

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

EFEITO DA MISTURA DE CLARIFICANTES SOBRE A
CINÉTICA FERMENTATIVA DE DIFERENTES MOSTOS
DESTINADOS A ELABORAÇÃO DE ESPUMANTES

Angelo GAVA

Bento Gonçalves, outubro de 2019

Angelo GAVA

EFEITO DA MISTURA DE CLARIFICANTES SOBRE A CINÉTICA FERMENTATIVA DE DIFERENTES MOSTOS DESTINADOS A ELABORAÇÃO DE ESPUMANTES

Monografia apresentada junto ao Curso 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. Dr. Evandro Ficagna

Bento Gonçalves, outubro de 2019

Angelo GAVA

EFEITO DA MISTURA DE CLARIFICANTES SOBRE A CINÉTICA FERMENTATIVA DE DIFERENTES MOSTOS DESTINADOS A ELABORAÇÃO DE ESPUMANTES

Monografia apresentada junto ao Curso 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. Dr. Evandro Ficagna

Aprovada em outubro, 2019.

Prof. Dr. Evandro Ficagna

Profa. Dr.^a Luciana Pereira Bernd

Profa. M.^a Luciana Moreira de Souza

Agradeço...

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, em especial ao Campus Bento Gonçalves e ao curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia.

Ao professor e amigo Evandro Ficagna, pela valiosa orientação, confiança e ensinamentos ao longo de toda minha trajetória.

Aos meus amados pais e meu irmão que sempre me apoiaram nas mais longas caminhadas.

A minha namorada por estar sempre junto a mim.

A banca que aceitou prontamente o meu convite.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Em especial, ao Bruno Cisilotto que não mediu esforços para a realização deste.

Meu muito obrigado!

“Un gran vino requiere de un loco para hacerlo crecer, un hombre sabio para velar por él, un poeta lúcido para elaborarlo, y un amante que lo entienda”

Salvador Dalí

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito combinado de três diferentes clarificantes enológicos (carvão, bentonite e PVPP) sobre a cinética fermentativa de dois mostos destinados a elaboração de vinho base para espumante, utilizando o delineamento simplex centroid. Os parâmetros cinéticos foram obtidos matematicamente a partir da equação dos cinco parâmetros logísticos (5PL), modelada pela produção de gás carbônico (CO₂) em função do tempo. A aplicação combinada dos três clarificantes contribui positivamente para a melhora da cinética fermentativa, diminuindo o tempo de fase de latência (fase lag) e aumentando a taxa máxima de produção de CO₂ (V_{max}). A produção máxima de CO₂ não apresentou diferença entre os tratamentos e, o tempo em que ocorre a V_{max} foi apenas afetado pela bentonite. As proporções otimizadas dos clarificantes foram semelhantes para os dois mostos, sendo que, para ambos, a presença de 50 % de carvão na mistura proporcionou melhora na cinética fermentativa.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the combined effect of three different oenological clarifiers (charcoal, bentonite and PVPP) on the fermentative kinetics of two musts for making base wine for sparkling, using the simplex centroid design. The kinetic parameters were obtained mathematically from the equation of the five logistic parameters (5PL), modeled by the production of carbon dioxide (CO₂) as a function of time. The combined application of the three agents positively contributes to the improvement of fermentative kinetics, decreasing lag phase time and increasing the maximum CO₂ production rate (V_{max}). The maximum CO₂ production showed no difference between treatments and the time in which V_{max} occurs was only affected by bentonite. The optimized proportions of the additives were similar for both musts, and for both, the presence of 50 % charcoal in the mixture provided an improvement in the fermentation kinetics.

Palavras-chave: 5PL. V_{max} . Parâmetros cinéticos. Carvão. PVPP.

Keywords: 5PL. V_{max} . Kinetic parameters. Charcoal. PVPP.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental simplex centroid para 3 compostos. PVPP – Polivinilpirrolidona.	19
Figura 2 - Gráficos de contorno da mistura e gráficos de dispersão ajustados dos valores experimentais e previstos para o Tempo da Fase Lag (horas) (a) e a taxa máxima de fermentação ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) (b) no mosto Cuvée, em função de efeitos significativos de interação ($p < 0,05$).	24
Figura 3 - Gráficos de contorno da mistura e gráficos de dispersão ajustados dos valores experimentais e previstos para o Tempo da Fase Lag (horas) (a) e a taxa máxima de fermentação ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) (b) no mosto Taille, em função de efeitos significativos de interação ($p < 0,05$).	25
Figura 4 - Gráficos obtidos através da metodologia de Derringer e Suich (1980). Otimização das condições de mistura dos clarificantes para maximizar a V_{max} e minimizar o Tempo de Fase Lag dos mostos Cuvée (a) e Taille (b).	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Práticas de manejo adotadas na variedade Merlot próximas a data de colheita.....	13
Tabela 2 - Ciclo de prensagem, pressão e tombamento, programado e executado na prensa pneumática.	14
Tabela 3 - Frações de mosto obtidas após ciclos de prensagem.	14
Tabela 4 - Características físico-químicas das diferentes frações obtidas. ^a	15
Tabela 5 - Matriz do delineamento experimental simplex centróide com os pseudocomponentes e as concentrações reais para mistura de três clarificantes. ...	18
Tabela 6 - Resultados para parâmetros cinéticos no mosto Cuvée e Taille.	21
Tabela 7 - Modelos, R^2 , R^2 ajustado e valores de probabilidade para os modelos finais reduzidos (proporção do componente) da taxa máxima de fermentação (V_{max}) e tempo de fase de latência para dois mostos (Cuvée e Taille).....	22
Tabela 8 - Coeficientes de regressão dos modelos ajustados para V_{max} e Tempo de fase Lag dos mostos Cuvée e Taille na adição de uma mistura contendo carvão vegetal, bentonite e PVPP.....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1. RECEBIMENTO DAS UVAS	13
2.2. Prensagem das uvas.....	13
2.3. TRATAMENTOS PRÉ FERMENTATIVOS	14
2.4. CLARIFICANTES ENOLÓGICOS	15
2.5. TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	16
2.6. PARAMETROS CINÉTICOS	16
2.7. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTÁTISTICAS.....	17
3. RESULTADOS	20
3.1. TESTE DE MÉDIAS E ANÁLISE DO AJUSTE DO MODELO	20
3.2. INTERPRETAÇÃO DOS GRÁFICOS DE CONTORNO	22
3.3. ANÁLISE DE REGRESSÃO DO MODELO.....	25
3.4. OTIMIZAÇÃO DA MISTURA	26
4. DISCUSSÕES	28
5. CONCLUSÕES	30
6. REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

Em 2018 a produção de vinhos espumantes no Rio Grande do Sul foi superior a 11 milhões de litros (UVIBRA, 2019), sendo que maior parte desta produção ocorre na Serra Gaúcha. Isto deve-se a região apresentar uma potencialidade para elaboração de espumantes de qualidade, especialmente pela alta altitude e localização geográfica que fazem a região apresentar características climáticas que resultam em uma maturação das uvas adequada para este fim, com menor teor de açúcares e alta acidez (MENEGUZZO, 2014).

As uvas destinadas para elaboração do vinho base para espumante possuem características de maturação diferenciadas, sendo que o mosto extraído destas apresenta baixo pH (2,9 - 3,2), alta acidez e um teor de sólidos solúveis (°Brix) em torno de 18 a 20 % (ZOECKLEIN, 1998; KEMP et al., 2015). A obtenção do mosto, envolve a prensagem direta (com engace) destas uvas, proporcionando uma modificação da composição do mesmo ao longo do processo, influenciando na concentração de componentes tóxicos para a levedura, como resíduos de produtos fitossanitários e polifenóis, que afetam negativamente o decorrer da fermentação (CASTRO-SOBRINO et al., 2019; KOSEL et al., 2019; RESTREPO et al., 2019; RUSSO et al., 2019) e a prensagem resulta em frações de mostos com diferentes composições e características físico-químicas (JÉGOU et al., 2017; KERSLAKE et al., 2018). Além disso, a clarificação deste mosto diminui a concentração de vitaminas e nutrientes, empobrecendo o meio e aumentando o estresse da levedura no momento da fermentação (JACKSON, 2014; SCHMIDT e HENSCHKE, 2015; DUC et al., 2017).

Na enologia moderna é atual objetivo a procura por práticas adequadas que evitem problemas durante o processo de transformação do mosto em vinho base, como uso de aditivos enológicos (KEMP et al., 2015). Uma das alternativas recentes para remoção destes compostos tóxicos presentes no mosto é a adição de clarificantes que permaneçam no meio durante a fermentação, como carvão ativado, bentonite e a polivinilpirrolidona [PVPP] (NICOLINI et al., 2016; NICOLINI et al., 2017; DOULIA et al., 2017).

O carvão é utilizado na produção de vinhos e destilados desde o início do século passado, sendo empregado principalmente pela sua característica adsorvente (SINGLETON e DRAPER, 1962). É aplicado em diversos processos industriais, como na remoção de compostos tóxicos presentes em águas e gases (SILVA et al., 2011). Diversas pesquisas vêm focando na segurança alimentar do vinho e no poder de remoção de resíduos de agrotóxicos, como fungicidas e inseticidas, demonstrando que o carvão remove uma série de compostos indesejáveis (RUEDIGER et al., 2004; FERNÁNDEZ et al., 2005; OLIVA et al., 2007; SEN et al., 2012; NICOLINI et al., 2016; DOULIA, et al., 2017; DOULIA, et al., 2018). Além disto, estudos indicaram sua capacidade de remover inibidores da atividade fermentativa das leveduras, como os ácidos acético e fórmico, e o furfural (MARTON et al., 2006; KIM et al., 2013). Quando utilizado em doses baixas (50 mg L^{-1}), não afeta negativamente a qualidade sensorial do vinho, entretanto, auxilia na desintoxicação do meio, removendo compostos que inibem as leveduras, favorecendo uma atividade fermentativa mais rápida e equilibrada (NOGUEROL-PATO et al., 2016; NICOLINI et al., 2017).

A bentonite, nome comercial de um mineral de argila natural, possui como principal componente a montmorilonita. Seu uso é universalmente aceito para a adsorção de proteínas em vinhos (BLADE e BOULTON, 1988) e vários outros constituintes catiônicos solúveis, principalmente devido à ação dessas argilas de troca iônica. Além disso, outras funções da indústria são estudadas, como seu potencial para obter nano-compostos poliméricos (PAIVA et al., 2012). Togores (2018) atribui destaque a bentonite pela sua ação adsorvente de compostos inibidores da fermentação, além disso, Vincenzi et al. (2015) observaram decréscimo nos teores de ácidos graxos, como o dodecanóico e decanóico. Estudos recentes em vinho branco indicam este agente como responsável pela redução do teor de 10 pesticidas, resultando em uma média de cerca de 8 % de remoção sobre as 23 moléculas estudadas (DOULIA et al., 2017).

A polivinilpirrolidona, PVPP, é um polímero de vinilpirrolidona, de alto peso molecular (cerca de 1.000.000) e insolúvel em água. É um agente de acabamento sintético que tende a formar ligações com polifenóis monoméricos e pequenos (DONOVAN et al., 1999). O uso de PVPP é sempre acompanhado pela diminuição dos níveis de polifenóis totais, ácidos fenólicos, procianidinas, catequina, polifenóis e complexos proteicos. Seu mecanismo de adsorção de polifenóis é semelhante ao

mecanismo de floculação da gelatina e do tanino, com formação de ligações de hidrogênio entre os grupos fenólicos e oxigênio do grupo amina do anel pirrolidona (TOGORES, 2018). Sims et al. (1995), afirmam que o PVPP normalmente atua por ligação a compostos fenólicos com menor peso molecular. Doulia et al. (2017) atribuem a este clarificante a ação desintoxicante de uma série de pesticidas, resultando em uma remoção de 17,3 % dos pesticidas estudados com uma aplicação de 200 mg L⁻¹.

Alguns estudos já observaram que existe uma melhora no processo fermentativo das leveduras quando carvão ativado e bentonite estão presentes no mosto (WEISS e BISSON, 2002; POCOCK et al., 2011; NICOLINI et al., 2017), no entanto, estas pesquisas não tinham por objetivo de estudar este efeito. Desta forma, apesar de vários trabalhos envolvendo estes aditivos, até o momento não há estudos publicados avaliando o efeito destes três agentes, combinados ou isolados, sobre a cinética fermentativa de mosto de uvas.

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes clarificantes enológicos, isolados ou combinados, sobre a cinética fermentativa de dois mostos, destinados a elaboração de vinho base para espumante. Além disso, o estudo buscou otimizar uma proporção de clarificantes que melhore a atividade fermentativa das leveduras.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. RECEBIMENTO DAS UVAS

A uva, da variedade Merlot (*Vitis vinifera*), utilizada para o experimento foi proveniente da Estação Experimental do IFRS – Campus Bento Gonçalves (29°03'33.8"S 51°34'40.2"W, 530m), cujos tratamentos fitossanitários são controlados e conhecidos, conforme Tabela 1. Optou-se por utilizar a variedade Merlot pela adaptação ao clima e solo da Serra Gaúcha, representando significativa parcela das uvas viníferas processadas na região (MELLO e MACHADO, 2017).

Tabela 1 - Práticas de manejo adotadas na variedade Merlot próximas a data de colheita.

Prática de Manejo	Tempo antes da colheita (dias)
Poda Seca	150
Poda verde	120
Aplicação de Metalaxyl-M + Mancozebe (3 Kg Ha ⁻¹)	60
Aplicação de Mancozebe + Cimoxanil (3.5 Kg Ha ⁻¹)	45
Aplicação de Sulfato de Cobre (10 L Ha ⁻¹)	30
Aplicação de Tebuconazol (1 L Ha ⁻¹)	30
Aplicação de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1 L Ha ⁻¹)	10

2.2. PRENSAGEM DAS UVAS

Após o recebimento das uvas, a massa de 400 Kg de uvas Merlot foi acondicionada em prensa pneumática modelo PPA9 (Enoveneta, Piazzola sul Brenta, Itália) e prensadas sobre ciclo de pressão e tombamentos controlados, representados no quadro abaixo (Tabela 2).

Tabela 2 - Ciclo de prensagem, pressão e tombamento, programado e executado na prensa pneumática.

Ciclo	Pressão (bar)	Número de tombamentos	Tempo (minutos)
1	0,0	0	-----
2	0,4	3	2,5
3	0,6	3	3,3
4	1,6	3	3,3
5	1,8	3	3,3
6	2,0	6	6,7

A separação dos mostos deu-se a partir do controle de volume de mosto extraído, com base na revisão bibliográfica efetuada (ZOECKLEIN, 1998; KEMP et al., 2015) e por meio do acompanhamento das porcentagens de mosto extraídas. De acordo com Zoecklein (1998), a primeira fração da prensagem (5 %) contém poeira e resíduos, e é frequentemente oxidada como resultado de impactos durante a colheita e transporte, desta forma, para este estudo os primeiros 20 L foram separados e descartados, restando duas frações obtidas (Tabela 3).

Tabela 3 - Frações de mosto obtidas após ciclos de prensagem.

Ordem de Prensagem	Pressão (bar)	Volume Inicial (L)	Volume Final (L)	Volume Obtido (L)	Rendimento (%)
1º (<i>Cuvée</i>)	1,12	20	210	190	52,5
2º (<i>Taille</i>)	2,00	211	250	40	62,5

Rendimento (%) = Volume Final/ massa de uva (400Kg).

2.3. TRATAMENTOS PRÉ FERMENTATIVOS

A clarificação do mosto antes da fermentação é outro ponto chave do processo, sendo uma prática recorrente com o objetivo de retirar compostos fenólicos do meio, que oxidados podem alterar drasticamente a coloração e a qualidade do produto resultante (RIZZON et al., 2000).

Para a realização do experimento foram coletados 30 L de cada fração completamente homogênea, em seguida fez-se a adição de dióxido de enxofre (SO₂) na dose de 0,05 g L⁻¹. Na sequência foi realizada a adição de enzima pectolítica *Zimopez PML* (Perdomini, San Martino Buon Albergo, Itália) na dose de 3 mL hL⁻¹ e após clarificação por 12 h a 8 °C, com auxílio de 1,5 g L⁻¹ de Sol de Sílica *Spindasol BK* (AEB Group, Brescia, Itália) seguido de 15 mL hL⁻¹ de Gelatina *Gelisol* (AEB Group, Brescia, Itália).

As características físico-químicas dos mostos utilizados no experimento são apresentadas na tabela 4. O pH foi determinado com o equipamento multiparâmetro *Edge* (Hanna Instruments, Cluj-Napoca, Romênia). A determinação da acidez total (em g L⁻¹ de ácido tartárico) foi realizada de acordo com a legislação brasileira vigente (Brasil, 2005). O conteúdo de sólidos solúveis totais (°Brix) foi determinado com refratômetro PAL-1 (Atago Brasil, Ribeirão Preto, Brasil). A determinação do conteúdo de açúcares redutores (g L⁻¹) foi realizada de acordo com a metodologia de Lane-Eynon (Brasil, 2005). A turbidez do mosto foi diretamente mensurada através de um turbidímetro nefelométrico (*model* HI 98703-02, Hanna Instruments, Cluj-Napoca, Romênia), sendo que o equipamento foi previamente calibrado com soluções padrões de formazina. A turbidez está expressa em NTU (*Nephelometric Turbidity Units*, Unidade Nefelométrica de Turbidez). O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado através da leitura direta da absorbância (280 nm) através do espectrofotômetro, modelo T92+ (PG Instruments, Lutterworth, Reino Unido) utilizando-se de uma cubeta de quartzo com 1 mm de caminho ótico, conforme metodologia da OIV (2009). Os índices colorimétricos foram mensurados através da leitura direta da absorbância (420 nm e 520 nm) através do espectrofotômetro, modelo T92+ (PG Instruments, Lutterworth, Reino Unido) utilizando-se de uma cubeta de quartzo com 10 mm de caminho ótico. As análises foram realizadas após 24 horas da clarificação do mosto.

Tabela 4 - Características físico-químicas das diferentes frações obtidas. ^a

Fração	pH	Acidez total (g L ⁻¹)	°Brix	Açúcares redutores (g L ⁻¹)	Turbidez (NTU)	IPT	420nm	520nm
1º (Cuvée)	3,18	6,45	19,4	188,5	5,58	6,24	0,146	0,113
2º (Taille)	3,54	4,02	19,4	187,3	7,22	14,59	0,375	0,423

^a Média dos valores obtidos de três repetições.

2.4. CLARIFICANTES ENOLÓGICOS

Para realizar a avaliação das combinações foram utilizados os seguintes produtos: Carvão ativado (nome comercial: Deodal, fornecido pela empresa AEB Group, Brescia, Itália) em forma de pó fino (densidade: 0,25 - 0,35 Kg L⁻¹) contendo umidade inferior a 12 % e um teor de metais pesados inferior a 2 mg Kg⁻¹; Bentonite (nome comercial: Bentogran, fornecido pela empresa AEB Group, Brescia, Itália), na forma de pó (densidade: 0,9 - 1,0 Kg L⁻¹) contendo um teor de umidade inferior a 10

%; Polivinilpolipirrolidona [PVPP] (nome comercial: Divergan F, fornecido pela empresa BASF SA, Lampertheim, Alemanha) em forma de pó fino, contendo um teor de umidade inferior a 5 % e um teor de metais pesados inferior a 10 mg Kg⁻¹.

2.5. TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

A levedura foi inoculada sobre o volume total de mosto, utilizou-se a dose de 0,25 g L⁻¹ de levedura comercial enológica *Saccharomyces cerevisiae* *vr. cerevisiae* (Zymaflore X5, Laffort, Gallargues le Montueux, França), hidratada e aclimatada por 15 minutos com água destilada a 37 °C, conforme ficha técnica. A adição dos clarificantes foi realizada na sequência, sendo que cada tratamento, em triplicata, foi realizado em recipientes contendo 0,2 L de mosto.

2.6. PARAMETROS CINÉTICOS

A fermentação foi conduzida em fermentadores de 0,4 L a 17 °C durante aproximadamente 280 h. A cinética da fermentação foi monitorada pela liberação de CO₂ (LÓPEZ et al., 2004; RENAULT, 2010; PELTIER et al., 2018; NGUELA et al., 2019). O acompanhamento foi mensurado através da perda de massa dos fermentadores a cada 8 horas. As fermentações foram consideradas concluídas quando a taxa de produção de CO₂ era menor que 0,05 g L⁻¹ h⁻¹. Os dados da cinética fermentativa tiveram seu ajuste sigmoidal não linear de acordo com a regressão logística de cinco parâmetros (5PL), apresentados abaixo na Eq. (1) (GOTTSCHALK e DUNN, 2005). As constantes (a, b, c, d e g) foram estimadas usando o utilitário *solver* do *software* Microsoft Excel®.

$$y = d + \frac{(a - d)}{\left(1 + \left(\frac{x}{c}\right)^b\right)^g} \quad (1)$$

A partir da modelagem matemática foi possível determinar diferentes parâmetros cinéticos: Tempo da fase de latência para produção de CO₂ [**Tempo de Fase Lag**] (h), taxa máxima de produção de CO₂ [**V_{max}**] (g L⁻¹h⁻¹), o tempo em que ocorre a V_{max} (T_{V_{max}}), em horas, e o Y_{max} (produção máxima de CO₂), em g L⁻¹ (ALBERTIN et al., 2013). As equações para cada parâmetro foram obtidas e

calculadas por meio de metodologia semelhante à descrita por Zwietering et al. (1990) e Longhi et al. (2017).

2.7. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTÁTISTICAS

O desenvolvimento de uma formulação envolvendo mais de dois componentes requer algumas especificidades experimentais (CORNELL, 2011). O delineamento experimental da mistura *simplex centroid* foi utilizado para avaliar o comportamento das misturas formadas por carvão ativado, bentonite e PVPP, adicionados ao mosto antes da fermentação. O delineamento para três componentes foi composto por 7 tratamentos, com três repetições no ponto central e três repetições nos demais pontos (vértices e laterais). Como tratamento controle, um tratamento adicional foi realizado em triplicata, onde o mosto passou por todos os processos similares, no entanto, sem receber nenhum agente clarificante.

Os limites superiores, doses máximas para cada aditivo nas misturas, foram estabelecidos por meio de uma revisão bibliográfica (DOULIA et al., 2017; NICOLINI et al., 2016; TOGORES, 2018) e testes preliminares, onde foram estabelecidas doses máximas de 0,050 g L⁻¹, 0,3 g L⁻¹ e 0,3 g L⁻¹ para carvão ativado, bentonite e polivinilpirrolidona (PVPP), respectivamente. As proporções em cada formulação, expressas em concentrações reais e em pseudocomponentes (BRUNS et al., 2006), são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Matriz do delineamento experimental *simplex centróide* com os pseudocomponentes e as concentrações reais para mistura de três clarificantes.

Ensaio	Ponto	Pseudocomponentes			Concentrações Reais (g L ⁻¹)		
		X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₁	X ₂
		Carvão	Bentonite	PVPP	Carvão	Bentonite	PVPP
1	Vértice 1	1,0	0,0	0,0	0,050	0,000	0,000
2	Vértice 2	0,0	1,0	0,0	0,000	0,300	0,000
3	Vértice 3	0,0	0,0	1,0	0,000	0,000	0,300
4	Lateral 1	0,5	0,5	0,0	0,025	0,150	0,000
5	Lateral 2	0,0	0,5	0,5	0,000	0,150	0,150
6	Lateral 3	0,5	0,0	0,5	0,025	0,000	0,150
7	Central	0,33	0,33	0,33	0,0167	0,100	0,100
8	Controle	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

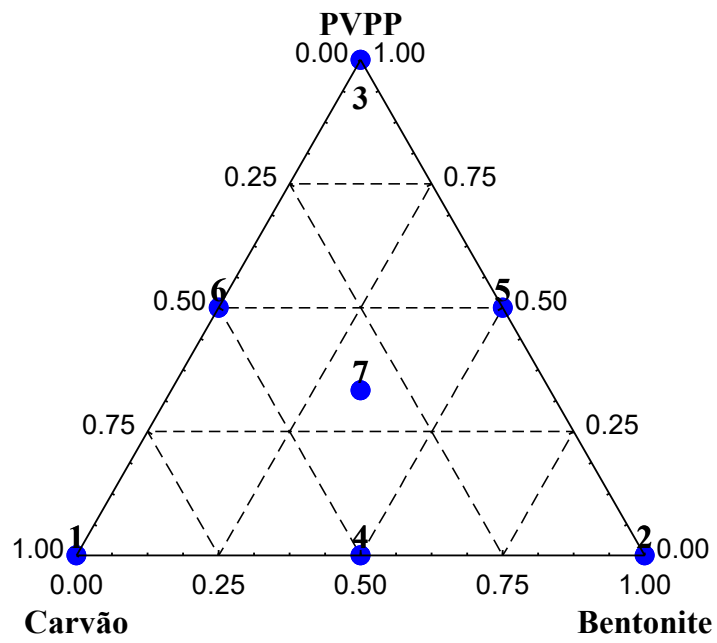
X₁ – Carvão ativado. X₂ – Bentonite. X₃ – Polivinilpolipirrolidona. X₁+X₂+X₃=1 ou 100 %.

O software *Statistica* 9.0 [StatSoft. Inc., Tulsa, EUA] (2009) foi utilizado no planejamento das misturas e na análise dos dados obtidos experimentalmente. Neste trabalho, carvão ativado, bentonite e PVPP foram representados pelas variáveis de entrada, para o sistema em estudo, designado por X₁, X₂ e X₃, respectivamente. A Figura 1 mostra o projeto experimental de 3 componentes *simplex centróide*, em que os sete círculos representam as misturas de carvão/bentonite/PVPP preparadas para obter uma superfície de resposta apropriada, usando a expressão do modelo cúbico especial (CORNELL, 2011), mostrado na Eq. (2). Neste trabalho o delineamento experimental de misturas foi adotado para obter as proporções ideais dos aditivos para otimizar o processo de fermentação.

Os modelos matemáticos ajustados a cada resposta foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para avaliar a significância (p <0,05) e o coeficiente de determinação ajustado (R² ajustado). O teste de Tukey foi utilizado para determinar diferenças significativas entre os grupos analisados. As diferenças foram consideradas significativas com p <0,05.

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i<j}^q \sum \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i<j<k} \sum \sum \beta_{ijk} x_i x_j x_k \quad (2)$$

Figura 1 - Delineamento experimental simplex centroid para 3 compostos. PVPP – Polivinilpirrolidona.



3. RESULTADOS

3.1. TESTE DE MÉDIAS E ANÁLISE DO AJUSTE DO MODELO

A importância do desenvolvimento de metodologias de predição envolvendo processos industriais tem sido relatada por diversos autores (Silva et al., 2007; Silva et al., 2011; Longhi et al., 2017; Peltier et al., 2018). O presente trabalho permitiu a avaliação de parâmetros cinéticos que possuem relevância para modelagem, predição e otimização da fermentação alcoólica, sendo que os resultados para os mostos, *Cuvée* e *Taille*, são apresentados na tabela 6.

O tempo em que ocorre a taxa máxima fermentativa ($T_{V_{max}}$) foi apenas alterado pela presença de bentonite no meio. No mosto *Cuvée*, exceto no ponto central, todos os outros tratamentos contendo bentonite promoveram um atraso para ocorrer o $T_{V_{max}}$, enquanto no mosto *Taille*, somente a bentonite isolada apresentou diferença significativa dos demais, elevando-o.

Para ambos os mostos, a máxima produção de CO_2 (Y_{max}) não foi afetada por nenhum tratamento (clarificante), desta forma, não houve diferenças estatísticas do tratamento controle.

A partir das observações estatísticas da tabela 6 foram consideradas apenas as variáveis respostas: tempo de fase Lag e a máxima taxa fermentativa (V_{max}) para a análise da mistura. Estes parâmetros apresentaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos e o controle, ao contrário da produção máxima de CO_2 e da $T_{V_{max}}$, que não apresentaram diferenças ou apenas um componente mostrou-se diferente dos demais tratamentos.

Tabela 6 - Resultados para parâmetros cinéticos no mosto Cuvée e Taille.

Mosto	Cuvée				Taille			
	Tratamentos/ Resposta	Tempo de Fase Lag (h)	V_{max} (g L ⁻¹ h ⁻¹)	$T_{V_{max}}$ (h)	Y_{max} (g L ⁻¹)	Tempo de Fase Lag (h)	V_{max} (g L ⁻¹ h ⁻¹)	$T_{V_{max}}$ (h)
X₁ Carvão	17.34 ± 0.48 d	0.885 ± 0.005 a	84.97 ± 0.04 e	89.77 ± 1.17 a	14.41 ± 0.28 de	1.003 ± 0.008 ab	75.14 ± 4.69 bcd	89.76 ± 0.18 a
X₂ Bentonite	30.78 ± 0.65 a	0.790 ± 0.010 b	115.94 ± 0.99 a	88.76 ± 0.35 a	24.09 ± 0.26 a	0.866 ± 0.014 de	104.06 ± 4.71 a	89.48 ± 1.23 a
X₃ PVPP	20.05 ± 0.35 c	0.825 ± 0.011 b	94.28 ± 2.98 cd	88.11 ± 0.59 a	10.93 ± 0.31 f	0.881 ± 0.009 d	68.68 ± 3.23 d	89.87 ± 0.20 a
X₁₂	24.24 ± 0.16 b	0.810 ± 0.014 b	102.77 ± 2.22 b	89.30 ± 0.76 a	15.58 ± 0.21 c	0.959 ± 0.023bc	82.89 ± 5.35 bc	90.01 ± 0.39 a
X₂₃	23.93 ± 0.57 b	0.806 ± 0.011 b	102.08 ± 3.95 bc	88.05 ± 1.18 a	17.61 ± 0.09 b	0.933 ± 0.005 c	86.71 ± 3.79 b	90.40 ± 0.37 a
X₁₃	17.11 ± 0.35 d	0.882 ± 0.019 a	84.84 ± 2.5 e	89.47 ± 0.32 a	13.48 ± 0.45 e	0.975 ± 0.015 bc	73.14 ± 4.34 cd	89.49 ± 0.24 a
X₁₂₃	20.50 ± 0.40 c	0.893 ± 0.004 a	92.38 ± 1.44 de	89.65 ± 0.27 a	14.51 ± 0.07 d	1.030 ± 0.010 a	77.75 ± 2.30 bcd	89.99 ± 0.75 a
Controle	16.75 ± 0.57 d	0.753 ± 0.021 c	86.81 ± 4.87 de	88.84 ± 0.36 a	10.94 ± 0.62 f	0.830 ± 0.035 e	77.67 ± 7.03 bcd	90.71 ± 0.38 a

Os resultados estão apresentados pela média (n=3); ± = DP; valores com letras diferentes (colunas) são significativamente diferentes pelo teste de Tukey, com (p <0,05).

As respostas experimentais obtidas e baseadas nas variáveis independentes estão registradas na Tabela 7. Os experimentos foram conduzidos em triplicata e demonstraram que, em quase todos os casos, há boa concordância entre as repetições. Todas as variáveis independentes e de resposta foram testadas para os modelos linear, quadrático e cúbico especial. O coeficiente de determinação, R^2 , e o teste F (ANOVA) foram utilizados para verificar a qualidade dos modelos. O modelo cúbico especial foi identificado como o modelo mais adequado. Os altos coeficientes de determinação (R^2) e de R^2 ajustado indicam que os modelos se ajustam bem aos dados experimentais. Além disso, os modelos podem ser usados para fins preditivos para as variáveis respostas.

De acordo com a análise de variância, para ambos os mostos, os modelos ajustados para a variável resposta tempo de fase Lag explicam 99 % da variação. Para a V_{max} , os modelos ajustados para os mostos Cuvée e Taille explicam 93 % e 95 % da variação, respectivamente.

Tabela 7 - Modelos, R^2 , R^2 ajustado e valores de probabilidade para os modelos finais reduzidos (proporção do componente) da taxa máxima de fermentação (V_{max}) e tempo de fase de latência para dois mostos (Cuvée e Taille).

Mosto	Resposta	Modelo	F calculado	F tabulado	R^2	R^2 ajustado	p
Cuvée	Tempo de fase Lag	<i>Special Cubic</i>	10,0250	8,8616	0,9932	0,9903	0,006
Cuvée	V_{max}	<i>Special Cubic</i>	51,3818	8,8616	0,9489	0,9271	<0,001
Taille	Tempo de fase Lag	<i>Special Cubic</i>	13,9780	8,8616	0,9968	0,9955	0,002
Taille	V_{max}	<i>Special Cubic</i>	39,6751	8,8616	0,9650	0,9500	<0,001

R^2 = (soma dos quadrados da regressão) / (soma total dos quadrados); R^2 ajustado = (quadrado médio total - quadrado médio do resíduo) / quadrado médio total; F calculado = (quadrado médio da regressão) / (quadrado médio do resíduo); F tabulado = valor tabulado considerando os graus de liberdade de regressão e de resíduo a 1 % de significância; p = significância do modelo ajustado.

3.2. INTERPRETAÇÃO DOS GRÁFICOS DE CONTORNO

A variação do tempo de fase lag e da máxima taxa fermentativa (V_{max}) na presença de diferentes misturas de clarificantes é mostrada em gráficos bidimensionais da área do contorno ternário para os mostos Cuvée (Figura 2) e Taille (Figura 3). Estas duas figuras também apresentam os gráficos de dispersão que representam os valores experimentais obtidos e previstos pelo modelo. Esta é uma técnica gráfica para avaliar se os dados são normalmente distribuídos ou não. O residual é a diferença entre o valor observado e o previsto da regressão. Se os pontos da parcela são vistos mais próximos da linha reta, então os dados são normalmente

distribuídos (HASAN et al., 2009; DIAS et al., 2015). Observou-se que nas duas frações de mosto os pontos experimentais foram razoavelmente alinhados sugerindo a distribuição normal, sendo que os resíduos foram encontrados aleatoriamente dispersos ao redor de zero, o que significa que os erros têm uma variância constante

O tempo de fase de latência para o mosto *cuvée* (Figura 2) é afetado negativamente pelo aumento de bentonite na mistura, elevando-o. Em contrapartida, a presença de carvão ($\geq 50\%$) é responsável por uma significativa redução deste tempo. Para este mosto, a taxa máxima fermentativa (V_{max}) possui uma maior elevação na presença de carvão na mistura. Na figura 2, é possível visualizar que a mistura dos três clarificantes resulta na maior taxa máxima fermentativa, ou seja, dos 7 ensaios realizados o ponto central resulta na maior V_{max} . Além disso, é possível identificar que a presença de bentonite em maiores quantidades ($>50\%$) resulta em uma redução dessa taxa.

Para o mosto *Taille*, o comportamento dos clarificantes sobre a atividade fermentativa deste mosto foi diferente do encontrado para o *Cuvée* (Figure 3). No entanto, assim como no *Cuvée*, o aumento da presença de bentonite na mistura tem por resultado um maior tempo de fase de latência. Para este parâmetro, uma maior concentração de PVPP é responsável por menores tempos. Quanto a V_{max} , a presença de bentonite resulta em uma redução na taxa. Assim como no *cuvée*, no diagrama é possível observar uma maior taxa quando há a presença dos três clarificantes.

Figura 2 - Gráficos de contorno da mistura e gráficos de dispersão ajustados dos valores experimentais e previstos para o Tempo da Fase Lag (horas) (a) e a taxa máxima de fermentação ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) (b) no mosto Cuvée, em função de efeitos significativos de interação ($p < 0,05$).

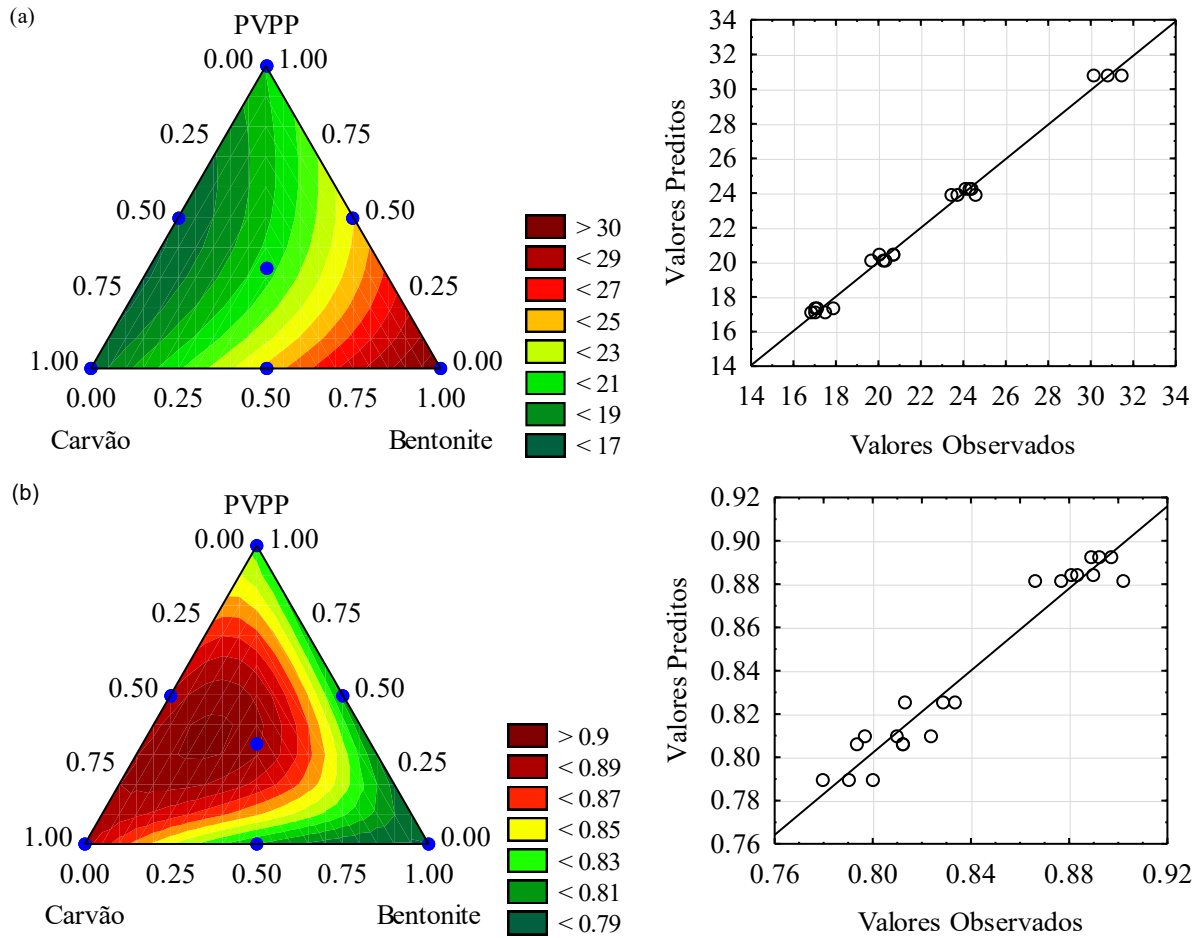
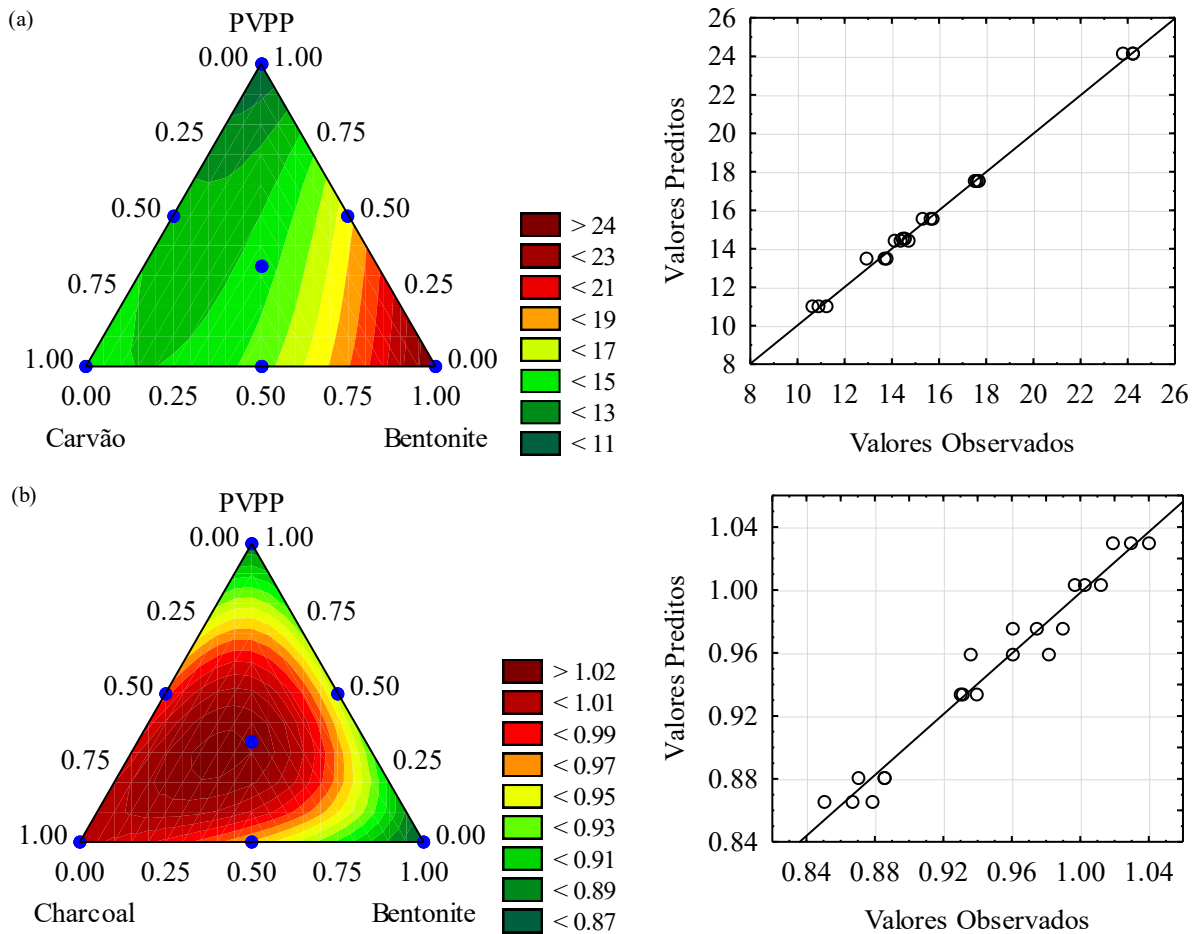


Figura 3 - Gráficos de contorno da mistura e gráficos de dispersão ajustados dos valores experimentais e previstos para o Tempo da Fase Lag (horas) (a) e a taxa máxima de fermentação ($\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) (b) no mosto *Taille*, em função de efeitos significativos de interação ($p < 0,05$).



3.3. ANÁLISE DE REGRESSÃO DO MODELO

Conforme mostrado na Tabela 8, os termos das equações de regressão previstas representam os modelos com os fatores significativos (modelo final reduzido) para o tempo de fase lag e a V_{\max} dos mostos *Cuvée* e *Taille*, respectivamente.

Para o tempo de fase Lag, o termo cúbico (ponto central) resultou no maior efeito desejável para ambos os mostos, ou seja, a combinação dos três clarificantes é a que resulta no menor tempo de fase de latência. Para o mosto *cuvée* as combinações de Carvão com PVPP e de Bentonite com PVPP também resultam em um efeito favorável sobre o tempo de fase Lag, o maior termo positivo é resultado da variável independente X_2 (Bentonite). No mosto *Taille*, além do termo cúbico, apenas a combinação de Carvão com Bentonite resulta em um termo negativo, ou seja, estes tratamentos reduzem o tempo de fase de latência.

Para ambos os mostos o termo cúbico, composto pela mistura de Carvão, Bentonite e PVPP foi o que resultou no maior termo positivo da variável resposta taxa máxima de fermentação. Ou seja, existe um efeito sinérgico no qual a mistura dos três clarificantes resulta na maior taxa. Para o mosto *cuvée*, o termo quadrático da mistura de Carvão e Bentonite (significativo) resulta em um efeito antagônico, reduzindo a taxa fermentativa. Para o mosto *Taille*, todos os termos foram significativos e positivos (efeito sinérgico) sobre a taxa máxima fermentativa.

Tabela 8 - Coeficientes de regressão dos modelos ajustados para V_{max} e Tempo de fase Lag dos mostos *Cuvée* e *Taille* na adição de uma mistura contendo carvão vegetal, bentonite e PVPP.

Termo/ Resposta:	<i>Cuvée</i>		<i>Taille</i>	
	Tempo de Fase Lag (h)	V_{max} (g L ⁻¹ h ⁻¹)	Tempo de Fase Lag (h)	V_{max} (g L ⁻¹ h ⁻¹)
β_1 (X_1 - Carvão)	17,3359**	0,88464**	14,40645**	1,003372**
β_2 (X_2 - Bentonite)	30,7765**	0,78986**	24,09031**	0,865516**
β_3 (X_3 - PVPP)	20,0501**	0,82502**	10,92912**	0,880926**
β_{12}	0,7506	-0,10896**	-14,68360**	0,097568*
β_{23}	-5,9292**	-0,00522	0,41383	0,241045**
β_{13}	-6,3443**	0,10717**	3,24885**	0,131943**
β_{123}	-25,3093*	1,62524**	-19,91674**	1,643149**

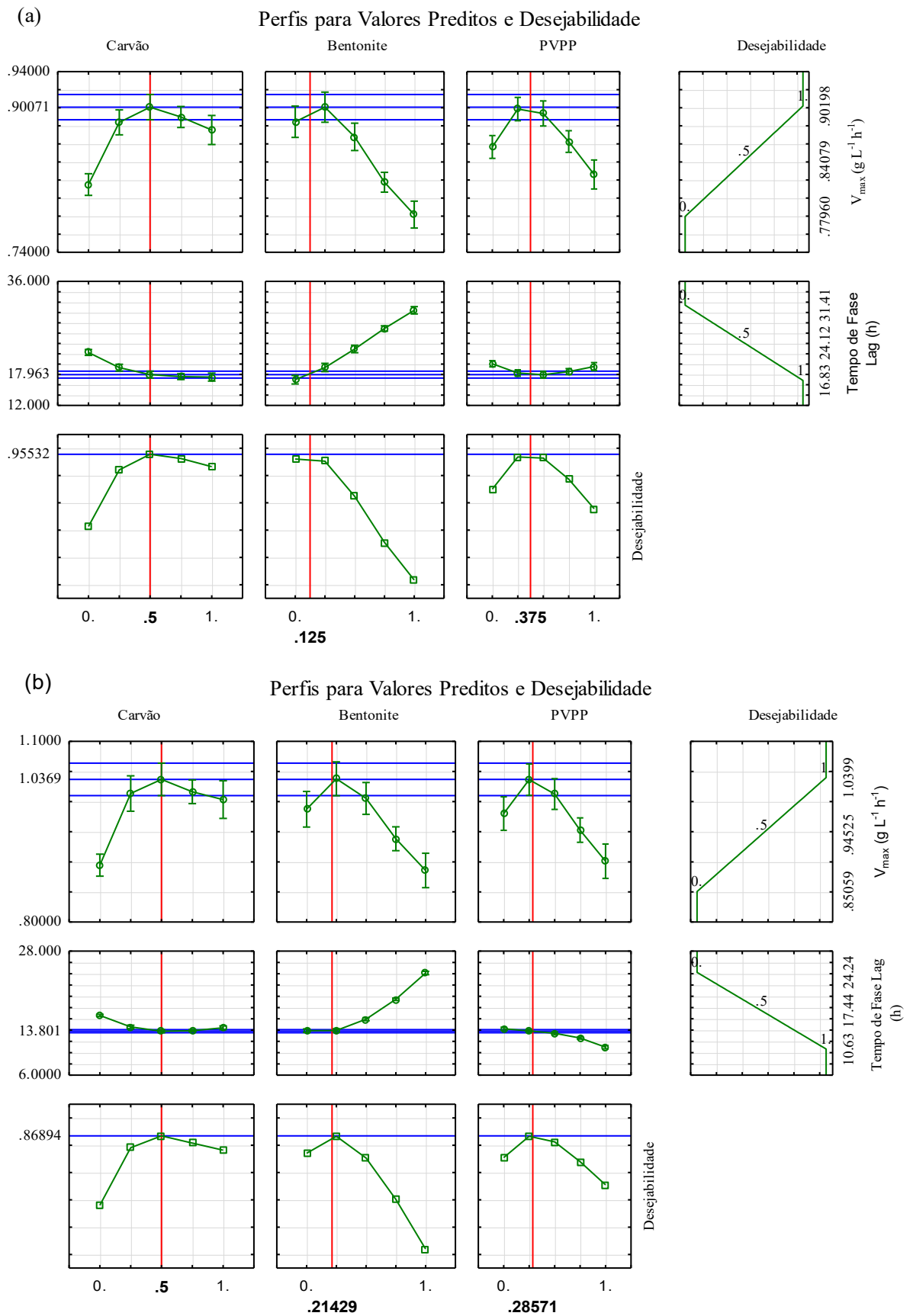
$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3$; *Coeficientes significativos ($p < 0,05$).
**Coeficientes significativos ($p < 0,01$).

3.4. OTIMIZAÇÃO DA MISTURA

Para melhor avaliar a importância da adição combinada dos três clarificantes, a relação entre os aditivos foi otimizada para que a mistura minimizasse o tempo da fase de latência e maximizasse a V_{max} para cada mosto. Assim, observou-se que uma proporção de 50 % de carvão ativo, 12,5 % de bentonite e 37,5 % de PVPP é a que apresenta os melhores resultados para a atividade fermentativa do mosto *Cuvée* (Figura 4a). Para a fermentação do mosto *Taille*, a proporção de 50 % de carvão ativo, 21,43 % de bentonite e 28,57 % de PVPP é a que apresenta melhores efeitos sobre os parâmetros estudados (Figura 4b).

Esses dados revelam que, para melhorar um conjunto de parâmetros cinéticos fermentativos, a mistura dos três agentes clarificantes tem resultados superiores ao uso de um agente isolado ou à combinação de apenas dois deles.

Figura 4 - Gráficos obtidos através da metodologia de Derringer e Suich (1980). Otimização das condições de mistura dos clarificantes para maximizar a V_{max} e minimizar o Tempo de Fase Lag dos mostos Cuvée (a) e Taille (b).



4. DISCUSSÕES

As leveduras desejadas para elaboração de vinho devem possuir uma série de características, entre elas, a rápida e completa degradação de açúcares em etanol e CO₂, a fim de fornecer metabólitos e compostos aromáticos que impactam positivamente sobre qualidade sensorial do produto, além disso, compostos indesejáveis não devem ser produzidos (PRETORIUS, 2000; DEQUIN, 2001).

Até o momento, nenhum estudo teve por objetivo avaliar os parâmetros cinéticos em um mosto na presença de carvão, bentonite e PVPP. Desta forma, até o presente momento o efeito destes clarificantes sobre cada etapa da fermentação alcóolica é desconhecido. No entanto, alguns estudos utilizando destes aditivos puderam observar alterações na fermentação. Como é o caso dos estudos de Weiss e Bisson (2002) e Pocock et al. (2011), nos quais relataram uma tendência em fermentações mais aceleradas na presença de bentonite nos mostos, este comportamento relatado vai de acordo com os resultados encontrados para a V_{max} . Entretanto, Lira et al. (2013) não encontraram diferenças significativas para a fermentação com bentonite.

Os resultados encontrados para o efeito benéfico do carvão sobre a fermentação eram esperados pelos autores, uma vez que estudos recentes indicam para uma melhora no término da fermentação na presença de baixas doses de carvão em um mosto contendo fungicidas. Estes estudos puderam mensurar a redução significativa da quantidade de açúcares residuais e o teor de acidez volátil produzida (NICOLINI et al., 2016), entretanto, este trabalho não utilizou de metodologias específicas para avaliar o comportamento da cinética fermentativa.

Quanto ao efeito benéfico do PVPP sobre o tempo de fase Lag do mosto Taille, a presença de polifenóis em maior quantidade neste mosto (PATEL et al., 2010) e a afinidade do PVPP para combinar e remover estes compostos (DONOVAN et al., 1999) pode ser uma explicação para este fenômeno. Além disso, estudos recentes indicam para uma significativa redução nos valores de V_{max} (60 a 80 %) na presença

de polifenóis em mosto de uva (NGUELA et al., 2019), a ação conhecida do PVPP frente a este composto pode justificar a melhora deste parâmetro.

A otimização de uma formulação que minimize o tempo de latência da leveduras é de grande valia para a vinificação de vinhos base para espumantes, uma vez que uma curta duração está correlacionada a estabilidade microbiológica, garantindo que nenhum outro microrganismo se desenvolva anteriormente a levedura desejada, além disso, trabalhos indicaram para uma maior produção de glicerol estar correlacionada com um maior tempo de latência (PELTIER et al., 2018).

Da mesma forma, existe um forte interesse em obter taxas máximas fermentativas mais elevadas, o que significa em uma mais rápida degradação de açúcares, desta forma, assegurando a inibição de outros microrganismos presentes no meio, estes que podem resultar em características indesejáveis ao produto (MARSIT e DEQUIN, 2015).

5. CONCLUSÕES

A produção máxima de CO₂ não é afetada pelos clarificantes. O tempo em que ocorre a taxa máxima é apenas afetado em ambos os mostos pela bentonite. Todos os clarificantes aumentaram o tempo de fase de latência, sendo que a bentonite resultou no maior tempo. A taxa máxima fermentativa (CO₂) é elevada por todos os clarificantes, com exceção da bentonite no mosto *Taille*. A combinação da modelagem cinética e do delineamento específico para misturas (*simplex centroid*) foi valiosa para avaliar o efeito combinado dos clarificantes sobre a atividade fermentativa dos mostos e proporcionou como resposta a importância da combinação de três diferentes aditivos. Desta forma, um sinergismo para a taxa máxima, e um antagonismo para o tempo de fase lag, é resultante quando misturados os três agentes. Sendo que, a proporção envolvendo aproximadamente 50 % de carvão resulta em uma melhora na cinética fermentativa de ambos os mostos.

6. REFERÊNCIAS

- BLADE, W. Henry; BOULTON, Roger. Adsorption of protein by bentonite in a model wine solution. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 39, n. 3, p. 193-199, 1988.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Dispõe sobre Manual Operacional de Bebidas e Vinagres (**Instrução Normativa nº 24, de 8 de setembro de 2005**). Diário Oficial da República Federativa do Brasil (2005).
- BRUNS, Roy E.; SCARMINIO, Ieda Spacino; DE BARROS NETO, Benicio. **Statistical design-chemometrics**. Elsevier, 2006.
- CASTRO-SOBRINO, Laura et al. Impact of fungicides mepanipyrim and tetraconazole on phenolic profile and colour of Mencía red wines. **Food control**, v. 98, p. 412-423, 2019.
- CORNELL, John A. **Experiments with mixtures: designs, models, and the analysis of mixture data**. John Wiley & Sons, 2011.
- DE MELLO, L. M. R.; MACHADO, CAE. Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015. **Embrapa Uva e Vinho-Livro científico (ALICE)**, 2017.
- DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 56, n. 5-6, p. 577-588, 2001.
- DERRINGER, George; SUICH, Ronald. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of quality technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.
- DIAS, Fernanda Furlan Gonçalves et al. Simplex centroid mixture design to improve l-asparaginase production in solid-state fermentation using agroindustrial wastes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 528-534, 2015.
- DONOVAN, Jennifer L. et al. Effects of small-scale fining on the phenolic composition and antioxidant activity of Merlot wine. In: WATERHOUS, Andrew L. E EBELER, Susan E. (ed.). **Chemistry of Wine Flavor**. Washington: American Chemical Society, 1998. p. 142-155.
- DOULIA, Danae S. et al. Effect of clarification process on the removal of pesticide residues in red wine and comparison with white wine. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 53, n. 8, p. 534-545, 2018.
- DOULIA, Danae S. et al. Effect of clarification process on the removal of pesticide residues in white wine. **Food Control**, v. 72, p. 134-144, 2017.
- DUC, Camille et al. A set of nutrient limitations trigger yeast cell death in a nitrogen-dependent manner during wine alcoholic fermentation. **PloS one**, v. 12, n. 9, p. e0184838, 2017.

FERNÁNDEZ, M. J. et al. Effects of clarification and filtration processes on the removal of fungicide residues in red wines (var. Monastrell). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6156-6161, 2005.

GOTTSCHALK, Paul G.; DUNN, John R. The five-parameter logistic: a characterization and comparison with the four-parameter logistic. **Analytical biochemistry**, v. 343, n. 1, p. 54-65, 2005.

HASAN, S. H.; SRIVASTAVA, P.; TALAT, M. Biosorption of Pb (II) from water using biomass of *Aeromonas hydrophila*: central composite design for optimization of process variables. **Journal of hazardous materials**, v. 168, n. 2-3, p. 1155-1162, 2009.

JACKSON, Ronald S. **Wine science: principles and applications**. Academic press, 2014.

JÉGOU, Sandrine et al. Effect of grape juice press fractioning on polysaccharide and oligosaccharide compositions of Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines. **Food chemistry**, v. 232, p. 49-59, 2017.

KEMP, Belinda et al. Effect of production phase on bottle-fermented sparkling wine quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 19-38, 2015.

KERSLAKE, Fiona; LONGO, Rocco; DAMBERGS, Robert. Discrimination of juice press fractions for sparkling base wines by a UV-Vis spectral phenolic fingerprint and chemometrics. **Beverages**, v. 4, n. 2, p. 45, 2018.

KIM, Sung-Koo et al. Effect of fermentation inhibitors in the presence and absence of activated charcoal on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 36, n. 6, p. 659-666, 2013.

KOSEL, J.; RASPOR, Peter; ČADEŽ, N. Maximum residue limit of fungicides inhibits the viability and growth of desirable non-*Saccharomyces* wine yeasts. **Australian journal of grape and wine research**, v. 25, n. 1, p. 43-52, 2019.

LIRA, Eugenio et al. Effect of bentonite fining during fermentation on protein content in Macabeu wines: Comparison of pilot-and industrial-scale experiments. **OENO One**, v. 47, n. 3, p. 221-226, 2013.

LONGHI, Daniel Angelo et al. Microbial growth models: A general mathematical approach to obtain μ max and λ parameters from sigmoidal empirical primary models. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 2, p. 369-375, 2017.

LÓPEZ, Clemencia Chaves et al. Influence of quinoxifen residues on *Saccharomyces cerevisiae* fermentation of grape musts. **Food Technology and Biotechnology**, v. 42, n. 2, p. 89-97, 2004.

MARSIT, Souhir; DEQUIN, Sylvie. Diversity and adaptive evolution of *Saccharomyces* wine yeast: a review. **FEMS yeast research**, v. 15, n. 7, p. fov067, 2015.

MARTON, J. M. et al. Evaluation of the activated charcoals and adsorption conditions used in the treatment of sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 1, p. 9-21, 2006

MENEGUZZO, Julio. **Caracterização físico-química e sensorial dos vinhos espumantes da Serra Gaúcha**. Tese de Doutorado. 2014.

NGUELA, J. Mekoue et al. Effect of grape must polyphenols on yeast metabolism during alcoholic fermentation. **Food research international**, v. 121, p. 161-175, 2019.

NICOLINI, Giorgio et al. Abbattimento di insetticidi e fungicidi durante la fermentazione in bianco da parte di coadiuvanti enologici. **ENOLOGO**, v. 53, n. 7/8, p. 87-91, 2017.

NICOLINI, Giorgio et al. Small amounts of charcoal during fermentation reduce fungicide residues without penalising white wine aroma compounds and colour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 22, n. 3, p. 376-383, 2016.

NOGUEROL-PATO, Raquel et al. Dissipation of fungicide residues during winemaking and their effects on fermentation and the volatile composition of wines. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 6, p. 1344-1354, 2016.

OIV, O. **Compendium of international methods of wine and must analysis**. International Organisation of Vine and Wine: Paris, France, p. 154-196, 2009.

OLIVA, Jose et al. Removal of famoxadone, fluquinconazole and trifloxystrobin residues in red wines: Effects of clarification and filtration processes. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 42, n. 7, p. 775-781, 2007.

PAIVA, L. B. et al. Organophilic bentonites based on Argentinean and Brazilian bentonites: part 2: potential evaluation to obtain nanocomposites. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 4, p. 751-762, 2012.

PATEL, Parimal et al. Influence of juice pressing conditions on polyphenols, antioxidants, and varietal aroma of Sauvignon blanc microferments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 12, p. 7280-7288, 2010.

PELTIER, Emilien et al. Wine yeast phenomics: A standardized fermentation method for assessing quantitative traits of *Saccharomyces cerevisiae* strains in enological conditions. **PloS one**, v. 13, n. 1, p. e0190094, 2018.

POCOCK, K. F.; SALAZAR, F. N.; WATERS, Elizabeth J. The effect of bentonite fining at different stages of white winemaking on protein stability. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 17, n. 2, p. 280-284, 2011.

PRETORIUS, Isak S. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v. 16, n. 8, p. 675-729, 2000.

RENAULT, Philippe-Emmanuel. **Caractérisation phénotypique de l'espèce *Torulaspora delbrueckii* en conditions œnologiques. Application à la co-**

inoculation avec l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. 2010. Tese de Doutorado. Bordeaux 2.

RESTREPO, Susana et al. Production of Fatty Acids during Alcoholic Wine Fermentation under Selected Temperature and Aeration Conditions. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 70, n. 2, p. 169-176, 2019.

RIZZON, Luiz Antenor; MENEGUZZO, Júlio; ABARZUA, Carlos E. **Elaboração de vinho espumante na propriedade vitícola**. Embrapa Uva e Vinho, 2000.

RUEDIGER, GREG A. et al. Removal of pesticides from red and white wine by the use of fining and filter agents. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 10, n. 1, p. 8-16, 2004.

RUSSO, Pasquale et al. Pesticide Residues and Stuck Fermentation in Wine: New Evidences Indicate the Urgent Need of Tailored Regulations. **Fermentation**, v. 5, n. 1, p. 23, 2019.

SCHMIDT, S. A.; HENSCHKE, P. A. Production, reactivation and nutrient requirements of active dried yeast in winemaking: theory and practice. **Australian journal of grape and wine research**, v. 21, p. 651-662, 2015.

SEN, K.; CABAROGLU, T.; YILMAZ, H. The influence of fining agents on the removal of some pesticides from white wine of *Vitis vinifera* L. cv. Emir. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 11, p. 3990-3995, 2012.

SILVA, A. J. et al. Kinetic modeling and microbial assessment by fluorescent in situ hybridization in anaerobic sequencing batch biofilm reactors treating sulfate-rich wastewater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 2, p. 209-219, 2011.

SILVA, M. E. et al. Cashew wine vinegar production: alcoholic and acetic fermentation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 24, n. 2, p. 163-169, 2007.

SIMS, Charles A.; EASTRIDGE, Janet S.; BATES, Robert P. Changes in phenols, color, and sensory characteristics of muscadine wines by pre-and post-fermentation additions of PVPP, casein, and gelatin. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 46, n. 2, p. 155-158, 1995.

SINGLETON, V. L.; DRAPER, Diana E. Adsorbents and wines. I. Selection of activated charcoals for treatment of wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 13, n. 3, p. 114-125, 1962.

STATISTICA. **Graphics software**. Tulsa: Statistica For Windows, v. 9 (2009).

TOGORES, José Hidalgo. **Tratado de enología I**. Mundi-Prensa Libros, 2018.

UVIBRA – União Brasileira de Vitivinicultura. **Comercialização de Vinhos e derivados elaborados no Rio Grande do Sul – 2012 a 2018**. Disponível em: <http://www.uvibra.com.br/pdf/comercializacao2011a2018_dez.pdf> Acesso em 10 set. 2019.

VINCENZI, Simone et al. Study of combined effect of proteins and bentonite fining on the wine aroma loss. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 8, p. 2314-2320, 2015.

WEISS, Kathryn C.; BISSON, Linda F. Effect of bentonite treatment of grape juice on yeast fermentation. **American journal of enology and viticulture**, v. 53, n. 1, p. 28-36, 2002.

ZOECKLEIN, Bruce W. et al. **A review of methode champenoise production**. 1998.

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875-1881, 1990.