



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Pedro de Freitas Vendramini

**Ação da *Brettanomyces claussenii* nas Características Químicas e Sensoriais  
de Vinho de Uva Bordô**

São José do Rio Preto  
2019

Pedro de Freitas Vendramini

**Ação da *Brettanomyces claussenii* nas Características Químicas e Sensoriais de Vinho de Uva Bordô**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Prof. Dr. Maurício Bonatto Machado de Castilhos

São José do Rio Preto  
2019

V453a

Vendramini, Pedro de Freitas

Ação da *Brettanomyces claussenii* nas Características Químicas e Sensoriais de Vinho de Uva Bordô / Pedro de Freitas Vendramini. -- São José do Rio Preto, 2019  
64 p. : il., tabs., fotos, mapas + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Maurício Bonatto Machado de Castilhos

1. Ciência de Alimentos. 2. Bioprocessos. 3. Vinificação. I. Título.

Pedro de Freitas Vendramini

**Ação da *Brettanomyces claussenii* nas Características Químicas e Sensoriais de Vinho de Uva Bordô**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.  
Financiadora: CAPES

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto  
Orientador

Profa. Dra. Ana Carolina Conti e Silva  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Prof. Dr. Vitor Manfroi  
UFGS – Porto Alegre

São José do Rio Preto  
30 de abril de 2019

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais e tios, por todo o apoio e confiança na realização de um sonho.

Ao meu orientador e coorientador, por todo conhecimento e direções dados.

Ao Ibilce, por proporcionar uma segunda casa e uma segunda família na realização do projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço, por proporcionar bolsa de estudos durante todo o período da pesquisa.

## RESUMO

Diversos estudos propõem mudanças na tecnologia de produção de vinhos para diferenciação da qualidade e aceitabilidade. Nesse contexto, o objetivo do projeto foi avaliar a influência da levedura *Brettanomyces claussenii*, que já é utilizada na produção de cervejas diferenciadas, porém pouco explorada na vinificação, a partir de variações nas inoculações juntamente com *Saccharomyces cerevisiae*, analisando-se as propriedades físico-químicas e a aceitação sensorial do vinho da uva Bordô. Os vinhos foram caracterizados por análises físico-químicas, possibilitando verificação da influência da ação das leveduras para o teor alcoólico, acidez total, acidez volátil, acidez fixa, pH, açúcares redutores, fenólicos totais, extrato seco e estudo de cor, aplicando-se as devidas ferramentas estatísticas. Os atributos aparência, aroma, corpo, sabor e aceitação global foram avaliados por consumidores em teste de aceitação, utilizando-se uma escala hedônica estruturada de 9 pontos e uma escala de intenção de compra de 5 pontos, evidenciando maior aceitação para os vinhos produzidos no estudo quando comparados a uma amostra comercial, e maior intenção de compra para o vinho produzido com 75% *Saccharomyces* e 25% *Brettanomyces* e para o vinho com 25% *Saccharomyces* e 75% *Brettanomyces*. Assim foram apresentados resultados que permitiram maiores conhecimentos sobre a atividade de micro-organismos que podem ser mais explorados e que também aproximam a viticultura e novas tecnologias para produção de vinhos diferenciados.

**Palavras-chave:** Aceitação sensorial. *Brettanomyces*. Vinho. Uva Bordô.

## ABSTRACT

Several studies propose changes in wine production technology to differentiate quality and acceptability. In this context, the objective of the project was to evaluate the influence of the yeast *Brettanomyces claussenii*, which is already used in the production of differentiated beers, but little explored in vinification, from variations in inoculations together with *Saccharomyces cerevisiae*, analyzing the physical-chemical properties and sensory acceptance of “Bordô” grape wine. The wines were characterized by physical-chemical analysis, enabling the verification of the influence of the yeast action on the alcoholic content, total acidity, volatile acidity, fixed acidity, pH, reducing sugars, total phenolics, dry extract and color study, applying the appropriate statistical tools. The attributes of appearance, aroma, body, flavor and overall acceptance were evaluated by consumers in the acceptance test, using a 9-point structured hedonic scale and a 5-point purchase intention scale, showing greater acceptance for wines produced in the study when compared to a commercial sample, and greater purchase intention for wines produced with 75% *Saccharomyces* and 25% *Brettanomyces* and for wine with 25% *Saccharomyces* and 75% *Brettanomyces*. Thus, results that allowed greater knowledge about the activity of microorganisms that can be more exploited and that also approach the viniculture and new technologies to produce differentiated wines were presented.

**Keywords:** Sensory acceptance. *Brettanomyces*. Wine. “Bordô” grape.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema geral de elaboração de vinho.	20
Figura 2 – Uva Bordô antes do desengace.	33
Figura 3 – Uva Bordô durante esmagamento manual.	33
Figura 4 – Uva Bordô após esmagamento.	34
Figura 5 – <i>Brettanomyces claussenii</i> cultivada.	34
Figura 6 – Vinho prensado.	36
Figura 7 – Bandeja de apresentação de amostras.	39
Figura 8 – Ficha de caracterização do julgador.	39
Figura 9 – Ficha de avaliação dos atributos.	39
Figura 10 – Análise de componentes principais para os resultados físico-químicos.	45
Figura 11 – Gráfico sobre consumo mensal de vinho pelos julgadores.	46
Figura 12 – Valores percentuais para a intenção de compra para cada amostra avaliada.	48
Figura 13 – Análise de Cluster para aparência.	50
Figura 14 – Mapa de Preferência Interno para aparência.	50
Figura 15 – Análise de Cluster para aroma.	51
Figura 16 – Mapa de Preferência Interno para aroma.	51
Figura 17 – Análise de Cluster para corpo.	52
Figura 18 – Mapa de Preferência Interno para corpo.	52
Figura 19 – Análise de Cluster para sabor.	53
Figura 20 – Mapa de Preferência Interno para sabor.	53
Figura 21 – Análise de Cluster para aceitação global.	54
Figura 22 – Mapa de Preferência Interno para aceitação global.	54



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Características físico-químicas de vinho de uva Bordô.	16
Tabela 2 – Porcentagem de leveduras inoculadas na vinificação.	32
Tabela 3 – Resultados para as determinações físico-químicas.	41
Tabela 4 – Média $\pm$ desvio padrão da análise sensorial.	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ACT</b>	Acidez total
<b>ACV</b>	Acidez volátil
<b>ACF</b>	Acidez fixa
<b>DENS</b>	Densidade
<b>ALC</b>	Teor alcoólico
<b>EXT</b>	Extrato seco
<b>ACR</b>	Açúcares redutores
<b>FEN</b>	Fenólicos totais
<b>L</b>	Luminosidade
<b>C</b>	Croma
<b>h</b>	Tonalidade
<b>a</b>	Oposição entre vermelho e verde
<b>b</b>	Oposição entre amarelo e azul
<b>INT</b>	Intensidade de cor
<b>COL</b>	Coloração

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivos Gerais</b>	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>14</b>
<b>3.1</b>	<b>Uva Bordô</b>	<b>14</b>
<b>3.2</b>	<b>Gênero <i>Brettanomyces</i></b>	<b>16</b>
<b>3.3</b>	<b>Vinificação em Tinto</b>	<b>19</b>
3.3.1	Desengace e Esmagamento	21
3.3.2	Mosto	21
3.3.3	Fermentação	22
3.3.4	Extração e remontagem	23
3.3.5	Maceração	24
3.3.6	Descuba	24
3.3.7	Prensagem	25
3.3.8	Trasfega	26
3.3.9	Fermentação malolática	26
3.3.10	Atesto	27
3.3.11	Clarificação	27
3.3.12	Filtração	28
3.3.13	Maturação	28
3.3.14	Engarrafamento	29
3.3.15	Envelhecimento	29
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>30</b>
<b>4.1</b>	<b>Material</b>	<b>30</b>
<b>4.2</b>	<b>Vinificação</b>	<b>32</b>

<b>4.3</b>	<b>Análises Físico-químicas</b>	<b>37</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise Sensorial</b>	<b>38</b>
<b>4.5</b>	<b>Análise de dados</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>40</b>
<b>5.1</b>	<b>Análises Físico-químicas</b>	<b>40</b>
<b>5.2</b>	<b>Análise Sensorial</b>	<b>46</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>55</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>56</b>
	<b>ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética</b>	<b>60</b>
	<b>ANEXO B – Termo de consentimento Livre e Esclarecido</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, quando considerados todos os tipos de vinhos vendidos, a indústria nacional é responsável por 77% do mercado, incluindo vinhos de mesa e espumantes, sendo constante a busca por produtos diferenciados, de qualidade, que proporcionem a criação de uma nova identidade regional. Mesmo assim, os importados correspondem a 79% dos produtos consumidos, fato muitas vezes gerados pela falta de informação que priva os apreciadores de vinho de experimentar produtos nacionais de qualidade (LAGO-VANZELA et al., 2015).

A viticultura é uma atividade relevante para o estado de São Paulo, com uma produção de 243.367 toneladas em 2016, tendo como principais regiões produtoras as de Itapetininga (62,89%), Campinas (16,82%), Jales (9,66%) e Sorocaba (6,42%). São dois os principais mercados, apresentando cadeias produtivas distintas, a de produção de uvas comuns e finas para mesa, e a de uvas para indústria, sendo 99,37% deste total destinado ao mercado de frutas para mesa (IEA, 2016).

O crescimento na tecnologia e produção da uva e vinho aumenta a cada dia juntamente com o esforço de produtores, empresários, técnicos e pesquisadores responsáveis pela inserção de conceitos como zoneamento vitivinícola, indicações geográficas, padrões de qualidade, segurança alimentar, alimentos funcionais e sustentabilidade ambiental e econômica, fazendo do Brasil um país em sintonia com a vitivinicultura mundial (LAGO-VANZELA et al., 2015).

Diversos fatores são responsáveis pela qualidade do vinho, como as condições sanitárias da uva, a composição química e mineral do solo, a aplicação correta do processo de vinificação e a região onde a uva foi cultivada, que se correlacionam com as propriedades químicas do vinho e com sua qualidade sensorial (CASTILHOS et al, 2013). Alguns produtos químicos interagem entre si, produzindo novos compostos químicos, que podem influenciar o perfil sensorial do vinho. As antocianinas, por exemplo, podem reagir com ácidos hidroxycinâmicos

produzindo piranoantocianinas, que são responsáveis por mudanças na cor do vinho, dando uma tonalidade vermelho-alaranjado comumente observada em vinhos com longo processo de estabilização (BLANCO-VEGA et al., 2011). O vinho possui fases evolutivas, sendo elas a maceração, as fermentações, estabilizações, maturação e envelhecimento e, com o tempo, a degradação oxidativa. Sua composição, moléculas e compostos orgânicos controlam a velocidade do processo, podendo envelhecer em poucos meses ou durar décadas (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

*Brettanomyces spp* são leveduras semelhantes a *Saccharomyces cerevisiae*, porém menores. Presentes na casca das uvas, causam alterações como odores de queijo e de “cavalo molhado”, relacionadas com má higiene na produção (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

Os compostos fenólicos do vinho estão diretamente ligados à sua qualidade, tendo em vista sua participação na cor, sabor, estrutura e corpo. Há ainda a presença de compostos fenólicos voláteis, menos abundantes nos vinhos, como o 4-etil-fenol, 4-vinil-fenol, que são marcadores de *Brettanomyces/Dekkera*, responsáveis por odores de fenol e couro, e vanilina, triptofol e tirosol, derivados de aminoácidos aromáticos produzidos por micro-organismos na fermentação (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

Apesar das características citadas, o micro-organismo *Brettanomyces claussenii* é conhecido por produzir odor e sabor frutado em algumas bebidas alcoólicas, como a cerveja, pela liberação de compostos aromáticos desejáveis, podendo potencializar o sabor do vinho (STEENSELS et al., 2015).

O presente estudo utilizou a *Brettanomyces claussenii* na produção de vinhos, comparando com a utilização de *Saccharomyces cerevisiae*, assim verificando a possível utilização de um micro-organismo do gênero *Brettanomyces*, que geralmente é visto como um vilão na vinificação, para a diferenciação e obtenção de características marcantes e até mesmo positivas do produto.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivos Gerais

Investigar as diferenciações de processo, efeitos da *Brettanomyces claussenii* no vinho juntamente com *Saccharomyces cerevisiae*, tendo em vista evidenciar a ação desses micro-organismos e os possíveis benefícios da utilização dos mesmos, realizando-se análises físico-químicas e sensoriais, enriquecendo a literatura científica sobre vinhos brasileiros e sobre possíveis micro-organismos que apresentam potencial para elaboração de vinhos de qualidade.

### 2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar química e fisicamente os vinhos elaborados;
- Avaliar a aceitação sensorial dos vinhos produzidos;
- Comparar os resultados para as diferentes proporções de *Saccharomyces cerevisiae* e *Brettanomyces claussenii*.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Uva Bordô

A *Vitis vinifera* é a espécie de uva mais utilizada para a produção de vinho em todo o mundo, enquanto, no Brasil, os vinhos são elaborados principalmente a partir de uvas americanas (*Vitis labrusca*, entre outras) e seus híbridos, conhecidos por vinhos de mesa, que superam a produção de vinhos elaborados a partir de uvas europeias (BIASOTO et al., 2014). O vinho de mesa elaborado com uvas norte-americanas e híbridas totaliza mais de 80 % do volume comercializado no país, é de grande produtividade e baixo custo de produção,

caracterizado por sabor diferenciado e aroma frutado facilmente identificado pelos consumidores (GUERRA, 2003).

A uva Bordô (*V. labrusca L.*) é um conhecido cultivar no Brasil, produz vinhos de intensa cor vermelho-púrpura, aroma frutado e é usualmente utilizada como mistura com vinhos de baixa coloração, justamente devido à sua cor marcante, que supera a de vários vinhos produzidos com outras uvas americanas de mesa, melhorando a aparência e paladar (LAGO-VANZELA et al., 2011). Ela apresenta maturação precoce e é bastante resistente, sendo que seu estágio ideal de maturação dificilmente atinge 15° Babo (16,9° Brix) (RIZZON et al., 1994). Foi introduzida no Rio Grande do Sul em 1839, sob o nome de *Ives*, expandindo-se pelas demais regiões devido à fácil adaptação às condições climáticas, boa produtividade e longevidade. Apresenta cacho pequeno com formato cilíndrico-cônico alado apresentando bagas pequenas de coloração preta com polpa mucilaginosa, sendo muito comum na produção de vinhos de mesa secos e suaves (CAMARGO, 1996).

Em 2018, no Rio Grande do Sul, estado de grande destaque para a uva, 663.239.961 quilos foram processados pela indústria, onde 50% foram destinados para vinhos e derivados e 50% para sucos e derivados, sendo 597.699.541 quilos (90%) provenientes de uvas americanas e híbridas, dos quais 158.499.677 quilos eram de uva Bordô (IBRAVIN, 2018).

Na Tabela 1, encontram-se valores de análises físico-químicas para vinhos da uva Bordô encontrados em outros trabalhos. Os vinhos elaborados no estado de São Paulo apresentaram maior acidez total e menor acidez volátil, e sua matiz tendeu para a cor amarela, enquanto os elaborados no Rio Grande Sul tenderam para matiz vermelha.



Tabela 1 – Características físico-químicas de vinho de uva Bordô.

Parâmetro	Estudo	
	Castilhos et al. (2012)	Tecchio et al. (2007)
Densidade (g/mL 20°C)	0,9982	0,9965
Acidez total (meq/L)	135,20	91,00
Acidez volátil (meq/L)	4,90	7,30
pH	3,30	3,21
Extrato seco (g/L)	30,80	24,24
Açúcares redutores (g/L)	2,40	3,90
Teor alcoólico (% v/v)	10,70	10,58
Coloração (DO420/DO520)	0,77	0,39

### 3.2 Gênero *Brettanomyces*

Na vinificação, há uma controvérsia sobre o efeito da levedura *Dekkera* / *Brettanomyces* sobre bebidas alcoólicas. Pode ser considerada como um agente de deterioração do vinho devido à falta de condições sanitárias ao longo do processo de vinificação e principalmente devido à sua presença natural em equipamentos vinícolas, mas também pode ser uma levedura produtora de efeitos positivos de aroma e sabor na bebida alcoólica jovem, sendo então necessário entendê-la melhor (LOUREIRO; MALFEITO-FERREIRA, 2003).

O suco de uva é um ambiente habitado por muitas leveduras, incluindo *Saccharomyces cerevisiae*, a levedura dominante durante a fermentação alcoólica do vinho. Além desta, outras leveduras podem estar presentes no meio, destacando-se a *Brettanomyces bruxellensis* (RENOUF et al., 2006). Os vinhos estão sujeitos a modificação química e microbiológica, sendo que as leveduras do gênero *Brettanomyces* ou seu estado meiospórico, *Dekkera*, podem ser responsáveis pelas alterações, especialmente nos vinhos tintos, com a produção de etilfenóis e a formação de aromas diferenciados, que são geralmente descritos como fenólicos, medicinais ou animais (suor de cavalo, estábulo e couro) (CHATONNET et al., 1992). Por estas razões, em condições não controladas, as modificações por leveduras, tal como *Brettanomyces*

*bruxellensis*, podem acarretar perdas econômicas relevantes para a indústria do vinho (AGNOLUCCI et al., 2010). As células desta levedura são elipsoidais ou esféricas, mas também cilíndricas e alongadas. Podem formar pseudomicélio e o seu crescimento é lento. Em condições aeróbias, produzem ácido acético em grandes quantidades de glicose (VAN DER WALT, 1964). A *D. bruxellensis* não se desenvolve em meios sem vitaminas, requerendo biotina (vitamina B7) e/ou tiamina (vitamina B1) (BARNETT, 2000), possui um conjunto de adaptações que lhe permite sobreviver nos ambientes fermentativos do mosto e do vinho em maturação.

Tal como a *S. cerevisiae*, a *Brettanomyces* é tolerante ao etanol, anaeróbia facultativa e não possui DNA mitocondrial (WOOLFIT et al., 2007). Ambas as espécies realizam a fermentação alcoólica, na presença de elevadas concentrações de glicose (KURTZMAN; FELL, 1998). No entanto, a *Brettanomyces* utiliza a glicose de forma menos eficiente e cresce mais lentamente do que *S. cerevisiae* (SILVA et al., 2004), mas consegue assimilar maior variedade de fontes de carbono (CONTERNO et al., 2006). Estes fatores explicam a presença de *D. bruxellensis* nos vinhos, após as fermentações alcoólica e malolática, durante a maturação, estágio no qual existe uma concentração de etanol elevada e açúcares residuais (WOOLFIT et al., 2007). Modificações se estabelecem após a fermentação, normalmente durante a maturação em barris. O crescimento de *Brettanomyces/Dekkera* e a formação de etilfenóis, que podem influenciar nas características sensoriais do vinho, também podem ocorrer em tanques de concreto ou aço inoxidável e em garrafas (CHATONNET et al., 1992).

Os etilfenóis, 4-etilfenol e 4-etilguaiacol, são formados a partir da transformação de ácidos *p*-cumárico e ferúlico, naturalmente presentes nos vinhos. Estas transformações ocorrem por uma reação em cadeia de cinamato descarboxilase gerando vinilfenóis e, em seguida, etilfenóis via vinilfenol redutase (CHATONNET et al., 1992).

Embora muitas leveduras ainda sejam classificadas como organismos indesejáveis, algumas podem ter um papel benéfico, aumentando a eficiência da fermentação, diminuindo o risco de deterioração ou alterando o perfil de sabor do produto (STEENSELS et al., 2014). As *Brettanomyces* são um exemplo, pois essa levedura, originalmente descrita em 1904 por Niels Hjelte Claussen, que a isolou da cerveja, é considerada responsável pela realização da fermentação secundária e desenvolvimento de sabores característicos das melhores cervejas inglesas (CLAUSSEN, 1904).

Algumas fontes relatam que características leves de *Brettanomyces* são apreciadas em certos estilos de vinho, adicionando efeitos positivos como complexidade sensorial e transmitindo características de envelhecimento a alguns vinhos tintos jovens (LOUREIRO; MALFEITO-FERREIRA, 2003). Adicionalmente, muitas estirpes de *Brettanomyces*, como a *Brettanomyces claussenii*, são capazes de liberar compostos de aromas desejáveis (como terpenos e norisoprenóides) a partir de glicosídeos naturalmente presentes na uva, aumentando potencialmente o paladar e sabor de vinho natural. No entanto, os vinicultores encontram-se em guerra com essas leveduras, e sua inoculação voluntária é uma prática indesejada, uma vez que é necessário um alto controle de qualidade durante o processo de produção do vinho, como enfatiza Steensels et al. (2015).

O potencial da *Brettanomyces* como uma cultura iniciante em processos de fermentação industrial é cada vez mais reconhecido. O seu perfil de sabor único e a atividade da amilase tornam-nas muito adequadas para a produção de novas bebidas alcoólicas (DAENEN et al., 2009). Sua tolerância a pH baixo, seu metabolismo eficiente e a sua capacidade de produzir concentrações elevadas de etanol a destacam também na indústria do bioetanol. Assim, enquanto as *Brettanomyces spp.* ainda não são usadas com frequência como culturas iniciadoras em fermentações de alimentos, e sua erradicação ainda é um tema popular na pesquisa de

vinhos, seu potencial biotecnológico torna-se cada vez mais aparente em um número crescente de estudos (STEENSELS et al., 2015).

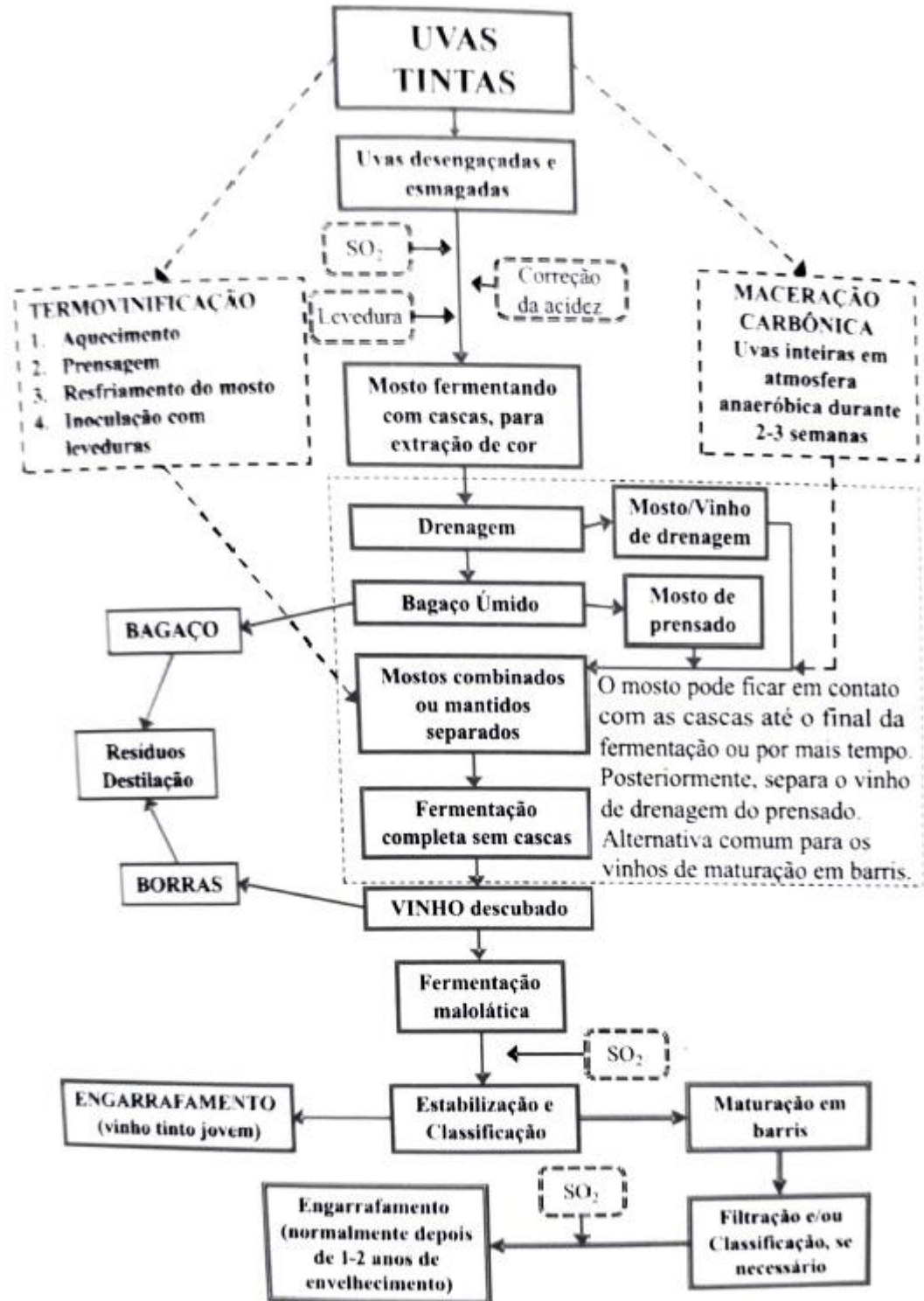
Para seu controle e até mesmo eliminação, a influência do SO<sub>2</sub> no metabolismo de *Brettanomyces/Dekkera* é de especial importância para a indústria vitivinícola, já que não existe tratamento térmico do meio de fermentação e o uso de SO<sub>2</sub> é a forma mais comum para controlar o desenvolvimento microbiano (STEENSELS et al., 2015). Valores de pH baixos ( $\leq 3,5$ ), níveis adequados de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) (0,8 mg/L na forma molecular) e baixas temperaturas de envelhecimento (10-15 °C) são práticas comuns que podem ser utilizadas para controlar a levedura nos vinhos. O uso criterioso de conservantes químicos, como SO<sub>2</sub>, durante o processo de vinificação, diminui o risco de deterioração microbiana, porém as cepas variam consideravelmente na sensibilidade (DU TOIT; PRETORIUS, 2000).

Nas práticas enológicas, os níveis de SO<sub>2</sub> livre recomendados para o envelhecimento do vinho tinto variam de 20 a 30 mg/L, correspondendo a 0,67-1 mg/L de SO<sub>2</sub> molecular, respectivamente, quando as condições são pH 3,5, etanol a 13% v/v e temperatura de armazenamento de 19 °C (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Vigentini et al. (2013) mostraram a notável variabilidade da *Brettanomyces* e identificaram duas estirpes que poderiam tolerar até 0,6 mg/L de SO<sub>2</sub> molecular.

### **3.3 Vinificação em Tinto**

Nas últimas décadas, o aumento da qualidade da produção brasileira de vinhos foi marcante, devido à adaptabilidade e do empreendedorismo presente em toda sua história, mostrando um caminho promissor, sendo assim, vale ressaltar cada etapa da arte que é a produção de um vinho, como ilustra a Figura 1 (LAGO-VANZELA et al., 2015).

Figura 1 – Esquema geral de elaboração de vinho.



Fonte: LAGO-VANZELA et al., 2015.

### 3.3.1 Desengace e Esmagamento

No início do processo de vinificação, o engaçó das uvas deve ser retirado para evitar gosto amargo. A etapa pode ser realizada por maquinário específico, as desengaçadeiras-esmagadeiras, em que as uvas passam por um cilindro com aberturas que, por meio de movimentos rotacionais, possibilita que as uvas sejam direcionadas para o esmagamento e os engaços sejam retidos. As uvas então são submetidas ao esmagamento por meio da utilização de uma série de rolos. Essas etapas também podem ser realizadas manualmente em caso de produções menores (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

O esmagamento adequado promove a dispersão das leveduras da casca e aeração favorável para sua multiplicação, contribuindo para a fermentação alcoólica, porém, em regiões mais quentes, o esmagamento pode não ser realizado, a fim de evitar a formação de borras (LAGO-VANZELA, 2015).

### 3.3.2 Mosto

A mistura de suco, sementes, casca e polpa deve ser preparada para fermentação. Várias adições e ajustes podem ser feitos, como o emprego de  $\text{SO}_2$ , que tem efeito antioxidante e desinfetante, inibindo a ação prematura de bactérias e leveduras; a chaptalização, que é a adição de açúcar nos primeiros estágios da fermentação em caso de uvas que não conseguem atingir o teor de açúcares necessário; acidificação com ácido tartárico em caso de pH muito alto; desacidificação com carbonato de cálcio, quando o pH está muito baixo; a utilização de enzimas pectinolíticas, que aumenta o rendimento, facilita a filtração e a clarificação e contribui para a obtenção de vinhos mais límpidos, os preparados enzimáticos podem ser adicionados sobre a uva esmagada ou sobre o mosto na saída da prensa, no caso de vinificação em branco;

leveduras cultivadas podem ser adicionadas ou simplesmente utilizam-se as leveduras naturais da casca; além de vitaminas do grupo B para auxílio do crescimento dos micro-organismos (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

Para proteção do mosto contra oxidação e contaminação, após o desengace e esmagamento, utiliza-se o dióxido de enxofre ou anidrido sulfuroso na forma sólida, ou como metabissulfito de potássio na forma de pastilhas, pó ou gás, que é a etapa chamada de sulfitagem (LAGO-VANZELA et al., 2015).

### 3.3.3 Fermentação

A fermentação resulta na conversão de açúcar pelas enzimas das leveduras em etanol e CO<sub>2</sub>. Para os vinhos tintos, ela acontece na presença dos sólidos das uvas, permitindo extração da cor das cascas. Na maioria dos casos, dependendo do mosto e da uva, a concentração final de álcool fica entre 11 % e 14,5 % volume/volume (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

A fermentação alcoólica pode ser dividida em fase tumultuosa e lenta. A primeira caracteriza-se pela grande atividade das leveduras, elevando a temperatura e liberando gás carbônico. Pode durar de três a seis dias (VENTURINI FILHO, 2016).

O processo turbulento ocorre próximo aos 20 °C, mas as temperaturas podem aumentar até 30 ou 32 °C naturalmente. Como as leveduras podem cessar a sua atividade a 35 °C, muitas vezes é necessário o controle de temperatura, especialmente em regiões mais quentes (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

A fermentação pode ser espontânea, pelos micro-organismos da própria casca e vinícola, ou inoculada, com adição de leveduras conhecidas, sendo que, para elaboração de um bom vinho, a levedura deve propiciar uma fermentação vigorosa até obtenção de vinho seco, obter características reproduzíveis, apresentar tolerância ao etanol, à temperatura e SO<sub>2</sub>, produzir pouco ácido acético e espuma (LAGO-VANZELA et al., 2015).

A levedura mais utilizada na produção de vinhos é a *Saccharomyces cerevisiae*, sendo que alguns cultivos apresentem *Saccharomyces bayanus*, mas o mercado oferece diferentes *Saccharomyces*, de várias empresas e específicas para vinhos brancos, tintos e espumantes (LAGO-VANZELA et al., 2015).

### 3.3.4 Extração e remontagem

Com a fermentação alcoólica, os sólidos e cascas direcionam-se para a superfície dos reatores através da ação do CO<sub>2</sub>, criando um chapéu flutuante. O mosto é então retirado do fundo e bombeado, promovendo a lavagem e a “quebra” dessa parte sólida compacta, processo chamado de remontagem, que o aera, acelerando o crescimento de colônias (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

O chapéu, formado por bagaço, tem papel importante, pois libera ao meio constituintes fenólicos (antocianinas e taninos) durante a maceração, sendo assim, a remontagem é uma operação extremamente importante na extração dos componentes da parte sólida, favorecendo obtenção dos melhores taninos, promovendo melhor estrutura, sensação de suavidade e maciez. Além disso, contribui para a fermentação alcoólica, já que a aeração atribui mais resistência das leveduras à temperatura elevada e a remontagem precoce diminui a perda de álcool por evaporação (GIOVANNINI; MANFROI, 2009). O chapéu, que não está mais totalmente em contato com o líquido, podendo atingir diferença de temperatura de até 10 °C, acentua a necessidade de remontagem, para manter o contato entre sólido e líquido, facilitando a transferência de cor das cascas de uva para o vinho tinto, também controlando a temperatura nessa etapa (LAGO-VANZELA et al., 2015).



### 3.3.5 Maceração

Dependendo do vinho, o mosto é deixado em contato com a casca após a fermentação alcoólica, até que alguns compostos químicos responsáveis pela cor e sabor sejam extraídos. A maceração pode variar de 2 a 28 dias (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

É umas das etapas mais importantes, pois através dela que se dissolvem os componentes da casca, principalmente os compostos fenólicos, que influenciam na composição química e sensorial dos vinhos, interferindo no potencial de maturação e envelhecimento, determinando também substâncias nitrogenadas, polissacarídeos e minerais e conferindo cor, aroma, sabor e corpo ao vinho (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

No caso de vinhos frutados e jovens, a maceração deve ser curta, enquanto para vinhos de guarda, com teor de tanino mais elevado, deseja-se maceração mais prolongada (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

### 3.3.6 Descuba

Consiste na separação do líquido e das partes sólidas por ação da gravidade, em que uma tina é colocada sob a válvula de saída do tanque de fermentação e dali bombeia-se para outro recipiente, assegurando a aeração necessária às reações de polimerização dos polifenóis do vinho (VENTURINI FILHO, 2016). Pode ser realizada antes de concluída a fermentação alcoólica para vinhos jovens; logo após concluída a fermentação para vinhos com teor médio de tanino; e vários dias após a fermentação para vinhos de longo envelhecimento (GIOVANNINI; MANFROI, 2009). No caso de vinhos jovens, a descuba é realizada quando se deseja cessar a extração de composto da casca da uva. Já no caso de vinhos tintos para envelhecimento, a descuba é realizada após a fermentação alcoólica ou alguns dias depois, para

obter-se um vinho com maior conteúdo de compostos fenólicos (LAGO-VANZELA et al., 2015).

Fatores acidentais podem justificar uma descuba antecipada como a parada da fermentação para eliminação de parte importante da população bacteriana do bagaço responsável pela acidez volátil, por exemplo. Também pode ser feita sulfitação para garantir ausência de problemas bacterianos (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

### 3.3.7 Prensagem

Entre 10 % e 15 % do mosto total são provenientes do processo de prensagem. O mosto livre tem concentração inferior de taninos e geralmente tal concentração é superior no vinho proveniente da prensagem; portanto, alguns produtores preferem não realizar tal etapa. O mosto liberado pela prensagem também pode conter mais pigmentos coloridos (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

Alguns equipamentos auxiliam na execução desta etapa como prensas verticais, com pressão hidráulica, prensas de pratos, prensas pneumáticas, prensas contínuas e até mesmo processos manuais. Cerca de 70 % do vinho são obtidos da prensagem suave, que é de fácil extração e apresenta boa qualidade. Os outros 30 % são extraídos de uma segunda prensagem, possuem qualidade inferior, com elevado teor de constituintes amargos, herbáceos e com alta adstringência (GIOVANNINI; MANFROI, 2009). O produto obtido por prensagem leve é misturado ao vinho retirado por escorrimento, e o obtido por uma prensagem mais severa é normalmente destinado à destilação (VENTURINI FILHO, 2016).

### 3.3.8 Trasfega

É o processo de transferência do vinho de um recipiente para outro, removendo os sedimentos, que ocorre após a fermentação e maceração, deixando as cascas e sólidos no recipiente anterior, que serão prensados como próxima etapa, para obtenção de mosto adicional. A trasfega pode ocorrer diversas vezes durante a produção e maturação com intuito de reduzir ainda mais os sedimentos do vinho e clarificá-lo. A aeração pode ocorrer durante a prática, podendo ser necessária a utilização de SO<sub>2</sub>, para controle de micro-organismos e oxidações (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

As substâncias precipitadas ou borras constituem-se de um aglomerado de cascas de uva, pequenas sementes ou partes delas, leveduras, mucilagens, terra e ácidos, entre outras, que podem apresentar sabor desagradável e promover acetificação, caso fiquem em contato prolongado com o vinho, portanto essa etapa tem como função a aeração do vinho, reequilibrando seu potencial de oxidorredução (LAGO-VANZELA, 2015).

### 3.3.9 Fermentação malolática

Geralmente acompanha a fermentação alcoólica e pode ser chamada de fermentação secundária. Não há envolvimento das leveduras, e é uma transformação causada pela ação de bactérias do gênero *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Oenococcus*. O ácido málico é convertido em ácido lático com sabor mais suave, resultando em um tom amanteigado ou tostado ao vinho (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

A temperatura adequada para a fermentação malolática encontra-se entre 15 e 18 °C, para que não haja aumento da acidez volátil. Acidez elevada e pH abaixo de 3,10 interferem na fermentação malolática, portanto o tipo de vinho está diretamente ligado ao gênero de bactéria utilizado (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

Essa fermentação gera desprendimento do dióxido de carbono e pequena elevação da acidez volátil e do pH, reduzindo a acidez total, proporcionando maior estabilidade biológica e complexidade de aroma e paladar (LAGO-VANZELA, 2015).

### 3.3.10 Atesto

Nada mais é que a operação de preencher periodicamente os recipientes de vinho, sendo fundamental para controlar contaminações, principalmente por bactérias aeróbias (GIOVANNINI; MANFROI, 2009). Visa o enchimento completo dos recipientes, evitando espaços de ar, que favorecem a oxidação descontrolada do vinho e desenvolvimento de bactérias acéticas (VENTURINI FILHO, 2016).

Diversas são as causas de perda de volume nos recipientes, como perda de CO<sub>2</sub> e de líquido para a atmosfera, resfriamento após fermentação, diminuição da temperatura no inverno, absorção pela madeira, evaporação e vazamentos acidentais. Normalmente é efetuado uma a duas vezes por semana após a fermentação e a cada 7 a 15 dias, conforme a época do ano (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

### 3.3.11 Clarificação

A clarificação estática é feita há muito tempo na Enologia, sendo utilizados clarificantes orgânicos como sangue e clara de ovo. Hoje em dia, clarificantes como gelatina, sílica, bentonite e caseinato de potássio podem ser usados sem restrições. Para melhoria do processo, as albuminas têm sido utilizadas juntamente com clarificantes complexos, e a dose empregada para vinhos tintos é de 10 a 25 g/hL (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

Esse procedimento pode melhorar as características sensoriais pela eliminação de aromas oxidados e da suavização de taninos amargos ou adstringentes, também facilitando a eficácia das filtrações (LAGO-VANZELA, 2015).

### 3.3.12 Filtração

Pode-se definir como filtração a técnica de separação das duas fases do mosto, sólida e líquida, por um meio poroso, buscando a limpidez. Os filtros estão classificados em dois grandes grupos. Os de profundidade, que retêm partículas no interior da massa filtrante, e os de superfície, que funcionam como peneiras, retendo os componentes sólidos na superfície do material. Os com maior aplicação são os de terras, placas de celulose e os de membrana (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

A filtração tem o propósito de eliminar as partículas em suspensão não separadas na clarificação, acrescentando limpidez e brilho, porém podem arrastar compostos desejáveis (LAGO-VANZELA, 2015).

### 3.3.13 Maturação

Imediatamente após a fermentação, o vinho pode apresentar sabor levemente desagradável. A maturação é necessária para suavizar os taninos e diminuir os níveis de acidez. O tempo dependerá do estilo, qualidade e custos do vinho (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

Alguns vinhos de alta qualidade passam, por exemplo, 9 a 22 meses em barris de maturação, sob oxigenação controlada, absorvendo produtos da madeira utilizada, como taninos e vanilina, sendo que quanto menor o barril, mais rápida a maturação. A temperatura também

tem papel importante, quanto menor, mais lenta a maturação. Durante o período de maturação, podem ser feitas trasfegas para auxílio na clarificação: alguns vinhos Bordô, por exemplo, passam por quatro durante o primeiro ano e duas durante o segundo (GRAINGER; TATTERSALL, 2005).

#### 3.3.14 Engarrafamento

O engarrafamento determinará as condições em que o vinho chegará ao consumidor. Geralmente, são utilizadas garrafas de vidro de 750 mL de variadas formas, que são esterilizadas e então preenchidas, injetando-se nitrogênio antes do vinho, com objetivo de proteger contra contaminações e oxidações. Em seguida, fecham-se as garrafas com rolhas, dependendo do formato do bico e máquina utilizados (LAGO-VANZELA, 2015).

Os maiores prejuízos acontecem nesta etapa, pois podem prejudicar a apresentação e aceitabilidade da marca, originar problemas de logística e descarte de produtos. Hoje em dia, os mercados obrigam o produtor e a empresa que engarrafa o produto a empregarem técnicas rigorosas, para satisfazer normas de compradores, garantindo inocuidade e qualidade (LAGO-VANZELA, 2015).

#### 3.3.15 Envelhecimento

Nem todos os vinhos podem ser envelhecidos: a maioria dos vinhos brasileiros possui caráter jovial, não suportando muito tempo em garrafa, onde, devido à ausência de oxigênio, ocorrem reações e fenômenos impostos pelo meio redutor e mudanças nos polifenóis (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

As garrafas, sem rótulo, devem ser armazenadas na posição horizontal, em baixa temperatura (12 a 18 °C), sob baixa luminosidade, umidade relativa do ar em torno de 65 a 70% e isolamento acústico (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização do projeto, os seguintes materiais foram utilizados.

### 4.1 Material

Para desenvolvimento da pesquisa, a seguinte lista de material foi utilizada:

- 120 Kg de uva Bordô colhidas na região de São Roque – SP, safra de Janeiro de 2018;
- Açúcar cristal;
- Água destilada
- Bacias de plástico para esmagamento das uvas;
- Baldes de plástico de 10 L com tampa utilizados como reatores fermentativos para elaboração dos vinhos;
- Béqueres de 250 mL;
- Balões volumétricos de 5 mL e 10 mL;
- Frascos Erlenmeyer de 250 mL e 500 mL;
- Provetas de 250 mL;
- Bureta de 25 mL;
- Aparato para titulometria;
- Bandejas;
- Lápis;
- Fichas de avaliação;
- Copos descartáveis de 50 mL e 200 mL;
- Colheres;
- Peneiras;

- Garrafas plásticas de 1,5 L com tampas adaptadas com tubos para passagem de gás carbônico durante a fermentação;
- Garrafas de vidro de 750 mL;
- Rolhas de cortiça;
- Refratômetro portátil;
- Câmara de Neubauer;
- Microscópio eletrônico;
- pHmetro;
- Destilador Tecnal;
- Cápsulas de porcelana;
- Banho termostático;
- Espectrofotômetro de absorvância
- Determinador de açúcares redutores Redutec Tecnal (TE0861)
- Densímetro eletrônico (DMA 4500M, Anton Paar®);
- *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada (Y904 Bruns Philp®, Australia);
- *Brettanomyces claussenii* em meio líquido (WLP645 White Labas Inc.®, EUA);
- Bactéria ácido-lática liofilizada *Oenococcus oeni* (Laffort®);
- Etanol PA;
- Metabissulfito de potássio em pó;
- Soluções de ácido gálico;
- Solução de hidróxido de sódio 0,1 M;
- Solução de glicose (3 g/L);
- Solução saturada de acetato neutro de chumbo;
- Solução de fenolftaleína;



- Solução saturada de carbonato de cálcio
- Solução de ácido clorídrico 5%,
- Solução de Fehling A e B;

## 4.2 Vinificação

Com auxílio do material citado, o estudo foi desenvolvido da seguinte maneira.

As uvas foram colhidas na cidade de São Roque (23° 31' 45" Sul e 47° 08' 07" Oeste), situada na Região Metropolitana de Sorocaba, na Mesorregião Macro Metropolitana Paulista e na Microrregião de Sorocaba.

Foram produzidos cinco diferentes vinhos tintos da uva Bordô (*Vitis labrusca*), em duplicatas, com cinco diferentes proporções de leveduras, representadas na Tabela 2, sendo que, para cada proporção, as *Brettanomyces* foram inoculadas juntamente com as *Saccharomyces*, para iniciarem a fermentação tumultuosa, sob temperatura de 20 °C.

Tabela 2 – Porcentagem de leveduras inoculadas na vinificação.

Tratamento	Porcentagem de levedura (%)	
	<i>Saccharomyces</i>	<i>Brettanomyces</i>
1	100	0
2	75	25
3	50	50
4	25	75
5	0	100

O experimento iniciou-se com o desengace das uvas e esmagamento manual, para liberação do mosto fermentativo, utilizando-se 6 Kg de uva para cada tratamento, como pode-se observar nas Figuras 1, 2 e 3. O mosto e o bagaço foram inseridos em reatores fermentativos

de 10 L e a mistura tratada com metabissulfito de potássio na proporção de 0,1 g para cada 1 Kg de uva. Mediu-se o teor de sólidos solúveis e pH de 10 bagas aleatórias, obtendo-se pH médio de 3,20 e 14 ° Brix.

Figura 2 – Uva Bordô antes do desengace.



Figura 3 – Uva Bordô durante esmagamento manual.



Figura 4 – Uva Bordô após esmagamento.



Aplicou-se a fórmula para cálculo da densidade do mosto, possibilitando o cálculo do volume teórico:

$$D_{\text{mosto}} = \frac{261,6}{261,6 - ^\circ \text{Brix}} = \frac{261,6}{247,6} = 1,057 \left( \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right)$$

$$V_{\text{teórico}} = \frac{m}{D_{\text{mosto}}} = \frac{6000}{1,057} = 5676,44 \text{ mL} = 5,68 \text{ L}$$

Utilizou-se *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada (Y904 Bruns Philp®, Australia), na dose de 0,2 g/L. A *Brettanomyces claussenii* em meio líquido (WLP645 White Labas Inc.®, EUA) foi cultivada em solução de sacarose com 8 °Brix e 1% de extrato de levedura, para obtenção de um meio de células (Figura 4).

Figura 5 – *Brettanomyces claussenii* cultivada.



Para encontrar a proporção entre as leveduras utilizadas, efetuou-se a quantificação de *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada em água destilada e do meio com *Brettanomyces*, através da contagem de células em câmara de Neubauer.

A fermentação alcoólica tumultuosa, etapa que consiste da transformação dos açúcares de uva dissolvidos no mosto em álcool etílico e subprodutos, induzida pela inoculação das leveduras, ocorreu por sete dias, realizando-se duas remontagens ao dia durante os cinco primeiros dias e permitindo a maceração nos dois últimos dias, sem abrir os reatores. Mediu-se a densidade dos mostos, para avaliar a eficiência da fermentação alcoólica e promoveu-se a descuba.

As uvas foram submetidas ao processo de vinificação padrão, efetuando-se a etapa de chaptalização para correção do açúcar, a fim de obter-se vinhos com teor alcoólico entre 7,0 e 14 % v/v, como determina a legislação brasileira (BRASIL, 2004). Geralmente, para cada 1% v/v, adiciona-se 1,7 Kg de açúcar para 100 L de mosto (LAGO-VANZELA, 2015), obedecendo-se o limite de elevação máxima de 3 graus na graduação alcoólica, sendo que, no caso de vinhos de *Vitis labrusca* com graduação alcoólica entre 9 % (v/v) e 13 % (v/v), a chaptalização do mosto deve resultar em um aumento de até 2 % em álcool (v/v) (BRASIL, 2014).

Para os cálculos da chaptalização, converteu-se 14 ° Brix em 12,4 ° Babo. Cada 1,7 °Babo, eleva 1 % (v/v) do vinho e equivalem a 17 gramas de açúcar por litro. As uvas utilizadas deveriam originar 6,8 % (v/v) de álcool, portanto chaptalizou-se para que o vinho atingisse 9,8 % (v/v), adicionando-se 51 gramas de açúcar para cada litro de vinho.

Após a descuba, o bagaço foi manualmente prensado e o mosto resultante dessa prensagem reincorporado ao vinho liberado pela descuba, repetindo-se o processo até liberação de mosto com aspecto mais viscoso (Figura 5). Esse volume foi inserido em outro reator fermentativo, repousando por 10 dias. Após esse período, ocorreu a primeira trasfega (passagem

do vinho de um recipiente para outro com finalidade da remoção da borra), passando-se o vinho para outro reator, deixando-o por mais 10 dias. Foi realizada então a segunda trasfega, quando também foi induzida a fermentação malolática pela inoculação da bactéria ácido-lática *Oenococcus oeni* (Laffort®), com a finalidade de transformar o ácido málico em ácido láctico, desprendendo CO<sub>2</sub> e causando pequena elevação da acidez volátil e do pH, proporcionando maior estabilidade biológica e complexidade no aroma e paladar (LAGO-VANZELA, 2015). *Oenococcus oeni* foi adicionado na dose de 1 grama por 100 L de vinho, juntamente com preparação específica nutriente para micro-organismos inertizados na proporção de 5 gramas por 100 L, acondicionados em béqueres por 30 min com mistura de 5 mL de vinho e 5 mL de água.

Figura 6 – Vinho prensado.



Após a finalização da fermentação malolática, acompanhada por cromatografia em papel, novamente foi aplicado metabissulfito de potássio na proporção de 6 g por 100 L de vinho. Então os vinhos foram trasfegados, estocados em ambiente de refrigeração 10 °C para possibilitar a estabilização tartárica e, após 10 dias, engarrafados para posterior análise. Os vinhos foram envelhecidos em garrafa de 750 mL por 90 dias.

### 4.3 Análises Físico-químicas

Foram realizadas análises físico-químicas das amostras de vinho referentes aos 5 tratamentos do estudo, sendo elas:

Acidez total e volátil (meq/L em ácido tartárico e acético, respectivamente), utilizando pHmetro, aparato para titulometria e destilador Tecnal (TE0363) (BRASIL, 1986; IAL, 2005; RIZZON et al., 2003).

A acidez fixa, calculada pela diferença entre a acidez total e a acidez volátil (IAL, 2005).

Extrato seco total (g/L), utilizando cápsulas de porcelana e banho termostático a 100 °C (AOAC, 1992; IAL, 2005);

Teor de compostos fenólicos totais (mg/L de ácido gálico), pelo método de Folin-Ciocalteu com emprego de espectrofotômetro de absorvância a 765 nm (SLINKARD; SINGLETON, 1977).

Açúcares redutores, utilizando determinador de açúcares redutores Redutec Tecnal (TE0861) (AOAC, 1992), baseado no método de Lane-Eynon com redução de íons cobre a partir da solução de Fehling (AOAC, 2005);

Teor alcoólico (% v/v) e densidade (g/cm<sup>3</sup>), utilizando densímetro eletrônico (DMA 4500M, Anton Paar®) (AOAC, 1992; IAL, 2005);

Estudo de cor, com o emprego de espectrofotômetro de absorvância Biospectro SP-22 a 450, 520, 570 e 630nm e com auxílio do software MSCV Grupo de Color - Universidade de La Rioja-Universidade de Zaragoza (2012), que converte as medidas de absorvância para o sistema CieLAB. Para realização do estudo, foi preciso diluir as amostras a 10<sup>-1</sup>, possibilitando a leitura.

#### 4.4 Análise Sensorial

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Unesp de São José do Rio Preto (parecer número 2.447.651).

A avaliação sensorial para aceitação foi realizada com os 5 vinhos produzidos e 1 vinho comercial do mesmo tipo de uva e da mesma vinícola de onde foram obtidas as uvas utilizadas, para evidenciar se as alterações proporcionadas pela *Brettanomyces* afetam a opinião do consumidor.

As análises foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos do Ibilce, Universidade Estadual Paulista, campus São José do Rio Preto. Foram realizadas duas sessões compostas por um painel de 102 julgadores não treinados, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, fichas e material conforme mostrado na Figura 6. Os participantes foram caracterizados a partir das respostas coletadas na ficha representada na Figura 7, respondendo o quanto gostam de vinho e qual o consumo médio mensal. Avaliaram a aceitação dos atributos aparência, aroma, corpo, sabor e a aceitação geral para o vinho, utilizando uma escala hedônica verbal de nove pontos (1 - desgostei extremamente, 5 - não gostei nem desgostei e 9 - gostei extremamente) (MEILGAARD et al., 1999) e opinaram sobre a intenção de compra referente aos produtos utilizando a ficha da Figura 8. Os julgadores realizaram as análises sensoriais em cabines individuais sob luz branca com temperatura de 23 a 25 °C. As bebidas foram apresentadas em copos descartáveis, transparentes, contendo 15 mL de amostra a temperatura ambiente de forma monádica sequencial com blocos completos, codificadas com três dígitos aleatórios, com auxílio do LibreOffice Calc (2018).

Figura 7 – Bandeja de apresentação de amostras.

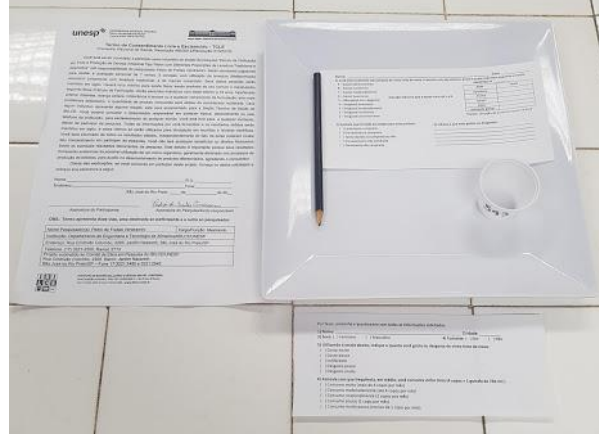


Figura 8 – Ficha de caracterização do julgador.

Por favor, preencha o questionário com todas as informações solicitadas.

- 1) Nome: \_\_\_\_\_ 2) Idade: \_\_\_\_\_
- 3) Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino 4) Fumante: ( ) Sim ( ) Não
- 5) Utilizando a escala abaixo, indique o quanto você gosta ou desgosta de vinho tinto de mesa:
- ( ) Gosto muito
  - ( ) Gosto pouco
  - ( ) Indiferente
  - ( ) Desgosto pouco
  - ( ) Desgosto muito
- 6) Assinale com que frequência, em média, você consome vinho tinto (4 copos = 1 garrafa de 750 mL):
- ( ) Consumo muito (mais de 4 copos por mês)
  - ( ) Consumo moderadamente (até 4 copos por mês)
  - ( ) Consumo ocasionalmente (2 copos por mês)
  - ( ) Consumo pouco (1 copo por mês)
  - ( ) Consumo muito pouco (menos de 1 copo por mês)

Figura 9 – Ficha de avaliação dos atributos.

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

1) Você está recebendo uma amostra de vinho tinto de mesa. Preencha com seu número, prove e avalie cada item seguindo a escala.

- 9 – Gostei extremamente
- 8 – Gostei muitíssimo
- 7 – Gostei moderadamente
- 6 – Gostei levemente
- 5 – Não gostei nem desgostei
- 4 – Desgostei levemente
- 3 – Desgostei moderadamente
- 2 – Desgostei muitíssimo
- 1 – Desgostei extremamente

Atenção! Observe que a escala varia de 1 a 9.

AMOSTRA nº \_\_\_\_\_

Item	Nota
Aparência	
Aroma	
Corpo*	
Sabor	
Aceitação global	

\*Corpo: sensação de preenchimento na boca

2) Assinale sua intenção de compra para este produto:

- ( ) Certamente compraria.
- ( ) Provavelmente compraria.
- ( ) Tenho dúvidas se compraria ou não.
- ( ) Provavelmente não compraria.
- ( ) Certamente não compraria.

3) Indique o que mais gostou ou desgostou:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



#### **4.5 Análise de dados**

Os resultados das análises físico-químicas e sensoriais foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão e avaliadas utilizando Análise de Variância (ANOVA) fator único e fator duplo, respectivamente, com o teste de comparação múltipla de Tukey, quando observadas diferenças significativas, ao nível de 5 % de significância. Para as análises físico-químicas também se desenvolveu Análise de Componentes Principais (ACP), pela verificação da correlação entre os parâmetros e plotagem dos fatores correspondentes, considerando carga fatorial maior ou igual a 0,7 ou menor ou igual a -0,7 para explicação da componente. Para a análise sensorial, realizou-se Análise de Cluster, pelo método de Ward, e Mapa de Preferência Interno, criando-se escala multidimensional (MPI). As análises foram desenvolvidas no *software* STATISTICA (2007) (StatSoft Inc.) e foram elaborados gráficos de distribuição para o “quanto gostam”, “quanto consomem” e “intenção de compra”.

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **5.1 Análises Físico-químicas**

Na Tabela 3, estão os resultados obtidos para as análises físico-químicas dos vinhos, representados pelas respectivas siglas já mencionadas e as letras A e B, para diferenciar reatores, uma vez que cada vinho foi produzido em duplicata.

Tabela 3 – Resultados para as determinações físico-químicas.

Determinações*	Vinhos					
	1A	1B	2A	2B	3A	3B
ALC (% v/v)	8,95±0,06 <sup>g</sup>	9,25±0,06 <sup>f</sup>	10,00±0,00 <sup>cd</sup>	9,40±0,00 <sup>e</sup>	10,20±0,00 <sup>b</sup>	10,55±0,06 <sup>a</sup>
DENS (g cm <sup>-3</sup> )	0,9877±0,0001 <sup>a</sup>	0,9874±0,0001 <sup>b</sup>	0,9865±0,0000 <sup>cd</sup>	0,9872±0,0000 <sup>b</sup>	0,9862±0,0001 <sup>c</sup>	0,9858±0,0001 <sup>f</sup>
ACT (meq L <sup>-1</sup> )	94,34±0,94 <sup>c</sup>	94,34±0,00 <sup>c</sup>	98,74±0,54 <sup>b</sup>	87,42±0,54 <sup>d</sup>	98,74±1,96 <sup>b</sup>	87,74±0,00 <sup>d</sup>
ACV (meq L <sup>-1</sup> )	3,69±0,22 <sup>c</sup>	5,99±0,22 <sup>a</sup>	5,61±0,22 <sup>a</sup>	3,82±0,00 <sup>c</sup>	4,59±0,66 <sup>bc</sup>	5,48±0,22 <sup>ab</sup>
ACF (meq L <sup>-1</sup> )	90,65±1,14 <sup>de</sup>	88,35±0,22 <sup>e</sup>	93,14±0,68 <sup>cd</sup>	83,60±0,54 <sup>f</sup>	94,16±2,61 <sup>bc</sup>	82,26±0,22 <sup>f</sup>
pH	3,27±0,12	3,27±0,06	3,20±0,00	3,23±0,06	3,27±0,06	3,30±0,10
ACR (g L <sup>-1</sup> )	3,93±0,06 <sup>ab</sup>	3,69±0,09 <sup>bc</sup>	3,97±0,16 <sup>ab</sup>	4,04±0,07 <sup>a</sup>	4,01±0,22 <sup>a</sup>	3,19±0,02 <sup>e</sup>
FEN (mg L <sup>-1</sup> )	1110,20±5,86 <sup>d</sup>	1172,37±4,22 <sup>b</sup>	1049,56±7,63 <sup>f</sup>	1041,08±2,33 <sup>f</sup>	1214,15±5,13 <sup>a</sup>	1157,41±3,67 <sup>c</sup>
EXT (g/L)	23,08±0,11 <sup>a</sup>	19,00±0,66 <sup>b</sup>	22,71±1,34 <sup>a</sup>	19,32±0,18 <sup>b</sup>	15,99±1,30 <sup>c</sup>	19,11±0,02 <sup>b</sup>
L*	1,6±0,1 <sup>e</sup>	14,0±0,1 <sup>b</sup>	9,9±0,7 <sup>c</sup>	14,2±0,0 <sup>b</sup>	10,4±0,8 <sup>c</sup>	10,4±0,1 <sup>c</sup>
C*	11,12±0,47 <sup>e</sup>	49,96±0,02 <sup>b</sup>	43,03±1,44 <sup>c</sup>	50,79±0,05 <sup>b</sup>	43,99±1,63 <sup>c</sup>	44,26±0,22 <sup>c</sup>
h*	14,06±0,01 <sup>f</sup>	27,37±0,03 <sup>b</sup>	22,42±0,97 <sup>c</sup>	27,58±0,01 <sup>b</sup>	23,73±1,03 <sup>c</sup>	23,45±0,13 <sup>c</sup>
a*	10,79±0,46 <sup>e</sup>	44,37±0,03 <sup>b</sup>	39,77±1,05 <sup>c</sup>	45,02±0,04 <sup>b</sup>	40,26±1,17 <sup>c</sup>	40,61±0,16 <sup>c</sup>
b*	2,70±0,12 <sup>e</sup>	22,97±0,02 <sup>b</sup>	16,43±1,22 <sup>c</sup>	23,51±0,02 <sup>b</sup>	17,72±1,37 <sup>c</sup>	17,61±0,18 <sup>c</sup>
INT	13,51±0,13 <sup>a</sup>	8,71±0,01 <sup>f</sup>	9,71±0,06 <sup>e</sup>	8,53±0,01 <sup>g</sup>	10,58±0,08 <sup>d</sup>	11,06±0,00 <sup>c</sup>
COL	0,781±0,004 <sup>a</sup>	0,616±0,003 <sup>e</sup>	0,603±0,001 <sup>f</sup>	0,667±0,003 <sup>c</sup>	0,676±0,004 <sup>b</sup>	0,571±0,001 <sup>g</sup>

\*Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

ACT: acidez total; ACV: acidez volátil; ACF: acidez fixa; DENS: densidade; ALC: teor alcoólico; EXT: extrato seco, reduzido; ACR: açúcar redutor; FEN: fenólicos totais; L\*: luminosidade; C\*: cor; h\*: tonalidade; a\*: oposição entre vermelho e verde; b\*: oposição entre amarelo e azul; INT: intensidade de cor; COL: coloração.

Tabela 3 continuação – Resultados para as determinações físico-químicas.

Determinações*	Vinhos			
	4A	4B	5A	5B
ALC (% v/v)	10,05±0,06c	9,85±0,06d	10,05±0,06c	9,90±0,00d
DENS (g cm <sup>-3</sup> )	0,9864±0,0001d	0,9866±0,0001c	0,9864±0,0001d	0,9866±0,0000cd
ACT (meq L <sup>-1</sup> )	103,15±0,54 <sup>a</sup>	93,71±0,54 <sup>c</sup>	104,72±1,63 <sup>a</sup>	98,74±0,54 <sup>b</sup>
ACV (meq L <sup>-1</sup> )	5,99±0,44 <sup>a</sup>	5,22±0,22 <sup>ab</sup>	3,69±0,22 <sup>c</sup>	4,08±0,22 <sup>c</sup>
ACF (meq L <sup>-1</sup> )	97,16±0,86 <sup>b</sup>	88,49±0,77 <sup>e</sup>	101,02±1,85 <sup>a</sup>	94,67±0,32 <sup>bc</sup>
pH	3,27±0,06	3,27±0,06	3,17±0,06	3,20±0,00
ACR (g L <sup>-1</sup> )	3,30±0,12 <sup>de</sup>	3,56±0,04 <sup>cd</sup>	3,13±0,07 <sup>e</sup>	3,79±0,05 <sup>abc</sup>
FEN (mg L <sup>-1</sup> )	1071,55±1,15 <sup>e</sup>	1067,25±3,99 <sup>e</sup>	1045,22±2,52 <sup>f</sup>	974,15±4,20 <sup>g</sup>
EXT (g/L)	21,40±0,04 <sup>a</sup>	18,34±0,40 <sup>b</sup>	23,01±0,25 <sup>a</sup>	19,40±0,34 <sup>b</sup>
L*	14,0±0,9 <sup>b</sup>	5,7±0,0 <sup>d</sup>	18,0±0,9 <sup>a</sup>	6,9±0,0 <sup>d</sup>
C*	50,55±1,97 <sup>b</sup>	34,48±0,02 <sup>d</sup>	56,60±2,04 <sup>a</sup>	35,88±0,01 <sup>d</sup>
h*	26,56±0,69 <sup>b</sup>	16,18±0,01 <sup>e</sup>	29,36±0,86 <sup>a</sup>	18,26±0,01 <sup>d</sup>
a*	45,20±1,39 <sup>b</sup>	33,11±0,02 <sup>d</sup>	49,32±1,37 <sup>a</sup>	34,07±0,01 <sup>d</sup>
b*	22,61±1,62 <sup>b</sup>	9,61±0,01 <sup>d</sup>	27,76±1,74 <sup>a</sup>	11,25±0,00 <sup>d</sup>
INT	8,46±0,06 <sup>g</sup>	11,41±0,01 <sup>b</sup>	7,54±0,04 <sup>h</sup>	9,63±0,00 <sup>e</sup>
COL	0,605±0,004 <sup>f</sup>	0,637±0,005 <sup>d</sup>	0,579±0,003 <sup>g</sup>	0,630±0,001 <sup>d</sup>

\*Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

ACT: acidez total; ACV: acidez volátil; ACF: acidez fixa; DENS: densidade; ALC: teor alcoólico; EXT: extrato seco, reduzido; ACR: açúcar redutor; FEN: fenólicos totais; L\*: luminosidade; C\*: croma; h\*: tonalidade; a\*: oposição entre vermelho e verde; b\*: oposição entre amarelo e azul; INT: intensidade de cor; COL: coloração.

Para o teor alcoólico (ALC), houve diferença entre as amostras, independentemente das proporções de levedura utilizadas, pois não houve um comportamento linear, com indicação de maiores teores para as amostras 3 (50 % *Saccharomyces* e 50 % *Brettanomyces*), e menores teores para as amostras 1 (100 % *Saccharomyces*). Todos os vinhos apresentaram teor alcoólico de acordo com a legislação, entre 9 % v/v e 13 % v/v (BRASIL, 2014).

A densidade (DENS) apresentou resultados com comportamento inverso ao do teor alcoólico, portanto o tratamento 1 apresentaram maior densidade, enquanto as amostras 3 apresentaram menores valores para esse parâmetro.

A acidez total (ACT) também não mostrou comportamento expressivo relacionado à proporção de micro-organismos, porém indicou maiores resultados para as amostras 5 (100 % *Brettanomyces*), o que pode significar discreta ação da levedura alternativa no aumento da acidez do vinho. Quanto à acidez volátil (ACV), observaram-se menores valores para as mesmas amostras. Como a acidez fixa (ACF) é calculada pela diferença entre ACT e ACV, novamente obteve-se maiores valores para as amostras 5. Todos os valores obtidos condizem e se aproximam dos obtidos por Castilhos et al. (2012), Tecchio et al. (2007) e Barnabé (2006). A acidez do vinho é um dos maiores contribuintes para qualidade e estabilidade, pois está ligada à preservação microbiológica e torna o vinho um ambiente impróprio para o desenvolvimento de alguns tipos de microrganismos. Vinhos tintos apresentam certa estabilidade à baixa acidez, evitando sua deterioração (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nas análises para o pH, que ficou entre 3,17 e 3,30, corroborando com resultados de outras pesquisas (CASTILHOS et al., 2012; TECCHIO et al., 2007). Uma das propriedades do pH é a manutenção da cor dos vinhos, visto que à medida que o pH do vinho aumenta, as antocianinas perdem sua coloração avermelhada, tornando-se azuladas, porém tal fato não foi observado no estudo, provavelmente devido à composição da uva (JACKSON, 2008).

Para as análises de açúcares redutores (ACR), alguns vinhos apresentaram valores superiores a 4 g/L, porém considerando-se o desvio da análise, possíveis erros do método e de manuseio, ainda se pode classificá-los como vinhos secos, além disso os valores estão próximos dos valores reportados por Tecchio et al. (2007). Os açúcares podem acarretar severas mudanças nos vinhos, principalmente a coloração e a volatilização de compostos aromáticos (JACKSON, 2008).

Os teores de fenólicos totais (FEN) apresentaram menores valores para as amostras 2 e 5, porém ainda são valores consideráveis, pois esperava-se que a uva Bordô apresentasse resultados significativos para fenólicos, devido a sua constituição e coloração, uma vez que é conhecida pela alta coloração. Os compostos fenólicos afetam a aparência, o sabor, a textura, o aroma e as propriedades antimicrobianas dos vinhos, são originários da uva, sendo também retirados das barricas de carvalho no processo de envelhecimento, raramente advindos do metabolismo das leveduras (JACKSON, 2008).

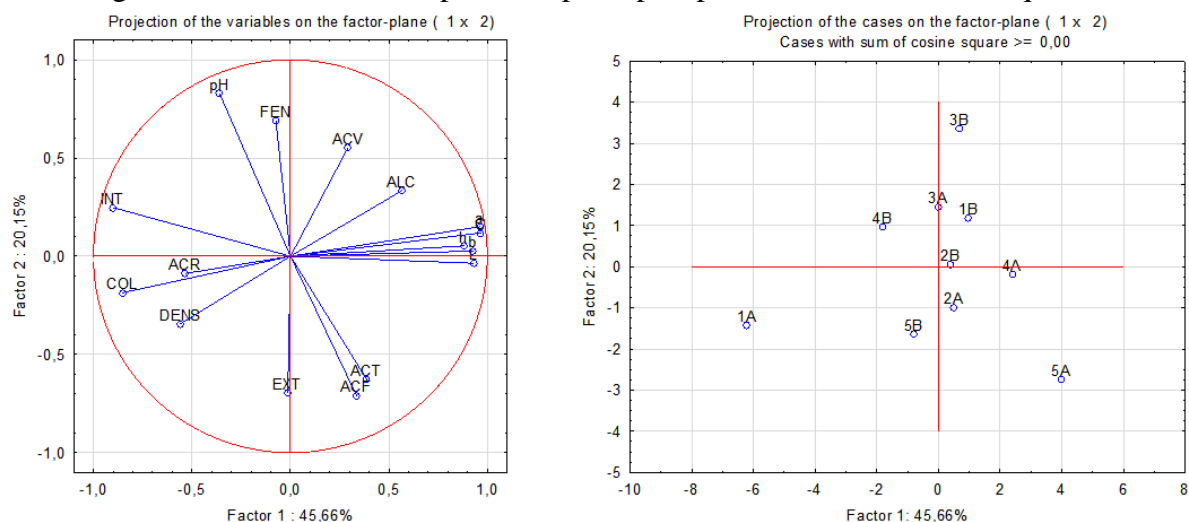
O extrato seco (EXT), que normalmente relaciona-se com a densidade do vinho, refletindo no corpo do mesmo, mostrou resultados próximos a 20 g/L, o que se traduz em vinhos leves (ZOECKLEIN et al., 1994). Valores próximos foram encontrados por Barnabé (2016), exceto no caso do vinho 3A, que apresentou valor abaixo do esperado.

A luminosidade (L) variou entre 1,6 e 18,0, portanto, apesar das diferenças estatísticas significativas, todos apresentaram baixo valor. Para croma (11,12 a 56,60), tonalidade (14,06 a 29,36), oposição entre vermelho e verde (10,79 a 49,32), oposição entre amarelo e azul (2,70 a 27,76), o comportamento das amostras foi semelhante ao da luminosidade. A cor apresentou matiz direcionada para o vermelho e para o amarelo, uma vez que os valores para oposição entre vermelho e verde e oposição entre amarelo e azul foram positivos. A intensidade de cor (7,54 a 13,51) e os demais valores encontraram-se de acordo com os obtidos por Sáenz-Navajas et al. (2011), exceto a luminosidade dos vinhos do presente trabalho que foi inferior,

provavelmente devido à uva utilizada, caracterizada por pigmentos escuros. A coloração (COL) (0,571 a 0,781) encontrou-se entre valores obtidos por Castilhos et al. (2012) e Tecchio et al. (2007).

As componentes principais (Figura 10) mostraram que as componentes 1 e 2 explicaram 45,66 % e 20,15 % da variação dos dados, totalizando 66,81 %. A primeira componente principal foi explicada por coloração e intensidade de cor (carga fatorial  $\leq -0,07$ ) e croma, luminosidade, oposição entre verde e vermelho, oposição entre amarelo e azul e tonalidade (carga fatorial  $\geq 0,07$ ) (Figura 9). A segunda componente foi determinada pela acidez total, acidez fixa e extrato seco (carga fatorial  $\leq -0,07$ ) e pH (carga fatorial  $\geq 0,07$ ). A amostra 1A apresentou forte relação com os parâmetros de coloração e intensidade de cor (componente 1), assim como a amostra 5A que apresentou maiores valores para os índices de cor referentes ao espaço CIELab (componente 1). A amostra 5A também apresentou maiores valores para extrato seco e para acidez (total e fixa) (componente 2), sendo a amostra 3B a responsável por apresentar maior valor médio de pH e maior teor de fenólicos totais (componente 2). As demais amostras localizaram-se ao redor da região central do gráfico, não apresentando forte relação com as demais variáveis avaliadas.

Figura 10 – Análise de componentes principais para os resultados físico-químicos.

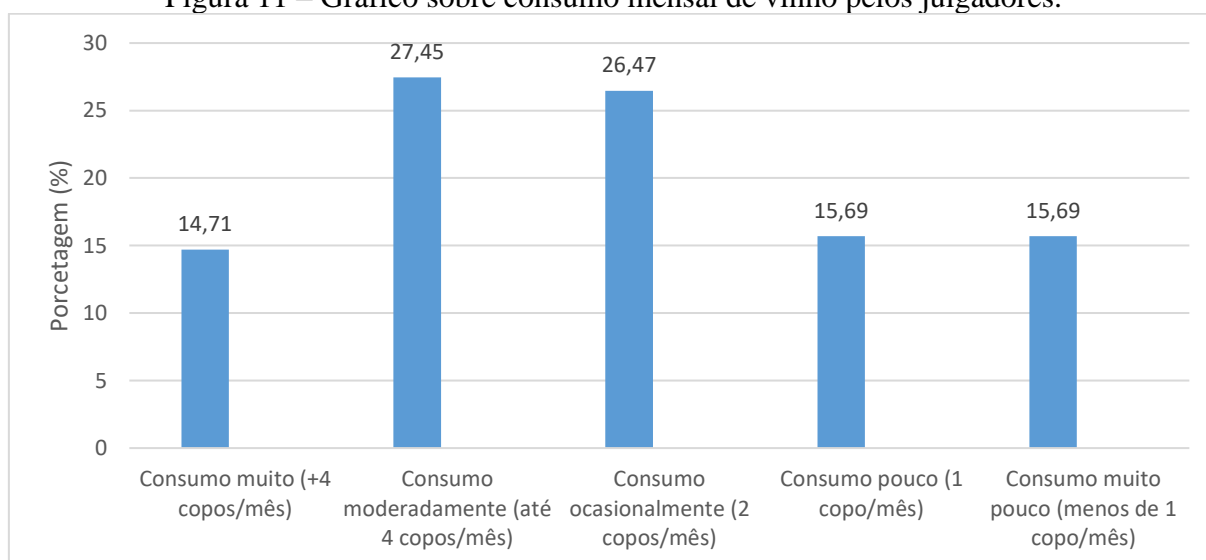


## 5.2 Análise Sensorial

Do total de 102 consumidores, a idade variou de 18 a 53 anos, sendo 62 (60,8 %) mulheres e 40 (39,2 %) homens, dentre eles 6 (5,9 %) eram fumantes. 66,67 % dos julgadores avaliados responderam gostar muito de vinho, 33,33 % responderam gostar pouco.

A Figura 11 mostrou que 14,71 % dos julgadores avaliados responderam consumir mais de 4 copos por mês, 27,45 % responderam consumir até 4 copos por mês, 26,47 % responderam consumir 2 copos por mês, 15,69 % consomem 1 copo por mês e 15,69 % consomem menos de 1 copo por mês.

Figura 11 – Gráfico sobre consumo mensal de vinho pelos julgadores.



Na Tabela 4, que contém as estatísticas descritivas dos atributos avaliados, ficou evidente a existência de diferenças significativas somente para os atributos da amostra comercial em relação aos atributos das outras amostras, portanto não houve diferença entre os vinhos produzidos. Mesmo realizando-se nova análise estatística entre as amostras, excluindo-se a comercial, também não houve diferenças significativas entre as amostras teste. Ao analisar-se os valores obtidos juntamente com quanto os consumidores gostam de vinho, a média de consumo e por observação durante a análise sensorial no laboratório, notou-se que muitos

participantes eram consumidores de vinho suave e não de vinho seco, como era esperado no estudo, o que interferiu diretamente nas notas e na intenção de compra.

Tabela 4 – Média  $\pm$  desvio padrão dos atributos da análise sensorial.

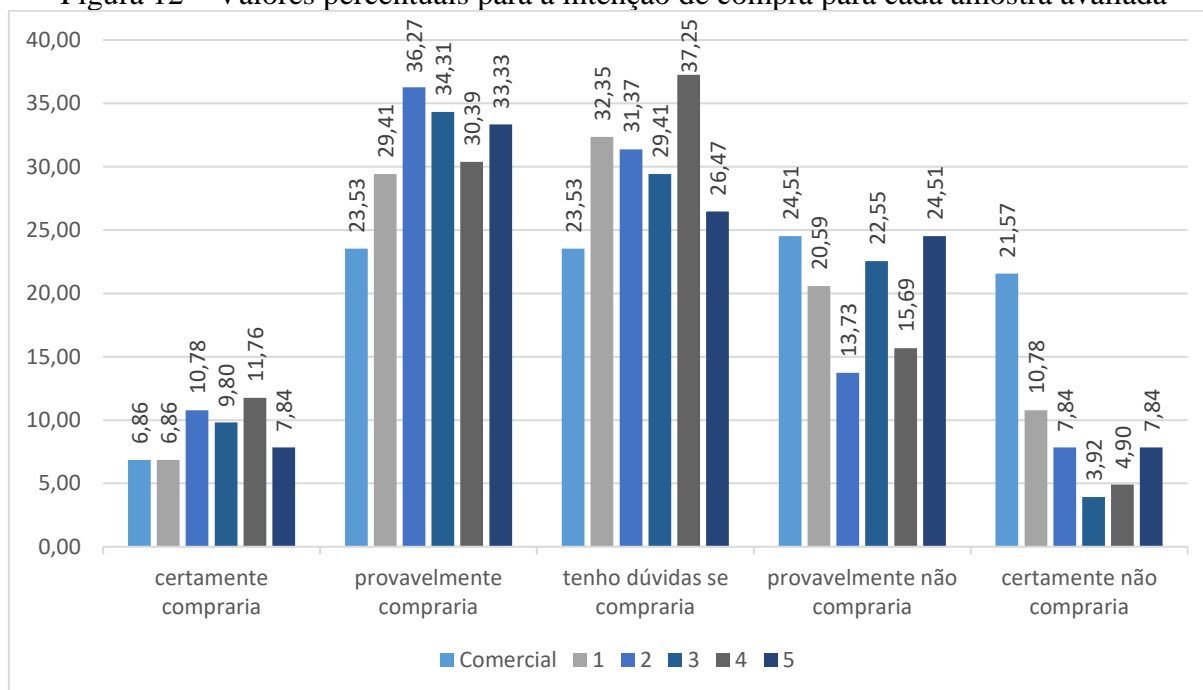
Atributos*	Vinhos					
	Comercial	1	2	3	4	5
Aparência	7,12 $\pm$ 1,86 <sup>b</sup>	7,61 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	7,76 $\pm$ 1,28 <sup>a</sup>	7,70 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>	7,63 $\pm$ 1,27 <sup>a</sup>	7,62 $\pm$ 1,38 <sup>a</sup>
Aroma	5,36 $\pm$ 2,25 <sup>b</sup>	6,75 $\pm$ 1,80 <sup>a</sup>	7,06 $\pm$ 1,47 <sup>a</sup>	7,12 $\pm$ 1,51 <sup>a</sup>	7,17 $\pm$ 1,59 <sup>a</sup>	7,05 $\pm$ 1,54 <sup>a</sup>
Corpo	5,60 $\pm$ 2,13 <sup>b</sup>	6,23 $\pm$ 1,79 <sup>a</sup>	6,33 $\pm$ 1,59 <sup>a</sup>	6,41 $\pm$ 1,59 <sup>a</sup>	6,47 $\pm$ 1,63 <sup>a</sup>	6,27 $\pm$ 1,68 <sup>a</sup>
Sabor	4,87 $\pm$ 2,35 <sup>b</sup>	5,67 $\pm$ 2,17 <sup>a</sup>	5,91 $\pm$ 2,00 <sup>a</sup>	5,83 $\pm$ 2,10 <sup>a</sup>	6,05 $\pm$ 1,87 <sup>a</sup>	5,60 $\pm$ 2,04 <sup>a</sup>
Aceitação Global	5,44 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	6,15 $\pm$ 1,81 <sup>a</sup>	6,45 $\pm$ 1,60 <sup>a</sup>	6,42 $\pm$ 1,59 <sup>a</sup>	6,51 $\pm$ 1,46 <sup>a</sup>	6,21 $\pm$ 1,65 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na Figura 12, apresentou-se o gráfico para intenção de compra para cada amostra avaliada. Dos valores observados, vale ressaltar que 11,76 % dos consumidores certamente compraria a amostra 4, 36,27 % provavelmente compraria a amostra 2, 37,25 % tem dúvidas se compraria a amostra 4, 24,51 % provavelmente não comprariam as amostras comercial e 1, 21,57 % certamente não compraria a amostra comercial. Assim, pode-se apontar que a amostra comercial foi a mais rejeitada pelos consumidores e as amostras 2 e 4 as mais aceitas em relação à intenção de compra.



Figura 12 – Valores percentuais para a intenção de compra para cada amostra avaliada



A análise de Cluster para aparência (Figura 13) e aroma (Figura 15) mostraram a formação de 3 grupos, um contendo as amostras 2, 3, 4, 5, um contendo a amostra 1 e outro contendo a amostra comercial. Observou-se, no mapa de preferência interna (MPI), que há concentração dos consumidores próximos às amostras 2, 3, 4 e 5, enquanto as amostras comercial e 1 apresentaram-se mais distanciadas também para a aparência (Figura 14) e aroma (Figura 16).

Na análise de Cluster para o corpo, há 4 grupos, um formado pelas amostras 3 e 2, um formado pela amostra 4, um formado pelas amostras 5 e 1, outro formado pela amostra comercial (Figura 17). No MPI, a amostra comercial encontrou-se distante da maioria dos consumidores, a 4 encontrou-se levemente distante, porém menos que a comercial (Figura 18).

Já para o sabor, novamente formaram-se 4 grupos, um formado pela amostra 5, um formado pela amostra 2 e 4, um formado pela amostra 1 e 3, outro formado pela amostra comercial (Figura 19). Como pode-se ver no MPI, houve distanciamento das amostras comercial, 1 e 5 (Figura 20),

Finalmente, para a aceitação global há 3 grupos, um formado pelas amostras 5, 4 e 2, um formado pelas amostras 1 e 3, outro formado pela amostra comercial (Figura 21). Comportamento semelhante ao MPI para o sabor foi observado para a aceitação global (Figura 22).

A metodologia numérica multivariada tem objetivo de propor uma estrutura classificatória, ou de reconhecimento da existência de grupos, objetivando dividir o conjunto de observações em um número de grupos homogêneos, segundo critério de homogeneidade. O que fica mais evidente é a separação da amostra comercial das demais para todos os atributos. As análises permitiram evidenciar a diferença na aceitação pelos consumidores em relação às amostras citadas, principalmente da amostra comercial, que apresentou menor quantidade de julgadores em todos os gráficos, pressupondo sua menor aceitação frente às demais amostras avaliadas.

Figura 13 – Análise de Cluster para aparência.

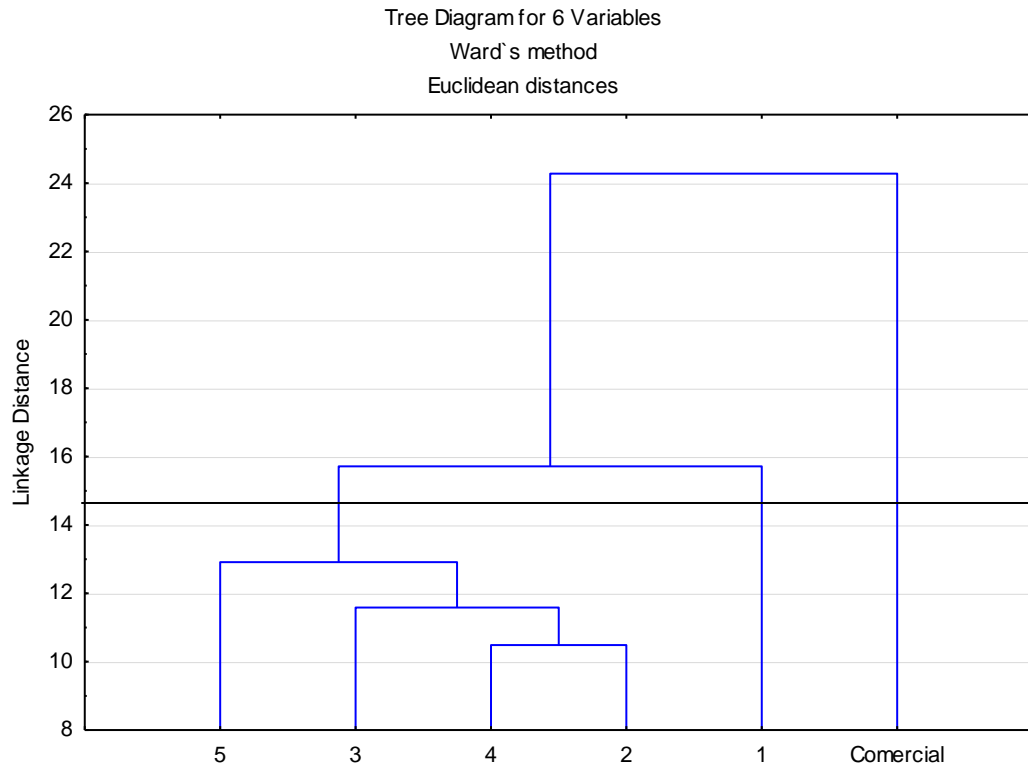


Figura 14 – Mapa de Preferência Interno para aparência

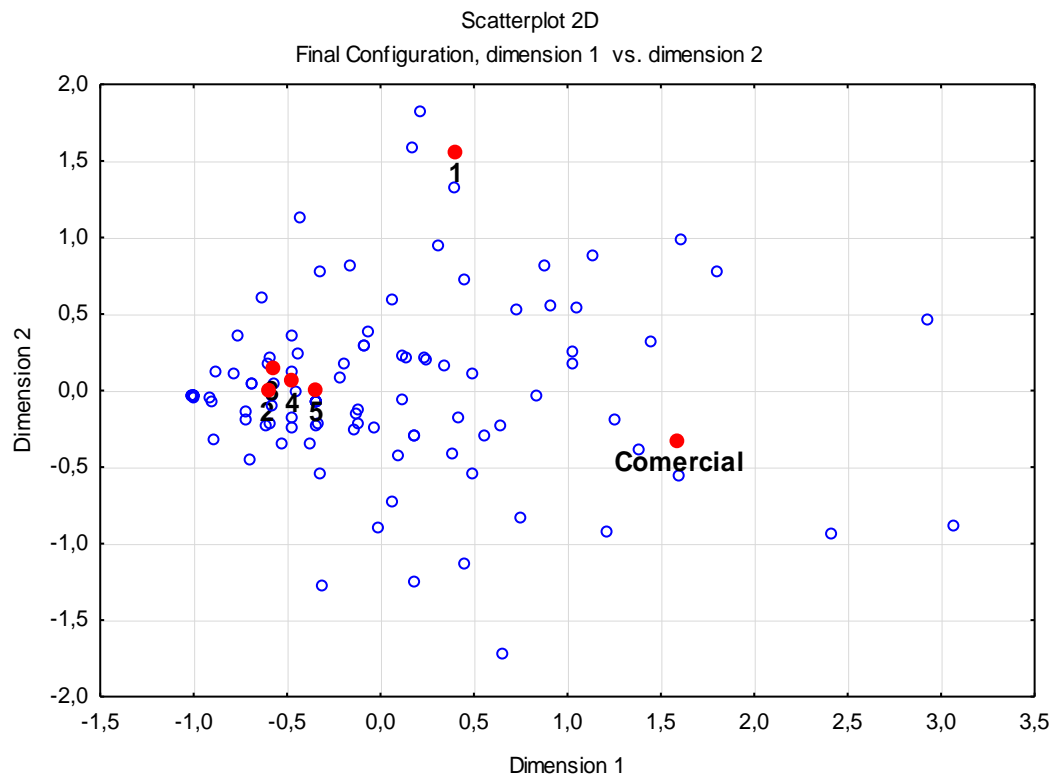


Figura 15 – Análise de Cluster para aroma.

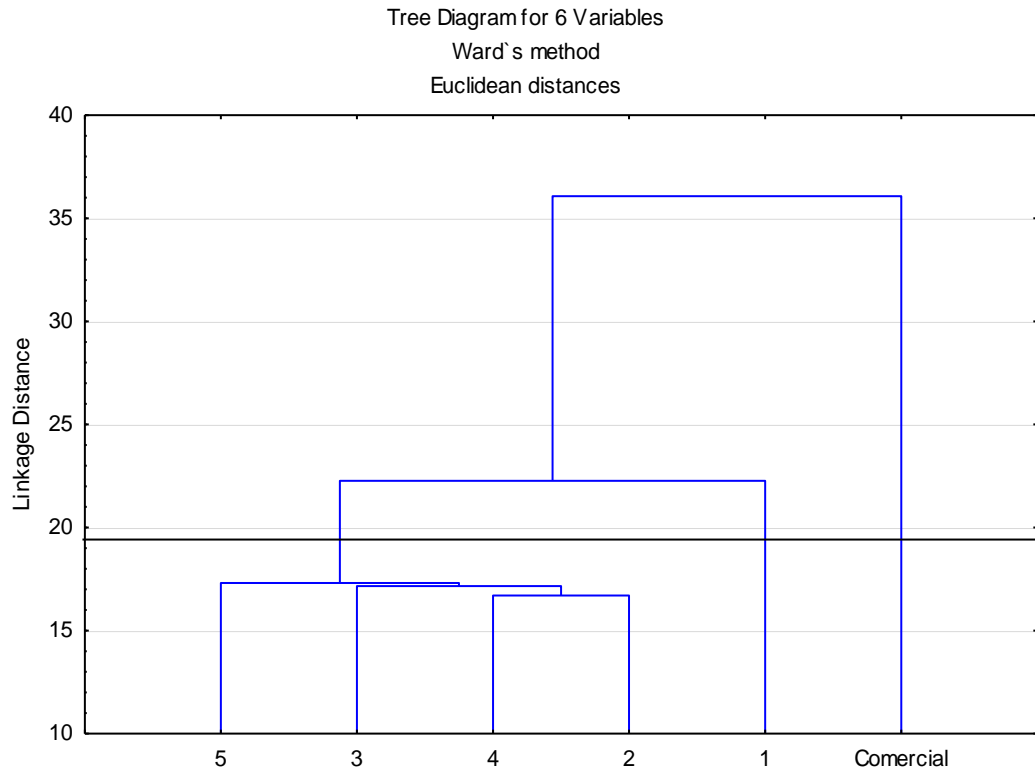


Figura 16 – Mapa de Preferência Interno para aroma.

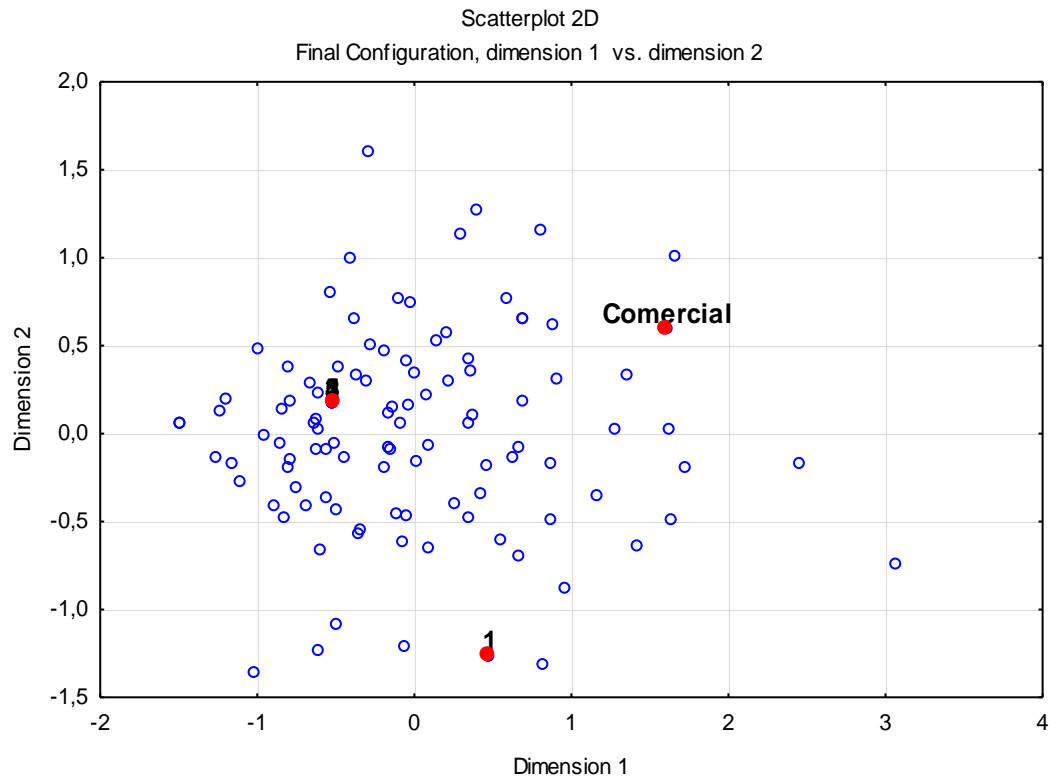


Figura 17 – Análise de Cluster para corpo.

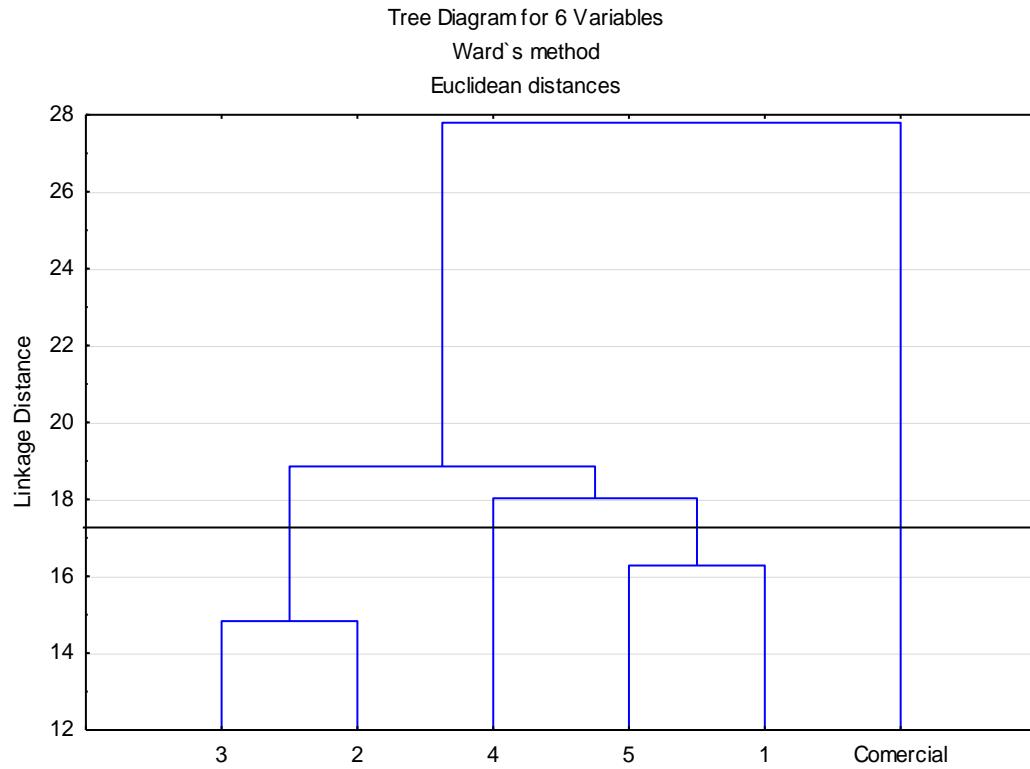


Figura 18 – Mapa de Preferência Interno para corpo.

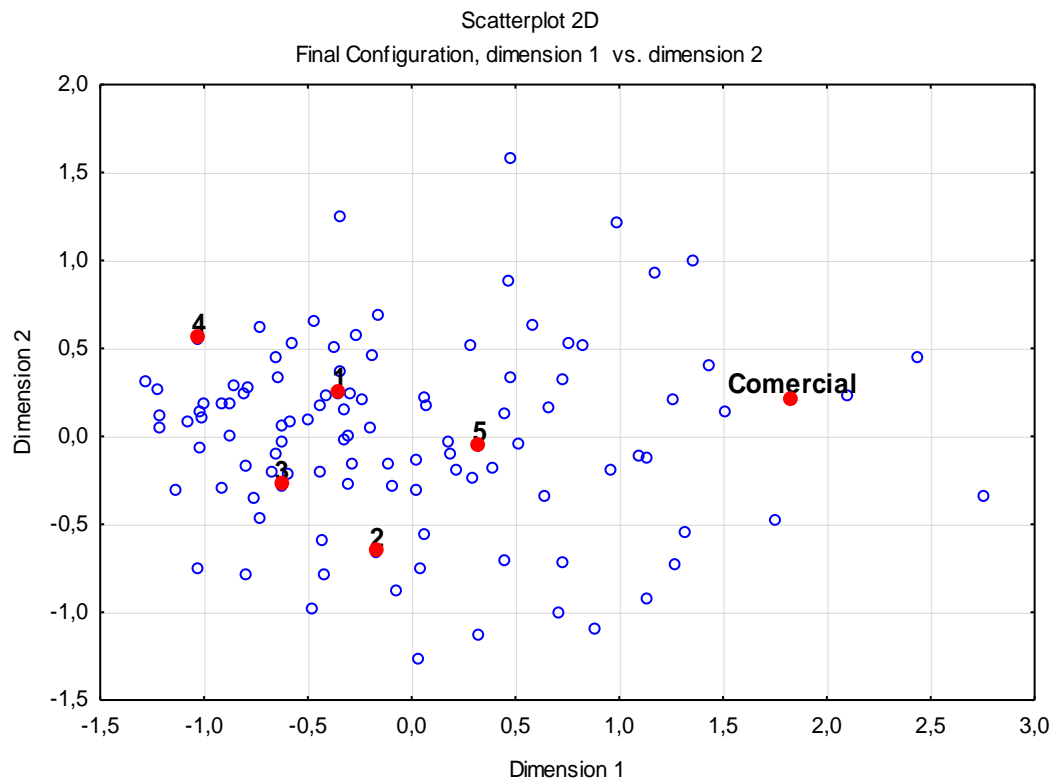


Figura 19 – Análise de Cluster para sabor.

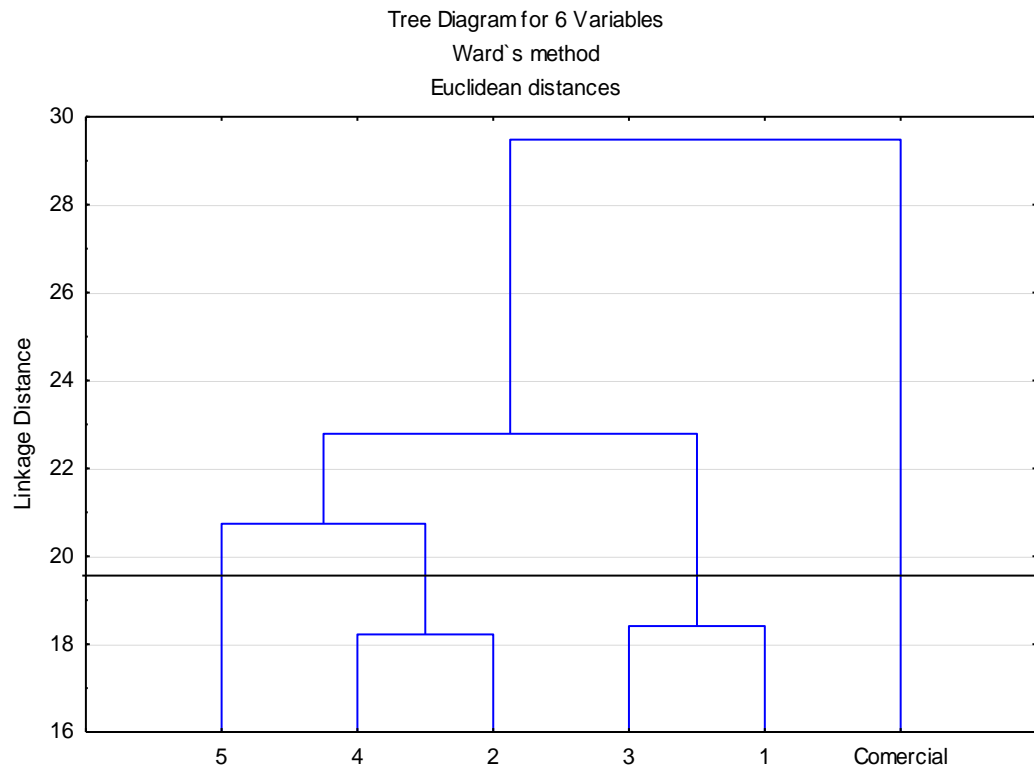


Figura 20 – Mapa de Preferência Interno para sabor.

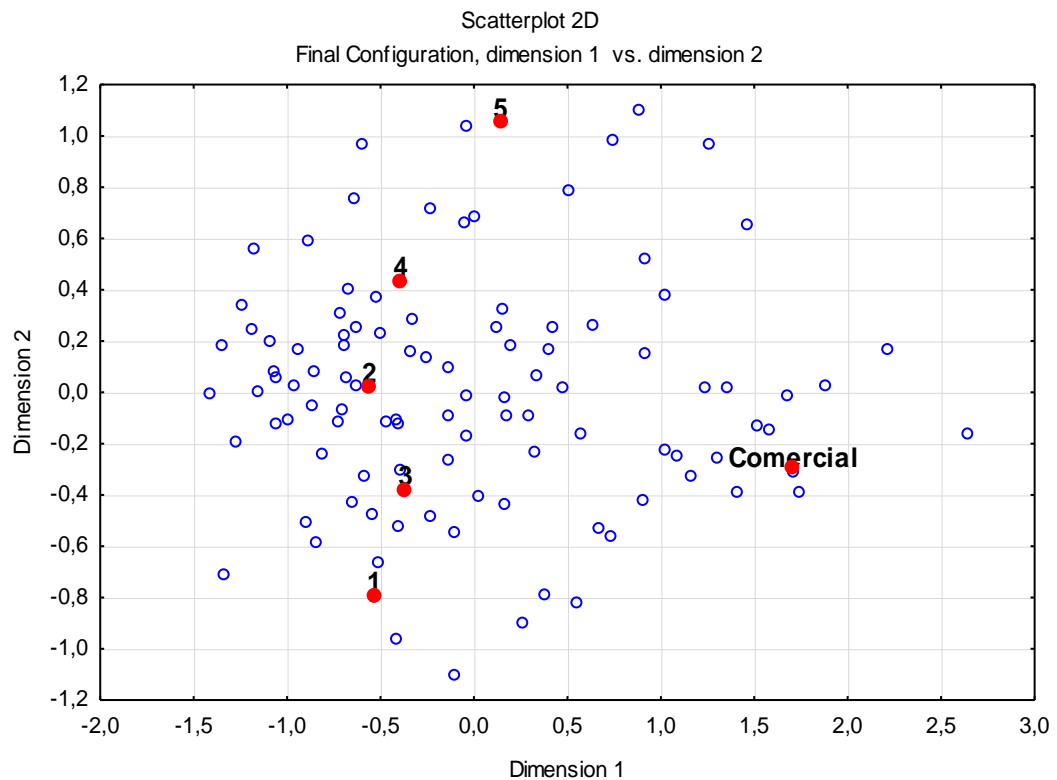


Figura 21 – Análise de Cluster para aceitação global.

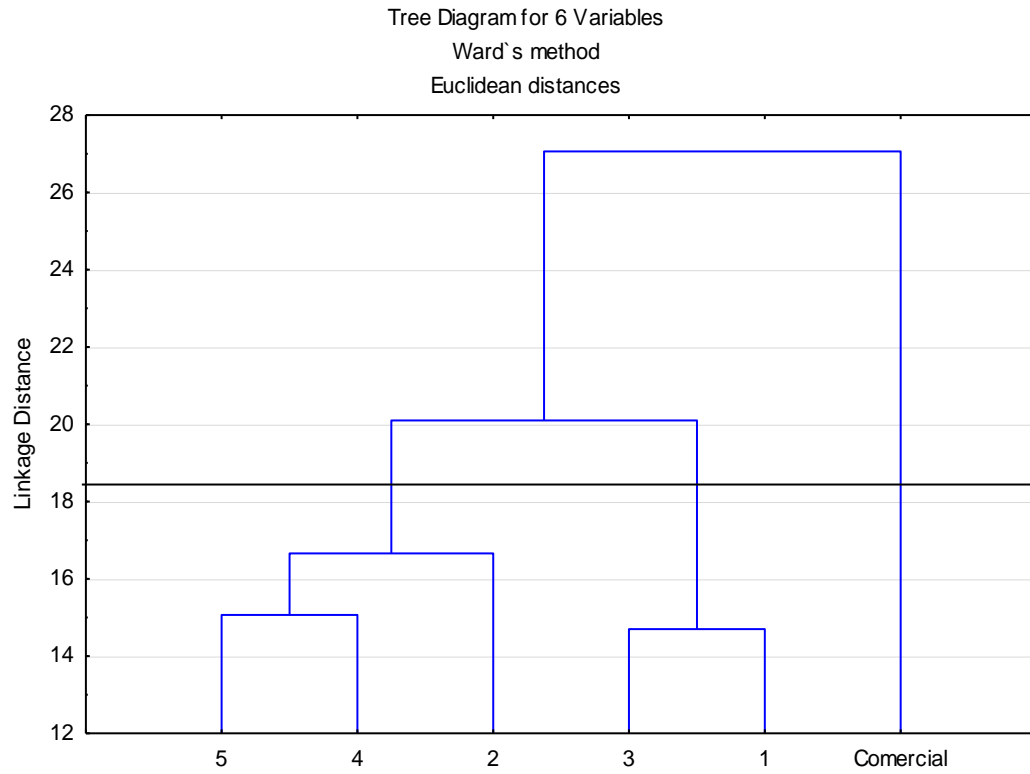
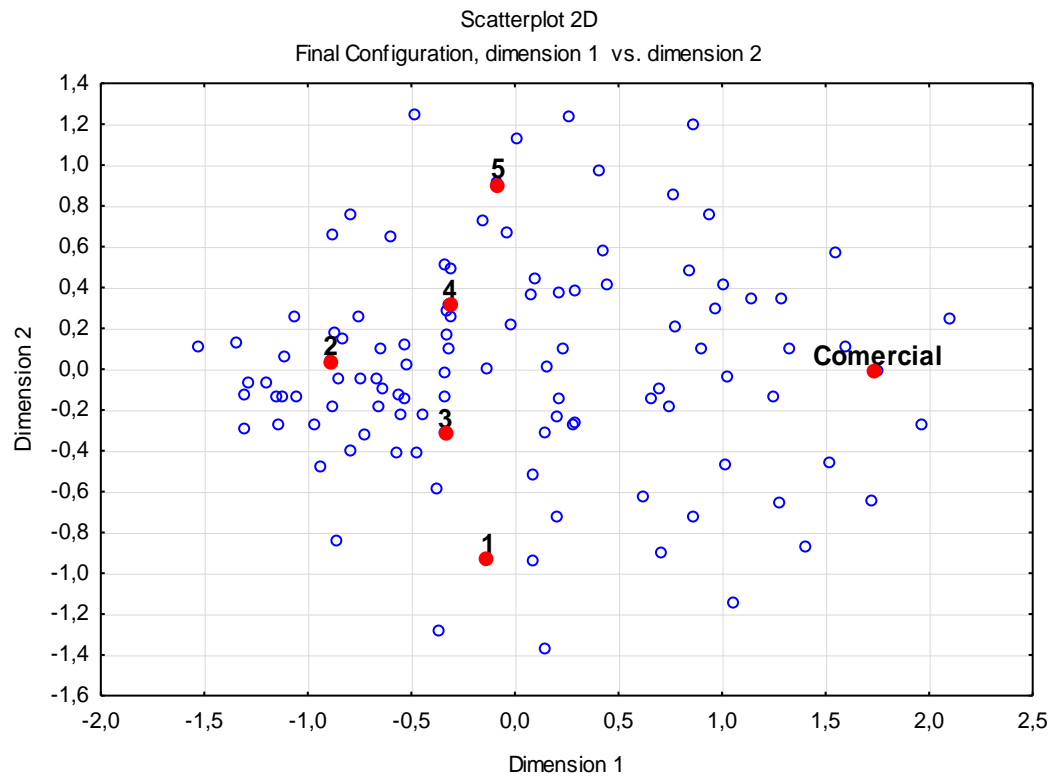


Figura 22 – Mapa de Preferência Interno para aceitação global.



## 6 CONCLUSÃO

Os valores das análises físico-químicas mostraram ser possível a utilização da *Brettanomyces* na produção de vinhos, somente destacando-se o fato de que a quantidade de fenólicos totais apresentou valores menores para os vinhos produzidos por essa levedura, indicando necessidade de aprofundamento no estudo da questão.

Constatou-se que, estatisticamente, os consumidores avaliaram os vinhos produzidos com aplicações de diferentes porcentagens de levedura de forma muito similar, deixando evidente que os vinhos produzidos na pesquisa apresentaram melhores avaliações quando comparados com o vinho comercial. Quando se observa a intenção de compra, notou-se preferência pela amostra 2 (75% *Saccharomyces* e 25% *Brettanomyces*), seguida pela amostra 4 (25% *Saccharomyces* e 75% *Brettanomyces*).



## REFERÊNCIAS

AGNOLUCCI, M.; REA F.; SBRANA, C.; CRISTANI, C.; FRACASSETTI, D.; TIRELLI, A.; NUTI, M. Sulphur dioxide affects culturability and volatile phenol production by *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 1–2, p. 76–80, 2010.

AOAC - Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis of the AOAC International. Washington, p. 1141, 2005.

BARNABÉ, D. Produção de vinho de uvas dos cultivares Niágara Rosada e Bordô: análises físico-químicas, sensorial e recuperação de etanol a partir do bagaço. 2006. 106f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, 2006.

BARNETT, J.A. A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, 1850-1880. **Yeast**, v.16, n. 8, p. 755-771, 2000.

BIASOTO, A. C. T., NETTO, F. M., MARQUES, E. J. N.; DA SILVA, M. A. A. P. Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. **Food Research International**, v. 62, p. 456–466, 2014.

BLANCO-VEGA, D.; LOPEZ-BELLIDO, F. J.; ALÍA-544 ROBLEDO, J. M.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. HPLC-DAD-ESI-MS/MS characterization of pyranoanthocyanins pigments formed in model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 9523-953, 2011.

BRASIL. Lei n. 10970 de 12 de novembro de 2004. Altera dispositivos da Lei n. 7678 de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados de uva e do vinho, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Decreto n. 8.198, de 20 de fevereiro de 2014. Regulamenta a Lei, n. 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados de uva e do vinho. *Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2014.

BRASIL. Portaria n. 76 de 27 de novembro de 1986. Aprova os métodos analíticos que passam a constituir padrões oficiais para análise de bebidas e vinagres estabelecidos pelo Decreto n. 73267 de 06 de dezembro de 1973. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, seção 1, p. 18152-18173, 1986.

CAMARGO, U.A. Uvas do Brasil. **Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho**, P.90, 1996.

CHATONNET, P., DUBOURDIEU, D., BOIDRON, J., PONS, M. The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* v. 60, p. 165–178, 1992.

CLAUSSEN, N.H. Eine Methode zur Anwendung von Hansens Reinzuchtsystem bei der Herstellung von englischen gelagerten Biersorten. **Wochenschr. Brau**, p. 370–383, 1904.

CONTERNO, L., JOSEPH, C.M.L., ARVIK, T.J., HENICK-KLING, T., BISSON, L.F., (2006) Genetic and physiological characterization of *Brettanomyces bruxellensis* strains isolated from wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 57, p. 139–147, 2006.

CASTILHOS, M. B. M.; CONTI-SILVA, A. C.; DEL BIANCHI, V. L. Effect of grape pre-drying and static pomace contact on physicochemical properties and sensory acceptance of Brazilian (Bordô and Isabel) red wines. 184 **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 235, p. 345-354, 2012.

CASTILHOS, M. B. M.; CATTELAN, M. G.; CONTI-SILVA, A. C.; DEL BIANCHI, V.L. Influence of two different vinification procedures on the physicochemical and sensory properties of Brazilian non-*Vitis vinifera* red wines. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, p. 360-366, 2013.

DAENEN, L., SAISON, D., DE SCHUTTER, D.P., DE COOMAN, L., VERSTREPEN, K.J., DELVAUX, F., DERDELINCKX, G., VERACHTERT, H. Bioflavouring of beer through fermentation, refermentation and plant parts addition. In: Preedy, V.R. (Ed.), **Beer in Health and Disease Prevention**. Elsevier, Amsterdam, p. 33–49, 2009.

DU TOIT, M., PRETORIUS, I.S. Microbial spoilage and preservation of wine: using weapons from nature's own arsenal—a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 21, p. 76–96, 2000.

GIOVANNINI, E.; MANFROI, V. **Viticultura e Enologia**, 1<sup>a</sup> ed., IFRS, p 246-307, 2009.

GRAINGER, K.; TATTERSALL, H. **Wine Production**, Blackwell Publishing, p. 48-61, 2005.

GUERRA, C. C. Uvas americanas e híbridas para o processamento em clima temperado. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE VINHO (IBRAVIN). **Qualidade marca a safra de uva 2018 no Rio Grande do Sul**. 2018. Disponível em: <https://www.ibravin.org.br/Noticia/qualidade-marca-a-safra-de-uva-2018-no-rio-grande-do-sul/367>. Acesso em: 09 mai. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, 2005. 1020p.

IEA - Instituto de Economia Agrícola. Banco de dados IEA. Brasília: Ministério da Integração Nacional, 2016. Disponível em: <<http://www.integracao.gov.br>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

JACKSON, R. S. Wine science: principles and applications. 3 ed. **San Diego: Academic Press**, p. 751, 2008.

KURTZMAN, C. P.; J. W. FELL. **The yeasts, a taxonomic study**, ed. 4, Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, 1998.

LAGO-VANZELA, E. S., BAFFI, M. A., DA-SILVA, R. **Uvas e vinhos: química, bioquímica e microbiologia**. São Paulo: Editora Unesp, Editora Senac, p. 39-81, 2015.

LAGO-VANZELA, E. S., DA-SILVA, R., GOMES, E., GARCÍA-ROMERO, E., & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the edible parts (flesh and skin) of Bordô grape (*Vitis labrusca*) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 13136–13146, 2011.

LOUREIRO, V., MALFEITO-FERREIRA, M. Spoilage yeast in the wine industry. **Int. J. Food Microbiol.** v. 86, p. 23–50, 2003.

LOUREIRO, V.; MALFEITO-FERREIRA, M. Dekkera/Brettanomyces spp. **Food Spoilage Microorganisms**, v. 621, p. 354-398, 2006.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1999.

RENOUF, V; FALCOU, M; MIOT-SERTIER, C; PERELLO, MC; DE REVEL, G; LONVAUD-FUNEL, A. Interactions between Brettanomyces bruxellensis and other yeast species during the initial stages of winemaking. **J. Appl. Microbiol.**, v. 100, p. 1208-1219, 2006.

RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONÈCHE, B., LONVAUD, A. Handbook of Enology, **The Microbiology of Wine and Vinifications**, ed. 12, John Wiley and Sons, Ltd, Chichester, England, 2006.

RIZZON, L.A.; MENEGUZZO, J.; MANFROI, L. Planejamento e instalação de uma cantina para elaboração de vinho tinto. **Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho**, p. 75, 2003.

RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; MANFREDINI, S. Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade. Bento Gonçalves: **EMBRAPA Uva e Vinho**, p. 36, 1994.

SÁENZ-NAVAJAS, M.P.; ECHAVARRI, F.; FERREIRA, V; FERNÁNDEZ-ZURBANO, P. Pigment composition and color parameters of commercial Spanish red wine samples: linkage to quality perception. **European Food Research and Technology**, v. 232, n. 5, p. 877–88, 2011.

SILVA, P., H. CARDOSO, H. GEROS. Studies on the wine spoilage capacity of Brettanomyces/Dekkera spp. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 55, p. 65-72, 2004.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 28, p. 49-55, 1977.

STEENSELS, J; DAENEN, L; MALCORPS, P; DERDELINCKX, G; VERACHTERT, H; VERSTREPEN, K.J. Brettanomyces yeasts - From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 206, p. 24–38, 2015.

STEENSELS, J., VERSTREPEN, K.J. Taming wild yeast: potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 68, p. 61–80, 2014.

TECCHIO, F.M.; MIELE, A.; RIZZON, L.A. Composição físico-química do vinho Bordô de Flores da Cunha, RS, elaborado com uvas maturadas em condições de baixa precipitação. **Ciência Rural**, v.37, n.5, 2007.

VAN DER WALT, J.P. Dekkera, new genus of Saccharomycetaceae. **Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology and Serology**, v. 30, n. 3, p. 273, 1964.

VIGENTINI, I., LUCY JOSEPH, C.M., PICOZZI, C., FOSCHINO, R., BISSON, L.F. Assessment of the *Brettanomyces bruxellensis* metabolome during sulphur dioxide exposure. **FEMS Yeast Res.**, v. 13, p. 597–608, 2013.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**, 2 ed., São Paulo: Blucher, p. 279-302, 2016

WOOLFIT M., ROZPEDOWSKA E., PISKUR J., WOLF K. Genome Survey Sequencing of the Wine Spoilage Yeast *Dekkera* (*Brettanomyces*) *bruxellensis*. **American Society for Microbiology**, p. 721-733, 2007.

ZOECKLEIN, B. W.; FUGELSANG, K. C.; GUMP, B. H.; NURY, F. S. Wine analysis and production. **New York: Chapman & Hall**, p. 621, 1994.

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

UNESP - INSTITUTO DE  
BIOCIÊNCIAS LETRAS E  
CIÊNCIAS EXATAS/ CAMPUS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ESTUDO DA VINIFICAÇÃO EM TINTO E PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO PILSEN COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE LEVEDURA TRADICIONAL E ALTERNATIVA

**Pesquisador:** PEDRO DE FREITAS VENDRAMINI

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 79193317.1.0000.5466

**Instituição Proponente:** Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas/ Campus de São José do

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.447.651

**Apresentação do Projeto:**

Trata uma pendência do projeto "ESTUDO DA VINIFICAÇÃO EM TINTO E PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO PILSEN COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE LEVEDURA TRADICIONAL E ALTERNATIVA" sob a responsabilidade do pesquisador Pedro de Freitas Vendramini, aluno de mestrado do programa de PG em ECA.

**Objetivo da Pesquisa:**

Investigar melhorias de processo, efeitos da *Brettanomyces claussenii* nas bebidas, os problemas e possíveis benefícios em sua utilização, e as porcentagens inoculadas juntamente com *Saccharomyces cerevisiae*, por meio de análises físico-químicas e sensoriais de cervejas e vinhos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O pesquisador declarou que haverá risco mínimo para a saúde física, mas que os produtos são de uso comum e manipulados segundo as Boas Práticas de Fabricação. Serão excluídos os indivíduos com idade inferior a 18 anos, que tenham hipertensão arterial, diabetes, doença celíaca, intolerância à lactose ou a qualquer componente da formulação, e/ou mais problemas detectados. Também ressaltou que a quantidade de produto consumida será abaixo da considerada moderada.

Quanto aos benefícios, o pesquisador declarou que esta pesquisa pode trazer melhorias de processo nas bebidas, além da divulgação dos resultados no meio científico e nas agroindústrias.

**Endereço:** CRISTOVÃO COLOMBO 2265

**Bairro:** JARDIM NAZARETH

**CEP:** 15.054-000

**UF:** SP

**Município:** SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

**Telefone:** (17)3221-2545

**Fax:** (17)3221-2500

**E-mail:** silvia@iblice.unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE  
BIOCIÊNCIAS LETRAS E  
CIÊNCIAS EXATAS/ CAMPUS



Continuação do Parecer: 2.447.651

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

TCLE foi modificado e está bem apresentado de acordo com a Resolução 466/2012 e Resolução 510/2016 do CONEP.

Objetivos claros e bem delineados.

Cronograma ok.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

TCLE foi modificado e está bem apresentado de acordo com a Resolução 466/2012 e Resolução 510/2016 do CONEP.

**Recomendações:**

Nada a declarar.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Nada a declarar.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião ordinária de 12 de dezembro de 2017, deliberou, por unanimidade, pela aprovação do presente Projeto de Pesquisa, e sugere que na frase do TCLE: "Serão excluídos indivíduos com idade inferior a 18 anos, hipertensão arterial, diabetes, doença celíaca, intolerância à lactose ou a qualquer componente da formulação, e/ou mais problemas detectados" seja incluído a seguinte frase: "Pessoas com problemas relacionados ao abuso de bebidas alcoólicas não poderão participar desta pesquisa".

Os relatórios parciais deverão ser encaminhados semestralmente, contando a partir desta data, conforme modelo em nossa página: <http://www.ibilce.unesp.br/#!/comite/etica-em-pesquisa/relatorio-projeto>.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1015906.pdf	01/12/2017 11:46:53		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEcorrigido.doc	01/12/2017 11:44:45	PEDRO DE FREITAS VENDRAMINI	Aceito
Projeto Detalhado	ProjetoComite.docx	20/10/2017	PEDRO DE	Aceito

Endereço: CRISTOVAO COLOMBO 2265  
Bairro: JARDIM NAZARETH CEP: 15.054-000  
UF: SP Município: SAO JOSE DO RIO PRETO  
Telefone: (17)3221-2545 Fax: (17)3221-2500 E-mail: [silvia@ibilce.unesp.br](mailto:silvia@ibilce.unesp.br)

UNESP - INSTITUTO DE  
BIOCIÊNCIAS LETRAS E  
CIÊNCIAS EXATAS/ CAMPUS



Continuação do Parecer: 2.447.651

/ Brochura Investigador	ProjetoComite.docx	12:06:34	VENDRAMINI	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	20/10/2017 10:56:41	PEDRO DE FREITAS	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO JOSE DO RIO PRETO, 19 de Dezembro de 2017

Assinado por:

Monica Abrantes Galindo de Oliveira  
(Coordenador)

Endereço: CRISTOVÃO COLOMBO 2265

Bairro: JARDIM NAZARETH

CEP: 13.054-000

UF: SP

Município: SÃO JOSE DO RIO PRETO

Telefone: (17)3221-2545

Fax: (17)3221-2500

E-mail: [silvia@bilce.unesp.br](mailto:silvia@bilce.unesp.br)

## ANEXO B – Termo de consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de São José do Rio Preto



IBILCE/UNESP - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012/Resolução 510/2016)

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa "Estudo da Vinificação em Tinto e Produção de Cerveja Artesanal Tipo Pilsen com Diferentes Proporções de Levedura Tradicional e Alternativa" sob responsabilidade do pesquisador Pedro de Freitas Vendramini. Serão recrutados julgadores para avaliar a aceitação sensorial de 7 vinhos, 5 cervejas, com utilização da levedura *Brettanomyces claussenii* juntamente com levedura tradicional, e de marcas comerciais. Seus dados pessoais serão mantidos em sigilo. Haverá risco mínimo para saúde física, sendo produtos de uso comum e manipulados segundo Boas Práticas de Fabricação. Serão excluídos indivíduos com idade inferior a 18 anos, hipertensão arterial, diabetes, doença celíaca, intolerância à lactose ou a qualquer componente da formulação, e/ou mais problemas detectados. A quantidade de produto consumida será abaixo da considerada moderada. Caso algum indivíduo apresente alguma reação, este será encaminhado para a Seção Técnica de Saúde do IBILCE. Você poderá consultar o pesquisador responsável em qualquer época, pessoalmente ou pelo telefone da instituição, para esclarecimento de qualquer dúvida. Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo, e estes últimos só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato de estes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Este estudo é importante porque seus resultados fornecerão evidências da possível utilização de um micro-organismo, geralmente eliminado nos processos de produção de bebidas, para auxílio no desenvolvimento de produtos diferenciados, agradando o consumidor.

Diante das explicações, se você concorda em participar deste projeto, forneça os dados solicitados e coloque sua assinatura a seguir.

Nome: \_\_\_\_\_ R.G. \_\_\_\_\_  
Endereço: \_\_\_\_\_ Fone: \_\_\_\_\_  
São José do Rio Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador(a) responsável

**OBS.: Termo apresenta duas vias, uma destinada ao participante e a outra ao pesquisador.**

Nome Pesquisador(a): Pedro de Freitas Vendramini	Cargo/Função: Mestrando
Instituição: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos/IBILCE/UNESP	
Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, São José do Rio Preto/SP	
Telefone: (17) 3221-2200, Ramal: 2713	
Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP	
Rua Cristóvão Colombo, 2265. Bairro: Jardim Nazareth.	
São José do Rio Preto/SP – Fone 17-3221.2480 e 3221.2545	



INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS – DIRETORIA  
Rua Cristóvão Colombo, 2265 CEP 13054-000 S. J. Rio Preto SP Brasil  
Tel 17 3221.2410 | Fax 17 3221.2500 - www.ibilce.unesp.br



## TERMO DE REPRODUÇÃO XEROGRÁFICA

Autorizo a reprodução xerográfica do presente Trabalho de Conclusão, na íntegra ou em partes, para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Assinatura do autor