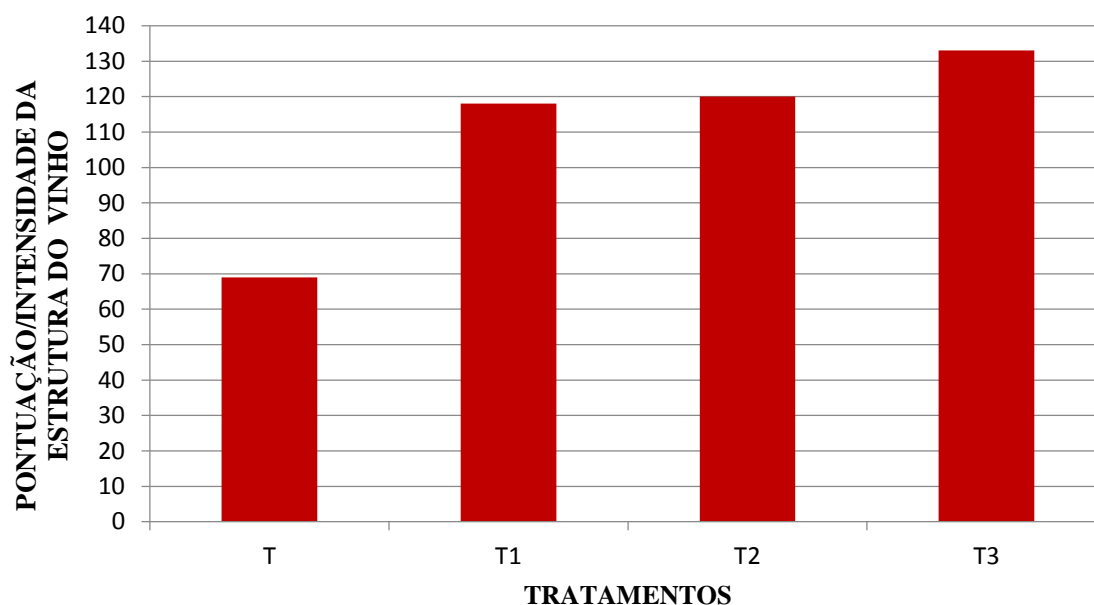
Pode-se perceber que a intensidade corante e as colorações vermelha, amarela e violácea foram maiores nos vinhos que receberam a borra.

Quando se produz vinhos tintos em contato com as borras finas se consegue uma melhora na estabilidade da matéria corante, já que os polissacarídeos atuam como colóides protetores e ocorre uma interação com os taninos e antocianinas, prevenindo sua degradação e precipitação (ESCOT *et al*, 2001; RIOU *et al*, 2002). Segundo estudos recentes os vinhos sobre borras desenvolvem um efeito protetor sobre a concentração de antocianinas monoméricas (PALOMERO *et al*, 2007).

4.3 Análise sensorial

Os resultados do teste de ordenação (anexo 01) estão apresentados na Figura 07. A pontuação final foi obtida conforme o item 3.5 correspondente da soma dos testes.

Figura 07: Pontuações obtidas para cada tratamento após teste de ordenação.



Fonte: Autor (2017).

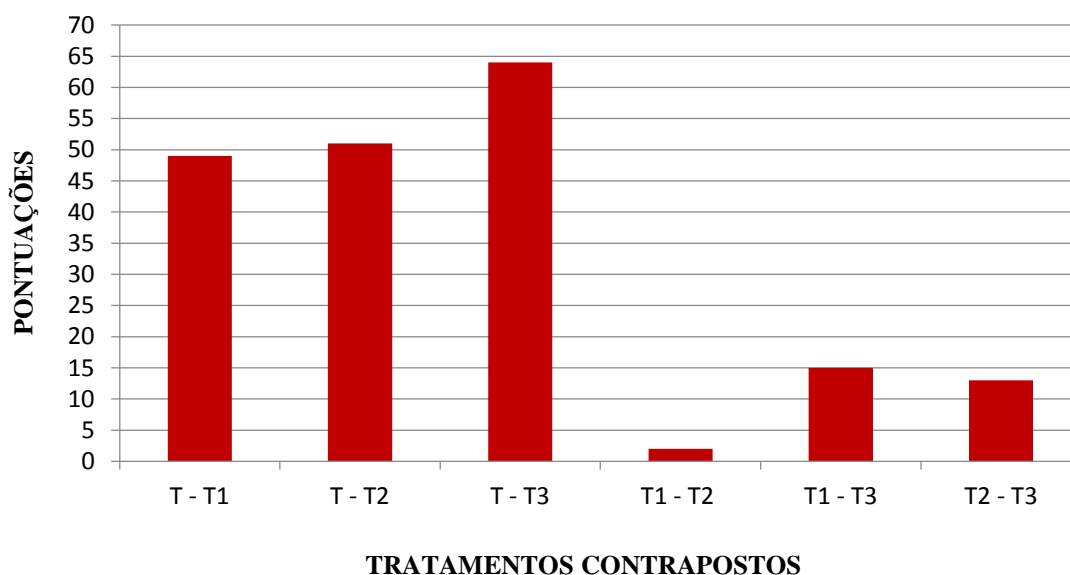
Ao observar a Figura 07, percebe-se que ambos os tratamentos realizados com a borra fina atribuem uma maior estrutura e complexidade ao vinho. Os julgadores foram capazes de

perceber uma maior intensidade na sua estrutura para o tratamento T3 (3% da borra adicionada). Essa percepção foi seguida pelo tratamento T2 (2% da borra adicionada) em seguida pelo tratamento T1 (1% da borra adicionada) e por fim o vinho testemunha T (vinificação tradicional). Em razão disso, é perceptível uma diferença crescente significativa referente aos tratamentos em que conteve o contato das borras, associando que quanto maior for o percentual de borras, maior será a sua estrutura, aumentando a sua complexação.

Para uma expressão de diferenças estatisticamente significativas em nível de 5% as pontuações das amostras foram confrontadas (subtraídas) entre si. Após obtenção da diferença entre as contraposições, verificou-se na Tabela de Newel e MacFarlane (Anexo 2) se houve ou não variação estatística.

Segundo Gabbardo (2009), a manutenção das borras finas durante a maturação de vinho resultou numa melhora da qualidade sensorial do vinho, notadamente pela diminuição da adstringência, provavelmente resultante da complexação dos polifenóis.

Figura 08: Comparação dos tratamentos pelo teste de ordenação



Fonte: Autor (2017).

A verificação do teste compreende se ocorreu uma diferenciação entre amostras de um mesmo grupo (tratamentos) com a amostra testemunha (T). Pela Tabela de Newel e MacFarlane, (anexo 02) obteve-se que a pontuação da subtração dos pontos analisados deve ser igual ou

superior a 42 para ser considerado que houve diferença significativa.

Segundo a figura 06, o vinho testemunha (T) diferiu dos tratamentos (T1, T2 e T3), mas os tratamentos não diferiram entre si.

Vários estudos foram realizados para determinar os efeitos sensoriais em vinhos, assim como os atributos relacionados ao mesmo. Assim como uma diminuição na intensidade da adstringência também foi observada (VIDAL *et al.*, 2004; CARVALHO *et al.*, 2006). Neste sentido, as manoproteínas interagem com os compostos fenólicos, portanto pode diminuir a adstringência e amargor dos taninos, assim melhoram a percepção organoléptica, aperfeiçoando as sensações de corpo e volume em boca.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, conclui-se preliminarmente que os vinhos que mantiveram contato com as borras aportaram maior estrutura quando comparado à testemunha. No aspecto de coloração, os tratamentos com adição da borra fina tratada enzimaticamente promoveram aumento da coloração vermelha comparando com o vinho testemunha, e isso foi perceptível na análise sensorial.

Além do mais, o estudo demonstrou que as borras de fermentação são um recurso enológico de grande valia, pois se complexam com os taninos diminuindo a capacidade de reação com as proteínas da saliva, resultando com um ganho de volume de boca. Em razão disso, com o uso dessa metodologia, pode-se alcançar o objetivo de produzir vinhos com maior intensidade de cor.

Por fim, de maneira geral, as características sensoriais dos vinhos em estudo foram superiores na qualidade. Assim, espera-se que com o desenvolvimento da pesquisa e a apresentação dos resultados obtidos e discutidos auxiliem para futuros estudos relacionados ao tema.

6 REFERÊNCIAS

AGUILAR, U. B.; FRANCOIS, J. M. **A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation.** Lett. Appl. Microbiol. 2003, n.37, p.268–274.

BERTRAND, A *et al.*,. **Produits de traitement et Auxiliaires d'élaboration des Moûts et des Vins.** Bordeaux, Éditions Féret, 2000, p.271.

BRASIL, Ministério do Estado Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 14, de 08 de Fevereiro de 2018. Estabelece a Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho e Derivados da Uva e do Vinho, **Diário Oficial da União.** Brasília, 2018, Seção I.

CALÒ, A.; SCIENZA, A.; COSTACURTA, A. **Vitigni d'Italia.** Bologna: Edagricole, 2006, p. 919.

CARVALHO, E *et al.*,. **Influence of wine pectic polysaccharides on the interactions between condensed tannins and salivary proteins.** J. Agric. Food Chem. 2006, n.54, p. 8936–8944.

CARDOSO, A. D. **O vinho da uva à garrafa.** Âncora Editora, p. 389-390, 2007.

CHARPENTIER, C. *et al.*,. **Effet colloïde protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'un vin modèle.** Connaissance de La Vigne et du Vin, 27, 13–22, 1993.

DOCOSKY, T, WILLIAMS, P, MOUTOUNET, M E PELLERIN, P. **Les polysaccharides du vin bulletin de l'O.I.V.** n. 73, 2000, p. 785-792.

DUTCOSKY, SILVIA DEBONI. **Análise sensorial de alimentos.** Champagnat, Curitiba, 2005, p.239.

ESCOT S, FEUILLAT M., DULAU L, CHARPENTIER C.. **Release of polysaccharides by yeasts and influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency.** Aust. J. Grape and Wine Res. n.7, p.53-156, 2011.

GABBARDO, M. **Borras finas e manoproteínas na maturação de vinho tinto Cabernet Sauvignon.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós- Graduação em Tecnologia de Bebidas, Universidade Federal de Pelotas, RS, 62f, 2009.

GALLICE, W. C. **Caracterização do Potencial Antioxidante de Vinhos e Quantificação de Fenóis e Trans-Resveratrol Utilizando Técnicas Cromatográficas e Espectroscópicas Multivariadas.** Curitiba, p. 31, 2010

GARRIDO, G. S. **Vinificação de uvas brancas com fermentação e conservação em barrica. Aplicação de dois sistemas de Bâtonnage .** Tese de Doutorado. ISA / UTL, 2011.

GIL, C. A. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa.** 4º Edição. Editora Atlas S.A. São Paulo,

p. 41-44, 2010.

GIOVANINNI, E.; MANFROI, V. **Viticultura e Enologia: elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. Bento Gonçalves:IFRS, p. 344, 2009.

HASLAM, E. **In vino veritas: oligomerieprocyanidins and the ageing of red wines**, 1980.

HIDALGO TOGORES, J. **En Tratado de enologia**. EdicionesMundi - Prensa: Madrid, Espana, 2003.

HUMBERT-GOFFARD, A.; SAUCIER, C.; MOINE-LEDOUX, V.; CANAL-LLAUBÈRES, R. M.; DUBOURDIEU, D.; GLORIES, Y. **Enzymeand Microbial Technology**, n. 34, p. 537– 543, 2004.

KEEVIL, S. *et al.*; **Vinhos do mundo todo**. Rio de Janeiro:Zahar, 2006.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principals as practices**.Gaitherburg: Aspen, p. 827, 1999.

LEITE, A. F. **Emprego de manoproteína na maturação de vinho tinto'merlot'da serra gaúcha**.Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Pampa, 2015.

MACNEIL, K. **A Bíblia do Vinho**. 4. edição. Rio de Janeiro: Ediouro, 2003.

MORATA, A *et al.*,. **Crianza sobre lías, chips y microoxigenación, utilización conjunta enel envejecimiento de vinos tintos**. Ventajas del uso de levaduras seleccionadas. Enólogos, n. 37, 2005.

PALOMERO, F *et al.*,. **Conventional and enzyme-assisted autolysis during ageing over lees in red wines: Influence on the release of polysaccharides from yeast cell walls and on wine monomeric anthocyanin content**. FoodChemistry, n. 105, p. 838–846, 2007.

PATO, O. **O vinho sua preparação e conservação**, 8ª ed., Livraria Clássica Editora: Lisboa, Phytochemistry, v. 19, p. 2577, 1988.

RAUSCEDO, V. **Catálogo geral das castas e dos clones de uva de vinho e de mesa**. Itália, 2007.

RIBÉREAU-GAYON, *et al.*,. **Tratado de enología: Microbiologia del vino, Vinificaciones**. EmisferioSur S.A., Buenos Aires, 2003.

RIOU, V.; *et al.*,. **Aggregation of grape seed tannins in model wine-effect of wine polysaccharides**. Food Hydrocoll., n. 16, p. 17–23, 2002.

SALMON, J. M. C. *et al.*,. **Oxygen consumption by wine lees: impact on lees integrity during win e ageing**. Foodchemistry, 2000.

SILVA, L. M.L. R.d. **Caracterização dos subprodutos da vinificação**. R.d. I.P.d. Viseu,

2003.

SILVA, P. B. **Alternativas para diminuição da adstringência em vinho cabernetsauvignon da campanha gaúcha.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Pampa, 2017.

TRIONE, D.; MARTINEZ A. **Elevagesur lies desvinsrouges.** Revista Oenologues, n. 101,p. 19-21, 2001.

VENTURINI,W. G. F. **Indústria de Bebidas: inovação, gestão e produção.**1º Edição, Editora Edgard Ltda, p. 536, 2011.

VIDAL, S. *et al.,.* **Effetcolloïdeprotecteur d'extraits de parois de levuressurlastabilitétartrique d'unvinmodèle.** *Connaissance de laVigne et duVin*, n. 27, p. 13–22, 1993.

VIDAL, S. *et al.,.* **The polysaccharides of red wine: Total fractionation and characterization.** *Carbohydr Polym*, n. 54, p. 439–447, 2003.

VIDAL, S. *et al.,.* **The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium.** *Food Chem.* n. 85, p. 519–525, 2004.

ZAMORA, F. **Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos.** 1.ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2003.

ZOECKLEIN, B. W. *et al.,.* **Análisis y producción de vino.** Zaragoza: ACRIBIA, p. 613, 2001.

Anexo 01: Ficha de avaliação do teste de ordenação

TESTE DE ORDENAÇÃO	
Nome: _____	Sexo: ____ Idade: ____ Data: _____
Avalie a estrutura do vinho de cada uma das amostras e ordene-as do mais leve (menos estruturado) para o mais encorpado (mais estruturado).	
_____	_____
- estrutura	+ estrutura
Prove as 4 amostras e indique a sua preferencia: _____	
Comentários:	

Fonte: Autor (2017).

Anexo 02: Tabela de Newel e MacFarlane

Nº de julgamentos	nº de amostras ou tratamentos									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
5	8	11	14	17	21	24	27	30	34	37
6	9	12	15	19	22	26	30	34	37	42
7	10	13	17	20	24	28	32	36	40	44
8	10	14	18	22	26	30	34	38	43	47
9	10	15	19	23	27	32	36	41	46	50
10	11	15	20	24	29	34	38	43	48	53
11	11	16	21	25	30	35	40	45	51	56
12	12	17	22	27	32	37	42	48	53	58
13	12	18	23	28	33	39	44	50	55	61
14	13	18	24	29	34	40	46	52	57	63
15	13	19	24	30	36	42	47	53	59	66
16	14	19	25	31	37	42	49	55	61	67
17	14	20	26	32	38	44	50	56	63	69
18	15	20	26	32	39	45	51	59	65	71
19	15	21	27	33	40	46	53	60	66	73
20	15	21	28	34	41	47	54	61	68	75
21	16	22	28	35	42	49	56	63	70	77
22	16	22	29	36	43	50	57	64	71	79
23	16	23	30	37	44	51	58	65	73	80
24	17	23	30	37	45	52	59	67	74	82
25	17	24	31	38	46	53	61	68	76	84
26	17	24	32	39	46	54	62	70	77	85
27	18	25	32	40	47	55	63	71	79	87
28	18	25	33	40	48	56	64	72	80	89
29	18	26	33	41	49	57	65	73	82	90
30	19	26	34	42	50	58	66	75	83	92
31	19	27	34	42	51	59	67	76	85	93
32	19	27	35	43	51	60	68	77	85	95
33	20	27	36	44	52	61	70	78	87	96
34	20	28	36	44	53	62	71	79	89	98
35	20	28	37	45	54	63	72	81	90	99
36	20	29	37	46	55	63	73	82	91	100
37	21	29	38	46	55	64	74	83	92	102
38	21	29	38	47	56	65	75	84	94	103
39	21	30	39	48	57	66	76	85	95	105
40	21	30	39	48	57	67	76	86	96	106
41	22	31	40	49	58	68	77	87	97	107
42	22	31	40	49	59	69	78	89	98	109
43	22	31	41	50	60	69	79	89	99	110
44	22	32	41	51	60	70	80	90	101	111
45	23	32	41	51	61	71	81	91	102	112
46	23	32	42	52	62	72	82	92	103	114
47	23	33	42	52	62	72	83	93	104	115
48	23	33	43	53	63	73	84	94	105	116
49	24	33	43	53	64	74	85	95	106	117
50	24	34	44	54	64	75	85	95	107	118
55	25	35	46	56	67	78	90	101	112	124
60	26	37	48	59	70	82	94	105	117	130
65	27	38	50	61	73	85	97	110	122	135
70	28	40	52	64	76	88	101	114	127	140
75	29	41	53	66	79	91	105	118	131	145
80	30	42	55	68	81	94	108	122	136	150
85	31	44	57	70	84	97	111	125	140	154
90	32	45	58	72	86	100	114	129	144	159
100	34	47	61	76	91	105	121	136	151	167

Fonte: ABNT (1994).