

Maurício Bonatto Machado de Castilhos

Vinificação em tinto de uvas americanas: efeito das técnicas de
pré-secagem das uvas e de chapéu submerso nos perfis
químico e sensorial

São José do Rio Preto
2016

Maurício Bonatto Machado de Castilhos

Vinificação em tinto de uvas americanas: efeito das técnicas de pré-secagem das uvas e de chapéu submerso nos perfis químico e sensorial

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor 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”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

Co-orientador: Prof. Dr. Isidro Hermosín-Gutiérrez

São José do Rio Preto
2016

Maurício Bonatto Machado de Castilhos

Vinificação em tinto de uvas americanas: efeito das técnicas de pré-secagem das uvas e de chapéu submerso nos perfis químico e sensorial

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor 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”, Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

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

Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Conti e Silva
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Waldemar Gastoni Venturini Filho
UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

São José do Rio Preto
15 de março de 2016

Dedico este trabalho

A todos os cientistas que fazem de um mero espanto a chave propulsora para
a evolução do mundo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente no nascer de cada dia e prover forças para sempre seguir em frente, passando por todos os obstáculos desse mundo que clama por evolução e enriquecimento mental.

A uma das pessoas mais importantes da minha vida: minha mãe Neiva. Muito obrigado pelo apoio e otimismo que sempre fez com que eu seguisse, mesmo nos momentos em que pensei desistir. Sua alma de lutadora e sua essência de serenidade sempre serão exemplos para mim.

Ao Flávio, um dos grandes responsáveis pelo que sou hoje. Obrigado por fazer parte do meu caminho nessa existência.

À Ivone, Starlis e a todos que me acolheram com carinho aqui em São José do Rio Preto. Agradeço à Taís pela amizade e por me considerar um irmão e à Maria Eduarda por deixar esse caminho mais alegre. Sem vocês nada disso seria possível.

À Heloísa e Vitor pela sincera e grande amizade e ao Pedro, Sofia e Vitória por fazer esse caminho mais alegre e divertido.

Ao Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi pela orientação e pelo maior ensinamento que pude ter em todos esses anos de Pós-Graduação: colocar, na prática, o Professor à frente do Doutor. Muito obrigado por ser um grande exemplo como professor e como pessoa.

Ao Prof. Dr. Isidro Herмосín-Gutiérrez por conceder a oportunidade de estudar na Universidad de Castilla-La Mancha, Espanha. Muito obrigado pela oportunidade e pelo aprendizado que tive nesse período de experiência fora do Brasil. Foi uma honra compartilhar sua presença e seus conhecimentos. Agradeço, também, ao Prof. Dr. Sergio Gómez-Alonso e Prof. Dr. Esteban García-Romero, pela prestatividade e pelos grandes ensinamentos.

À Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Conti e Silva pela amizade e pela disponibilidade em ceder o espaço do Laboratório de Análise Sensorial para realizar as análises sensoriais. Muito obrigado por ser um exemplo de profissional e pessoa a ser seguido.

Ao Prof. Dr. Javier Telis Romero por ceder o secador que foi utilizado para secar as uvas e o espaço do laboratório de secagem. Sem a sua colaboração e

prestatividade, nada disso seria possível. Muito obrigado pelos ensinamentos, pelo profissionalismo, por ser um grande professor e, acima de tudo, pela grande e sincera amizade.

A todo o corpo docente do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos do Ibilce. Muito obrigado por todos os ensinamentos e pelo crescimento profissional adquirido desde a graduação.

Aos servidores e técnicos dos laboratórios do Departamento da Engenharia de Alimentos. Muito obrigado pela prestatividade de todos.

Aos pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Uva e Vinho) João Dimas Garcia Maia (Jales/SP) e Mauro Celso Zanus (Bento Gonçalves/RS) pela grande contribuição ao meu trabalho. Agradeço também à analista Odinéli pela prestatividade na condução da análise sensorial dos vinhos.

Ao produtor de uvas Sebastião Santim (Jales) por comercializar as uvas necessárias para o trabalho.

Aos meus colegas de Pós-Graduação: muito obrigado pelos ensinamentos técnicos e pessoais. Muito do que aprendi com vocês me fez crescer principalmente como ser humano. Um agradecimento especial à Dra. Gisele Ferreira Bueno e à Dra. Marília Gonçalves Cattelan, muito obrigado pela amizade e companheirismo.

Aos membros da banca pela contribuição para a melhoria contínua desse trabalho.

À UNESP pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado e à Universidad de Castilla-La Mancha pela realização do período Sanduíche.

À CAPES pela bolsa de Doutorado no país e no exterior.

***“...este é o fim dos meus temporais
tudo o que eu senti, desfalece aqui
sim, esse é o fim dos ventos que uivam sem direção
tocam-me, mas não me conduzem mais...”
Guilherme de Sá (Rosa de Saron)***

RESUMO

A produção brasileira de vinhos encontra-se em constante especialização e tem como objetivo incrementar a qualidade dessas bebidas a fim de atender e superar as expectativas dos consumidores. Diante desse contexto, algumas entidades governamentais pesquisam o melhoramento genético de uvas almejando produzir matérias-primas com características singulares a fim de elaborar vinhos com qualidade ímpar e de caráter regional. Adicionalmente, cientistas da área pesquisam variações no processo de vinificação e, através dessas técnicas, promovem variações no perfil químico dos vinhos, respondendo positivamente no perfil sensorial descritivo e de aceitação. Esse estudo pesquisou os efeitos da pré-secagem das uvas e o emprego do chapéu submerso e explorou o comportamento químico e sensorial de vinhos elaborados com uvas americanas e híbridas. Os resultados mostraram que os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem das uvas apresentaram forte degradação de compostos fenólicos como antocianinas e flavonóis, sendo os flavan-3-óis (galoilados ou não) e proantocianidinas os que apresentaram maior resistência ao calor produzido pela secagem. De uma forma geral, tais vinhos foram descritos como amargos, adstringentes, encorpados, pungentes e persistentes por apresentarem elevada concentração desses compostos fenólicos. Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso não apresentaram diferenças significativas nos conteúdos de antocianinas, piranoantocianinas e flavonóis quando comparados aos vinhos elaborados pelo processo tradicional de vinificação, sendo descritos com elevada intensidade de cor e matiz violeta, além de apresentarem, em alguns casos, aroma foxado e frutado evidente. Apresentaram elevada aceitação em alguns casos, sendo considerados como alternativa ao tratamento tradicional.

Palavras-chave: vinho tinto, vinho regional, compostos fenólicos, secagem, chapéu submerso, análise sensorial.

ABSTRACT

Brazilian wine production is in constant specialization and aims to enhance the quality of red wines in order to meet and exceed consumer expectations. Thus, some governmental entities develop genetic improvement programs aiming at producing grapes with singular features that will be employed in the production of regional wines, i.e., wines whose features indicate their origin of production. Moreover, scientists from enological area study the variations in winemaking aiming at promoting such improvement on the chemical properties of wines, enhancing their acceptance sensory profile. Therefore, this study aimed at analyzing the effects of grape pre-drying and submerged cap in order to explore the chemical and sensory behavior of red wines produced from *Vitis labrusca* grapes and their hybrids. The results showed that the wines produced from pre-drying process presented relevant degradation of the phenolic compounds, mainly anthocyanins and flavonols; and flavan-3-ols (galloylated or not) and proanthocyanidins were the compounds that seemed to be less affected by the heat produced by the pre-drying procedure. In general, these wines were described as bitter, astringent, full-bodied, pungent and persistent to palate due to their high concentration of these aforementioned compounds. Wines produced from submerged cap winemaking presented no significant differences from the wines elaborated by traditional process concerning anthocyanin, pyranoanthocyanin and flavonol contents, and were described as colorful with intense violet hue and strong foxy and fruity aroma. These wines presented higher acceptance in some cases and were considered as an alternative to the traditional winemaking treatment.

Keywords: red wine, regional wine, phenolic compounds, drying, submerged cap, sensory analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
Figura 1	Estrutura básica de um flavonoide.	36
Figura 2	Estrutura das diferentes piranoantocianinas. Fonte: Blanco-Vega et al. (2011).	38
Figura 3	Estrutura do resveratrol na sua forma cis e trans (natural).	43
Figura 4	Processo de vinificação em tinto tradicional. Fonte: Jackson (2008); Ribéreau-Gayon et al. (2006).	45
Figura 5	Processo de termovinificação de acordo com El Darra et al. (2016).	52
Figura 6	Processo de vinificação utilizando secagem de acordo com De Castilhos et al. (2013).	57
Figura 7	Processo de vinificação utilizando maceração a frio de acordo com Casassa; Bolcato; Sari (2015).	62
Figura 8	Processo de vinificação utilizando a técnica de chapéu submerso de acordo com De Castilhos et al. (2015a,b).	67
Figura 9	Processo de vinificação utilizando a técnica de maceração carbônica de acordo com Rizzon et al. (1999).	70
Figura 10	Protocolo de vinificação aplicado no estudo.	77
Figura 11	Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 520 nm para antocianinas) dos vinhos tintos Bordô (A) e BRS Carmem (B).	93
Figura 12	Fragmentação do íon molecular m/z 947 sugerindo a existência da mv 3,5-dicmglc em ambos os vinhos Bordô e BRS Carmem.	95
Figura 13	Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 360 nm para flavonóis) dos vinhos tintos Bordô (A) e BRS Carmem (B).	99
Figura 14	Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos) dos vinhos tintos Bordô (A) e BRS Carmem (B).	100
Figura 15	Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos (B) Bordô e BRS Carmem utilizando Análise de Componentes Principais.	109
Figura 16	Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 520 nm para antocianinas) dos vinhos tintos BRS Rúbea (A) e BRS Cora (B).	117
Figura 17	Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 360 nm para flavonóis) dos vinhos tintos BRS Rúbea (A) e BRS Cora (B).	123
Figura 18	Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos) dos vinhos tintos BRS Rúbea (A) e BRS Cora (B).	125

Figura 19	Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos (B) BRS Rúbea e BRS Cora utilizando Análise de Componentes Principais.	134
Figura 20	Cromatograma HPLC-DAD, detecção a 520 nm para antocianinas (a), 360 nm para flavonóis (b) e 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (c) dos vinhos tintos BRS Violeta.	142
Figura 21	Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos (B) BRS Violeta utilizando Análise de Componentes Principais.	154
Figura 22	Cromatograma HPLC-DAD, detecção a 520 nm para antocianinas (a), 360 nm para flavonóis (b) e 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (c) dos vinhos tintos Isabel.	160
Figura 23	Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos (B) Isabel utilizando Análise de Componentes Principais.	172

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Características físico-químicas de vinhos da uva Bordô.	25
Tabela 2	Antocianidinas mais comuns nas uvas.	36
Tabela 3	Estrutura dos flavonóis nas uvas.	39
Tabela 4	Exemplos dos principais flavan-3-óis encontrados nas uvas.	40
Tabela 5	Ácidos fenólicos encontrados nas uvas.	41
Tabela 6	Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos.	88
Tabela 7	Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos de mesa elaborados com as uvas Bordô e BRS Carmem.	90
Tabela 8	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e derivados determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem.	97
Tabela 9	Perfil de flavan-3-ol e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e atividade antioxidante determinada por radical DPPH (média ± desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem.	102
Tabela 10	Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem.	105
Tabela 11	Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação utilizando escala com escores de 1 a 9.	107
Tabela 12	Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos.	113
Tabela 13	Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Rúbea e BRS Cora.	115
Tabela 14	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Rúbea e BRS Cora.	121
Tabela 15	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e capacidade antioxidante determinada por radical DPPH (média ± desvio padrão) para os vinhos BRS Rúbea e BRS Cora.	127
Tabela 16	Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos BRS Rúbea e BRS Cora.	130
Tabela 17	Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação utilizando escala com escores de 1 a 9.	132

Tabela 18	Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos dos vinhos BRS Violeta.	137
Tabela 19	Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Violeta.	139
Tabela 20	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Violeta.	145
Tabela 21	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e capacidade antioxidante determinada por radical DPPH (média ± desvio padrão) para os vinhos BRS Violeta.	148
Tabela 22	Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos BRS Violeta.	151
Tabela 23	Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação dos vinhos BRS Violeta utilizando escala com escores de 1 a 9.	152
Tabela 24	Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos dos vinhos Isabel.	156
Tabela 25	Perfil de antocianinas e piranoantocianinas determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos Isabel.	158
Tabela 26	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos Isabel.	162
Tabela 27	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e capacidade antioxidante determinada por radical DPPH (média ± desvio padrão) para os vinhos Isabel.	166
Tabela 28	Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos Isabel.	168
Tabela 29	Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação dos vinhos Isabel utilizando escala com escores de 1 a 9.	170

SUMÁRIO

	Página
	19
1	21
2	23
2.1	23
2.1.1	24
2.1.2	25
2.1.3	26
2.1.4	27
2.1.5	27
2.1.6	28
2.2	28
2.2.1	29
2.2.2	31
2.2.3	33
2.2.4	35
2.2.4.1	35
2.2.4.1.1	36
2.2.4.1.2	37
2.2.4.1.3	39
2.2.4.1.4	40
2.2.4.2	41
2.2.4.2.1	41
2.2.4.2.2	42
2.2.5	43
2.3	44
2.4	50
2.4.1	50
2.4.1.1	51
2.4.1.2	55
2.4.1.3	59
2.4.2	64
2.4.3	68
2.4.4	71
3	74
3.1	74

	Página	
3.2	Materiais químicos	74
3.3	Vinificação em tinto	75
3.4	Análises químicas clássicas	79
3.5	Análise dos compostos fenólicos por HPLC-MS ⁿ	80
3.5.1	Preparação das amostras	80
3.5.2	Análise dos compostos fenólicos por HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ	80
3.5.3	Identificação e quantificação dos flavan-3-óis e estilbenos utilizando o método de monitoramento de reação múltipla (MRM) HPLC-ESI-MS/MS	81
3.6	Determinação da capacidade antioxidante pelo ensaio de DPPH	82
3.7	Análise sensorial	82
3.7.1	Análise sensorial descritiva	83
3.7.2	Análise sensorial de aceitação	84
3.8	Análise dos dados	85
4	Resultados e discussão	86
4.1	Parâmetros básicos da vinificação	86
4.2	Vinhos Bordô e BRS Carmem	87
4.2.1	Parâmetros enológicos clássicos	87
4.2.2	Perfil de antocianinas e piranoantocianinas	89
4.2.3	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)	96
4.2.4	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos	101
4.2.5	Análise sensorial	104
4.2.5.1	Análise sensorial descritiva	104
4.2.5.2	Análise sensorial de aceitação	106
4.2.6	Análise quimiométrica	108
4.3	Vinhos BRS Rúbea e BRS Cora	112
4.3.1	Parâmetros enológicos clássicos	112
4.3.2	Perfil de antocianinas e piranoantocianinas	114
4.3.3	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)	120
4.3.4	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos	126
4.3.5	Análise sensorial	129
4.3.5.1	Análise sensorial descritiva	129
4.3.5.2	Análise sensorial de aceitação	131
4.3.6	Análise quimiométrica	133
4.4	Vinhos BRS Violeta	137
4.4.1	Parâmetros enológicos clássicos	137
4.4.2	Perfil de antocianinas e piranoantocianinas	138
4.4.3	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)	144

	Página	
4.4.4	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos	147
4.4.5	Análise sensorial	150
4.4.5.1	Análise sensorial descritiva	150
4.4.5.2	Análise sensorial de aceitação	151
4.4.6	Análise quimiométrica	152
4.5	Vinhos Isabel	155
4.5.1	Parâmetros enológicos clássicos	155
4.5.2	Perfil de antocianinas e piranoantocianinas	157
4.5.3	Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)	161
4.5.4	Perfil de flavan-3-óis e estilbenos	165
4.5.5	Análise sensorial	168
4.5.5.1	Análise sensorial descritiva	168
4.5.5.2	Análise sensorial de aceitação	169
4.5.6	Análise quimiométrica	170
5	Conclusões	176
6	Referências bibliográficas	178
7	Anexos	198

Apresentação

O presente trabalho vem contribuir para o estudo da tecnologia de vinificação através da avaliação de processos alternativos de vinificação e a influência desses processos nos perfis químico e sensorial. Estudos mostram que a aplicação de variações na tecnologia de vinificação tem sido uma constante nas vinícolas com o objetivo de garantir a qualidade do vinho e superar as expectativas dos consumidores.

Nesta tese, duas técnicas alternativas foram abordadas: pré-secagem das uvas e chapéu submerso. Essas técnicas foram aplicadas em seis uvas americanas (*Vitis labrusca* ou híbridos de *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*), sendo quatro delas provenientes de programas de melhoramento genético desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Uva e Vinho e que são pouco conhecidas pelo mercado consumidor brasileiro e mundial. As propriedades enológicas clássicas e os atributos sensoriais descritivos e de aceitação foram avaliados a fim de observar a influência desses processos alternativos na qualidade dos vinhos produzidos por essas uvas. Adicionalmente, os perfis dos compostos fenólicos, assim como a capacidade antioxidante, também foram avaliados, visto que são dados que foram pouco explorados na literatura nacional e internacional.

A técnica de pré-secagem das uvas teve por objetivo concentrar os açúcares contidos na uva através da evaporação da água, evitando a etapa de correção do mosto pela inserção de sacarose (chaptalização). A técnica de chapéu submerso baseou-se no contato constante do bagaço com o mosto no momento da maceração durante a fermentação alcoólica. Em ambos os processos, os vinhos apresentaram boa aceitação sensorial, não diferindo de forma significativa dos vinhos elaborados pelo processo tradicional na maioria dos atributos avaliados, e perfis descritivos que possibilitaram caracterizá-los de forma singular como vinhos de caráter regional, ou seja, que apresentaram características típicas da região noroeste paulista.

Além disso, apesar do processo de pré-secagem ter sido responsável por degradar alguns compostos fenólicos importantes como antocianinas e flavonóis, esse efeito não diminuiu a capacidade antioxidante desses vinhos, já que não diferiram de forma significativa dos vinhos elaborados pelos processos

de chapéu submerso e tradicional. Sendo assim, apesar da degradação desses compostos, o processo de pré-secagem possibilitou a formação de novos compostos responsáveis pelo aumento da capacidade antioxidante dos vinhos.

Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso apresentaram-se como intensos em cor e em matiz violeta, com aroma frutado e foxado intenso e bem aceitos pelos consumidores por apresentarem semelhantes resultados com os vinhos elaborados pelo processo tradicional. O processo de chapéu submerso, além de apresentar rendimento superior ao processo tradicional, não diferiu de forma significativa do processo tradicional em quase todos os perfis avaliados, sendo uma alternativa em potencial para o processo tradicional de vinificação.

A tese está estruturada na sua forma tradicional, abordando uma breve **introdução** sobre o assunto; **objetivos**; **revisão bibliográfica** sobre o processo tradicional de vinificação e os principais procedimentos alternativos de transformação da uva em vinho; **materiais e métodos** abordando os materiais utilizados para a produção dos vinhos e para as análises, assim como os métodos empregados para a realização das análises químicas e sensoriais; **resultados e discussão** divididos em grupos de vinhos que apresentaram perfil fenólico semelhante, a fim de facilitar a discussão dos resultados; **conclusões** e **referências bibliográficas**.

De uma forma geral, os resultados apresentados contribuem com a ciência no que diz respeito à melhoria dos vinhos brasileiros em todos os aspectos, já que se trata de um país que cultiva e produz uvas americanas e seus respectivos vinhos, diferentemente dos grandes países produtores de vinhos, que são especialistas na produção de uvas europeias. Sendo assim, os resultados obtidos nesse estudo servem de base para nortear estudos futuros que possam contribuir para concretizar o caráter regional aos vinhos desenvolvidos no Noroeste Paulista. Aproveitem a leitura!

O autor

1. Introdução

O processo de vinificação pode ser considerado complexo devido às etapas que ocorrem de forma simultânea. Alguns fatores são pertinentes às mudanças que ocorrem na composição química e sensorial dos vinhos ao longo da tecnologia de vinificação, desde a região produtora, o clima, o tipo de uva até o manejo da videira. O processo tradicional de vinificação é intensamente mapeado com o objetivo de avaliar as mudanças químicas e sensoriais que ocorrem ao longo do processo e que respondem com informações relevantes sobre os fatores chave para designar a qualidade dos vinhos.

Existem fatores extrínsecos que podem afetar a qualidade final de um vinho como a reputação, propaganda e até mesmo a região produtora e, além desses, alguns fatores intrínsecos ligados à qualidade como propriedades de cor, perfil químico, estabilização, aroma e safra. Os fatores intrínsecos mencionados, exceto safra, estão diretamente relacionados ao processo de vinificação e são passíveis de variações ao longo do processo de transformação da uva em vinho.

De acordo com dados do último relatório da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV, 2014), os maiores produtores de vinhos do mundo estão localizados no continente europeu, sendo eles: França com produção de cerca de 46,2 milhões de hectolitros (hL), seguido de Itália com 44,4 milhões de hL e Espanha com 37,0 milhões de hL. Outros países apresentam produção de vinho ascendente como os Estados Unidos com 22,5 milhões de hL, Argentina com 15,2 milhões de hL, África do Sul com 11,0 e Nova Zelândia com 3,2 milhões de hL. Os grandes países produtores de vinhos apresentam clima, solo e outros fatores naturais que possibilitam o cultivo de uvas da espécie *Vitis vinifera*.

Vitis vinifera (uvas europeias) é a espécie de uva mais utilizada para a produção de vinhos no mundo; no entanto, no Brasil, os vinhos são comumente elaborados por uvas americanas da espécie *Vitis labrusca* e seus híbridos, sendo conhecidos como vinhos de mesa que, por sua vez, ultrapassaram a produção de vinhos elaborados por uvas europeias. O fato de o Brasil se destacar na produção desse tipo de vinho está vinculado às condições climáticas do país que são desfavoráveis para a produção de uvas europeias. Além disso, as uvas americanas apresentam elevada adaptação a climas quentes, alta versatilidade

em relação ao planejamento da colheita e sua rusticidade é uma importante característica relacionada a sua relevante resistência à maioria das doenças da videira.

Nesse contexto, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Uva e Vinho, tem desenvolvido novas uvas híbridas com elevado conteúdo de açúcar e elevada intensidade de cor em seu estágio natural de maturação. Dentre as principais representantes desse grupo é possível destacar as uvas do tipo BRS como a BRS Carmem, BRS Rúbea, BRS Cora, BRS Violeta, entre outras. Apesar das vantagens mencionadas, algumas uvas americanas apresentam reduzido conteúdo de sólidos solúveis e intensidade de cor em seu estágio ótimo de maturação. Sendo assim, existe a necessidade de melhorar essas características a fim de produzir vinhos de mesa mais atraentes aos consumidores como resultado do aumento da extração dos pigmentos existentes nas películas das uvas por meio da aplicação de variações no processo de vinificação e melhoramento genético.

Adicionalmente aos programas de melhoramento genético, as modificações no processo de vinificação são usualmente realizadas por vinícolas com o objetivo de melhorar a qualidade dos vinhos tintos pelo aumento da extração dos compostos fenólicos durante a fermentação alcoólica. Dentre as possíveis variações no processo de vinificação, a pré-secagem das uvas é uma das técnicas aplicadas com o objetivo de promover o aumento dos índices de cor como resultado do dano irreversível das células da película da uva causado pelo calor, o que facilita a extração de antocianinas e outros compostos fenólicos importantes para a composição química e sensorial dos vinhos.

O uso da técnica de chapéu submerso durante a maceração é outra variação aplicada como procedimento de vinificação alternativo que facilita o contato entre o bagaço (parte sólida) e o mosto (parte líquida), promovendo maior extração dos compostos fenólicos existentes na uva. No entanto, esses estudos mencionados são restritos a análises de compostos fenólicos de vinhos tintos elaborados por uvas europeias e estudos que abordem a resposta desses métodos alternativos de vinificação em vinhos elaborados por uvas americanas são praticamente inexistentes.

As atribuições de biofuncionalidade dos vinhos são discutidas mundialmente e tem sido tema de diversas pesquisas. Apesar dos efeitos tóxicos

potenciais do etanol, o vinho é tradicionalmente descrito como um produto que promove a saúde quando consumido com moderação durante as refeições e associado a uma vida ativa saudável. Isto se deve ao famoso “paradoxo francês”, no qual indivíduos franceses adeptos de uma dieta rica em gorduras saturadas apresentaram incidência de mortalidade por doenças coronárias isquêmicas tão baixas quanto a dos povos asiáticos. A partir disso, estudos *in vitro* e *in vivo* tem sido publicados demonstrando os potenciais benefícios do vinho para a saúde atraindo a atenção dos consumidores em geral.

O estudo do vinho tinto e da influência de processos alternativos no perfil químico e sensorial é essencial para se promover o aumento da qualidade dessas bebidas bem como promover benefícios nutricionais no que se refere ao aumento da capacidade antioxidante. Nesse contexto, o objetivo geral da tese está centrado em estudar duas técnicas alternativas de vinificação, pré-secagem de uvas e chapéu submerso, de seis uvas: Bordô, Isabel, BRS Violeta, BRS Carmem, BRS Rúbea e BRS Cora. Como objetivos específicos, a tese apresenta dados sobre parâmetros enológicos clássicos, caracterização fenólica detalhada dos vinhos elaborados pelos processos tradicional, pré-secagem de uvas e chapéu submerso e dados sobre os perfis sensoriais descritivo e de aceitação. Adicionalmente, uma abordagem quimiométrica foi aplicada com o objetivo de observar a relação entre o perfil químico e sensorial.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Aspectos gerais das uvas e dos vinhos

Como mencionado anteriormente, o vinho de mesa e seus derivados são elaborados, no Brasil, com a utilização de uvas americanas e híbridas da espécie *Vitis labrusca* e representam mais de 80% da comercialização total em volume. O vinho elaborado a partir dessas uvas, de grande produtividade e baixo custo de produção, propicia vinhos de características ímpares de sabor e aroma frutado facilmente identificado pelos consumidores (GUERRA, 2003).

O gênero *Vitis*, ao qual pertence as videiras, abrange cerca de 30 espécies, sendo as mais importantes *Vitis vinifera* de origem europeia e outras de origem americana como *Vitis labrusca*, *Vitis riparia*, *Vitis aestivalis*, *Vitis*

berlandieri, entre outras espécies. As uvas americanas e híbridas são geralmente cultivadas em áreas onde as condições ambientais não são muito favoráveis à viticultura tradicional de clima temperado. Áreas como o Leste Norte-Americano, América Central, Brasil (maior parte) e outros países da América do Sul são destaques na produção e no cultivo de uvas americanas. No estado de São Paulo, as cultivares mais conhecidas são a Isabel e a Bordô (AMARANTE, 1983).

As espécies americanas apresentam uma considerável gama de aromas, sendo o foxado o mais importante e típico dessas espécies. Além do aroma foxado, outros aromas como o de morango, o frutado promovido pela presença do antranilato de metila e o aroma floral são destaques desse tipo de cultivar (JACKSON, 2008). Pelo fato de serem pouco cultivadas no mundo, os vinhos de mesa não apresentam concorrentes mundiais e poucas pesquisas concernentes a essas bebidas são encontradas. Apesar desse contexto ser fato, existem alguns estudos atuais que abordam características físico-químicas, assim como a composição fenólica e a capacidade antioxidante dos vinhos elaborados com essas cultivares, ganhando espaço e visibilidade internacional (BURIN et al., 2014; REBELLO et al., 2013; LAGO-VANZELA et al., 2013; TOALDO et al., 2013).

2.1.1. Bordô

A cultivar Bordô é de origem americana e foi introduzida no Rio Grande do Sul em 1839 sob a denominação de *Ives* e se expandiu pelas demais regiões devido à fácil adaptação às condições climáticas e à boa produtividade e longevidade (ZANUS, 1991; CAMARGO, 1996).

A uva Bordô apresenta maturação precoce e é bastante resistente ao míldio e à antracnose. Em seu estágio ideal de maturação dificilmente atinge 15º Babo (correspondente a cerca de 16,9º Brix), mas uma de suas características mais marcantes é o elevado poder corante (RIZZON; ZANUS; MANFREDINI, 1994). É uma cultivar que apresenta cacho pequeno com formato cilíndrico-cônico alado apresentando bagas pequenas de coloração preta com polpa mucilaginoso. Apresenta teor de sólidos solúveis de até 16,02 °Brix, com acidez total de 65 meq/L e pH de 3,29 (EMBRAPA, 1984). A Tabela 1 mostra os

parâmetros físico-químicos dos vinhos Bordô referentes a alguns trabalhos já publicados.

Tabela 1. Características físico-químicas de vinhos da uva Bordô.

Parâmetros	Estudo		
	Castilhos; Conti-Silva; Del Bianchi (2012)	Tecchio; Miele; Rizzon (2007)	Barnabé (2006)
Densidade (g/mL 20°C)	0,9982	0,9965	0,9950
Acidez total (meq/L)	135,20	91,00	122,70
Acidez volátil (meq/L)	4,90	7,30	2,46
pH	3,30	3,21	3,13
Extrato seco (g/L)	30,80	24,24	25,70
Açúcares redutores (g/L)	2,40	3,90	2,03
Teor alcoólico (°GL)	10,70	10,58	9,80
Coloração (DO420/DO520)	0,77	0,39	0,58

2.1.2. Isabel

É a principal cultivar nos vinhedos do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e demonstrou bom comportamento no Noroeste de São Paulo e no Triângulo Mineiro, sendo plantada em projetos recentes voltados à produção de uvas para suco no Vale do Submédio do rio São Francisco (MAIA; CAMARGO; NACHTIGAL, 2002).

É uma espécie originária do sul dos Estados Unidos e destacou-se por ser uma cultivar resistente ao oídio (*Uncinula necator*), espécie de doença fúngica que causava grandes estragos na viticultura (GRIGOLETTI JR.; SÔNEGO, 1983). A uva Isabel foi introduzida no Rio Grande do Sul entre os anos de 1839 e 1842 e, atualmente, representa cerca de 40% da produção total de uva do Brasil. Essa cultivar possui várias aplicações como produção de vinhos tintos comuns, suco de uva, vinagre, geleia e consumo *in natura*. O vinho produzido pela cultivar Isabel apresenta aroma e sabor foxados típicos, identificado como aroma e sabor de uva ou framboesa (RIZZON; MIELE; MENEGUZZO, 2000). Fenotipicamente, a uva Isabel apresenta-se como uma uva de cacho pequeno e solto, formado por um número reduzido de bagas de

tamanho grande. Geralmente, apresenta pH de 3,27; acidez total de 59 meq/L e 18,71 °Brix (EMBRAPA, 1988).

Apesar de os vinhos de mesa apresentarem grande aceitação pelos consumidores brasileiros, as uvas americanas apresentam certas limitações em relação às cultivares viníferas como o baixo teor de açúcar e a baixa intensidade de cor como a cultivar Isabel (CAMARGO; MAIA; NACHTIGAL, 2005). Desse modo, estudos vem sendo realizados com o objetivo de buscar híbridos produtivos que otimizem a extração dos pigmentos típicos dos vinhos tintos com o objetivo de torná-los com aparência mais atrativa e, adicionalmente, produzam vinhos com maior apelo nutricional, ou seja, com elevada capacidade antioxidante.

Com base nesse contexto, o programa de melhoramento genético da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Uva e Vinho) tem contribuído para o avanço da vitivinicultura por meio do desenvolvimento de novas cultivares que apresentem melhores níveis de açúcares sob condições normais de cultivo, elevada coloração e elevada capacidade produtiva nas diferentes regiões do Brasil (temperadas e tropicais) a fim de manter a característica varietal dos vinhos (CAMARGO; MAIA; NACHTIGAL, 2005). Dentre as novas cultivares estudadas pela Embrapa, destaca-se as uvas híbridas BRS Violeta, BRS Carmem, BRS Rúbea e BRS Cora.

2.1.3. BRS Violeta

A uva BRS Violeta foi obtida em 2006 a partir do cruzamento entre BRS Rúbea e a uva IAC 1398-21 e apresenta alto teor de açúcar e elevada coloração, expressa por uma tonalidade violácea intensa. Adapta-se bem tanto em condições temperadas (clima subtropical) quanto em áreas de clima tropical e apresenta elevada capacidade produtiva. Possui bom comportamento em relação a doenças fúngicas como o oídio (*Uncinula necator*), antracnose (*Elsinoe ampelina*), requeima (*Alternaria sp.*) e podridões do cacho; no entanto é sensível ao míldio (*Plasmopara viticola*) (CAMARGO; MAIA; NACHTIGAL, 2005; REBELLO et al., 2013).

Os cachos da uva BRS Violeta apresentam-se em tamanho médio em formato cilíndrico-cônico e alado, com bagas de tamanho médio, esféricas com

coloração preto-azulada, película espessa e resistente. Sua polpa também apresenta coloração violeta com notas de sabor de framboesa, sendo considerada uma uva tintureira. As uvas podem atingir de 19 a 21 °Brix em seu estágio ideal de maturação com acidez relativamente baixa variando de 50 a 60 meq/L e pH entre 3,70 e 3,80. O vinho e o suco dessa cultivar apresenta elevada coloração violácea, sendo muito empregado em cortes de vinhos e sucos principalmente elaborados com a cultivar Isabel que, por sua vez, não apresenta intensa coloração (CAMARGO; MAIA; NACHTIGAL, 2005).

2.1.4. BRS Carmem

A BRS Carmem foi lançada em 2008 como alternativa para a ampliação do período de processamento da uva e melhoria da qualidade dos produtos derivados. É resultado do cruzamento entre Muscat Belly A e BRS Rúbea e origina vinhos de coloração violácea intensa com características de aroma e sabor framboesa (CAMARGO; MAIA; RITSCHHEL, 2008). Seu cacho apresenta-se em tamanho médio, cilíndrico, alado e compacto, com bagas de tamanho médio e forma elíptica de cor preto-azulada e película espessa e resistente.

Essa uva apresenta boa resistência ao míldio (*Plasmopara viticola*), ao oídio (*Uncinula necator*) e à podridão cinzenta (*Botrytis cinerea*) e pode apresentar leves sintomas de antracnose, podridão da uva madura e ferrugem das folhas, no entanto, esses sintomas podem ser minimizados com os devidos tratamentos da videira. No seu estágio ideal de maturação apresenta teor de sólidos solúveis em torno de 19 °Brix, acidez total de 70 meq/L e pH em torno de 3,60. É empregada na elaboração de sucos e vinhos de mesa, sendo utilizada como corte em vinhos e sucos com deficiência de cor (CAMARGO; MAIA; RITSCHHEL, 2008).

2.1.5. BRS Rúbea

A BRS Rúbea é originária do cruzamento entre a Bordô e a Niágara Rosada, realizado em 1965. Apresenta cacho cônico, pequeno e frequentemente alado com baga média, esférica, mucilaginosa e de coloração preta. É resistente a várias doenças fúngicas como a antracnose (*Elsinoe ampelina*), míldio

(*Plasmopora viticola*), oídio (*Uncinula necator*) e podridões do cacho. É empregada na elaboração de sucos e vinhos de mesa, sendo agente de corte em vinhos com pouca coloração. Apresenta baixo potencial glucométrico, em torno de 15 °Brix na seu estágio ideal de maturação com acidez total em torno de 60 meq/L (CAMARGO; DIAS, 1999).

2.1.6. BRS Cora

A BRS Cora é resultado do cruzamento entre Muscat Belly A e a uva BRS Rúbea. Esse cruzamento foi realizado no ano de 1992 e apresenta cacho médio, cilíndrico-cônico de formato alado. As bagas são de tamanho médio, na forma elíptica larga de coloração preta-azulada, película espessa, resistente, polpa incolor e ligeiramente firme. O sabor apresenta nuances de framboesa, típico das cultivares americanas (CAMARGO; MAIA, 2004).

Mostra-se resistente à antracnose, mas sensível à requeima e à ferrugem (*Phakopsora euvitis*). Em plena maturação, apresenta sabor agradável e mosto intensamente colorido com teor de sólidos solúveis em torno de 18 a 20 °Brix e acidez total de 100 meq/L com pH na faixa de 3,45. Utilizada para melhorar o potencial de coloração de sucos e vinhos deficientes nessa característica, como o vinho Isabel, sendo a proporção de 90% de Isabel e 10% de Cora muito utilizada para sucos em comercialização (CAMARGO; MAIA, 2004).

Como forma ilustrativa, fotos de cada uma das uvas estão expostas no anexo da presente tese e apresentam de forma visual as suas inerentes diferenças.

2.2. Principais propriedades químicas dos vinhos

O vinho é uma bebida constituída basicamente por duas substâncias químicas: água e etanol. No entanto, o sabor e o aroma dos vinhos dependem de outras substâncias advindas da uva, do processo fermentativo ou de etapas posteriores ao processo de fermentação alcoólica como a estabilização em garrafa. A grande maioria dos compostos químicos encontrados nos vinhos é resultado dos processos fermentativos realizados pelas leveduras, sendo que os compostos advindos das uvas é significativamente menor quando comparados

aos compostos resultantes da ação das leveduras. No entanto, esses compostos característicos das uvas podem se complexar e formar novas substâncias que são responsáveis pelo efeito varietal dos vinhos (JACKSON, 2008).

Além do álcool, os vinhos apresentam compostos minoritários como as carbonilas, fenóis, lactonas, terpenos, acetais, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados e sulfurados. Ácidos fixos e voláteis, álcoois superiores, açúcares e taninos são substâncias contidas no vinho que podem afetar o corpo e a sensação bucal. Todos esses compostos químicos exercem algum tipo de influência nas características sensoriais dos vinhos, sendo que qualquer mudança sensorial no vinho pode ser explicada, primeiramente, por alguma alteração química (CHIRA et al., 2011). Nesse contexto, um dos maiores objetivos da tecnologia de vinificação e da enologia é entender como os fenômenos químicos ocorrem no vinho durante todo o processo de vinificação e estabilização a fim de descrever quais determinações físico-químicas são potenciais influenciadores das características sensoriais (GIRARD et al., 2001).

2.2.1. Acidez

A acidez do vinho é um dos maiores contribuintes para qualidade e estabilidade, visto que está ligada à preservação microbiológica, pois torna o vinho um ambiente impróprio para o desenvolvimento de alguns tipos de microrganismos. Vinhos tintos apresentam certa estabilidade à baixa acidez devido à presença de compostos fenólicos que aumentam a acidez e preservam a estabilidade durante o envelhecimento (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Inúmeros ácidos compõem o vinho de uma forma geral, sendo eles advindos da uva como os ácidos tartárico, málico, cítrico, D-glucônico, cumárico e cafeico, ou advindos do processo fermentativo como o ácido pirúvico, láctico, succínico, acético, citramálico, oxaloacético e fumárico. Esses ácidos desempenham inúmeras funções nos vinhos, sendo uma das principais o balanceamento do gosto doce através dos gostos ácido e amargo. A equação que descreve esse balanceamento foi proposta por Ribéreau-Gayon e colaboradores (2006) e explica o conceito dos três tipos de acidez que ocorrem no vinho e, adicionalmente, o motivo pelo qual os vinhos brancos apresentam maior acidez em relação aos vinhos tintos:

Gosto doce (açúcares redutores e álcool) \rightleftharpoons Gosto ácido (ácidos orgânicos e inorgânicos) + Gosto amargo (compostos fenólicos)

Assim, vinhos brancos apresentam menor quantidade de compostos fenólicos em relação aos vinhos tintos, sendo necessária maior acidez para manter o equilíbrio da bebida no que se refere ao gosto doce. Tal premissa é válida para os vinhos tintos que apresentam menor acidez devido a maior quantidade de compostos fenólicos, sempre com o objetivo de manter o equilíbrio do gosto doce determinado pelos açúcares redutores e teor alcoólico, sendo ambas determinações preconizadas e limitadas por instruções legislativas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

A acidez do vinho é dividida em acidez total, acidez volátil e acidez fixa. Os ácidos orgânicos não voláteis, ou fixos, são responsáveis pelo controle do pH do vinho, variando de 3,1 a 3,4 em vinhos brancos e 3,4 a 3,6 em vinhos tintos. Uma das funções 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 (JACKSON, 2008).

O ácido tartárico, majoritário na uva, não modifica seu teor à medida que a uva amadurece, sendo o ácido málico o indicativo da vindima, já que decresce ao longo do período de maturação da uva. O ácido succínico é praticamente estável nos vinhos e o ácido láctico é produto da reação de descarboxilação característica da fermentação malolática, na qual bactérias ácido-láticas descarboxilam o ácido málico (dicarboxílico) diretamente em ácido láctico (monocarboxílico), promovendo maior maciez ao vinho (JACKSON, 2008).

Há certa discussão por parte de certos cientistas quanto ao comportamento de diferentes ácidos no mosto e no vinho, já que são dois diferentes meios, sendo o mosto um meio aquoso e o vinho um meio alcoólico diluído. O ácido tartárico é um exemplo clássico dessa máxima, pois apresenta-se majoritariamente na forma livre no mosto e, após a estabilização tartárica, complexa-se formando sais de bitartarato de potássio, reduzindo de forma considerável a acidez total do vinho (JACKSON, 2008). De uma forma geral, a contribuição de cada ácido para a acidez total do vinho se dá pela força que, por

sua vez, caracteriza o grau de dissociação desse ácido e seu potencial para a formação de diversos sais (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

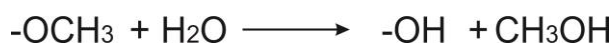
O baixo teor de acidez volátil indica a sanidade do vinho e esse fato está diretamente ligado às características sensoriais, pois há produção de ácido acético durante o processo fermentativo. Além do processo de fermentação alcoólica, a fermentação malolática também produz certa quantidade de ácido acético devido à clivagem da molécula de ácido cítrico pela ação das bactérias ácido-láticas. Além disso, a alta acidez volátil pode ser ocasionada pela ação de bactérias lácticas anaeróbias através da lise de moléculas de açúcares redutores, ácido tartárico e glicerol. Outra reação, mais comum, é a oxidação do etanol em ácido acético por bactérias acéticas aeróbias (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; ZOECKLEIN, et al., 1994; AMERINE; BERG; CRUESS, 1967).

2.2.2. Teor alcoólico e compostos voláteis

O etanol, depois da água, é o componente majoritário do vinho e, basicamente, é produto direto da reação de fermentação alcoólica dos açúcares existentes no mosto pela ação de leveduras. Aproximadamente 18 g/L de açúcar são necessários para a produção de 1% v/v de etanol durante a fermentação alcoólica. Mostos de uvas que apresentem teores de açúcares em torno de 180, 226 e 288 g/L produzirão vinhos com teores alcoólicos em torno de 10, 12,6 e 16% v/v, sendo 16% o teor máximo de etanol que as leveduras de vinho suportam (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). O etanol representa 99,5% do álcool contido no vinho, sendo 0,5% distribuído entre metanol e álcoois superiores como glicerol, álcool isobutílico e isoamílico (JACKSON, 2008).

A afinidade do etanol pela água e sua solubilidade, através das ligações de hidrogênio que podem ser formadas, fazem dessa substância um poderoso agente desidratante. Essa propriedade é útil em complexar proteínas e polissacarídeos e, ainda, promove ação desinfetante no vinho que, juntamente com a acidez, possibilita o envelhecimento da bebida por anos sem haver qualquer tipo de contaminação. Além disso, o etanol atua como solvente para a extração de pigmentos, taninos e compostos voláteis, sendo importante para a estabilidade, envelhecimento e aperfeiçoamento sensorial do vinho (JACKSON, 2008).

O álcool metílico ou metanol não é produzido pela reação de fermentação alcoólica, mas pela hidrólise enzimática dos grupos metila das pectinas através da seguinte reação simplificada:



A quantidade de metanol produzida está diretamente relacionada à quantidade de pectina existente nas películas das uvas, sendo as híbridas as que apresentam maior quantidade de pectina. O uso de enzimas pectinolíticas com o objetivo de otimizar o rendimento do processo de vinificação e facilitar o processo de clarificação do vinho pode influenciar no aumento da produção de metanol, devido à desestruturação da molécula de pectina frente à ação da enzima pectinolítica (JACKSON, 2008). Além disso, a maceração acentuada e prolongada das cascas também pode influenciar no aumento da produção desse álcool de elevada toxicidade (RIZZON; ZANUS; MANFREDINI, 1994).

Dentre os álcoois superiores, os polióis destacam-se por apresentarem várias hidroxilas ligadas à molécula por ligações de hidrogênio que conferem maior ponto de ebulição a essas substâncias e maior viscosidade ao vinho. Dentre os polióis encontrados no vinho, o glicerol é o mais conhecido e o mais abundante na bebida. Outras características importantes vinculadas a essa substância são: a sensação de preenchimento bucal no momento da degustação do vinho, tornando-o mais encorpado e oleoso (NIEUWOUDT et al., 2002) e a otimização da sensação do gosto doce, devido ao glicerol apresentar gosto doce acentuado (NOBLE; BURSICK, 1984; LUBBERS et al., 2001; HATZAKIS; ARCHAVLIS; DAIS, 2007).

Outros álcoois superiores apresentam grande importância para o sabor e o aroma do vinho como os álcoois com 4 carbonos na cadeia (C4): 2,3-butanodiol e o eritritol que apresentam estado de equilíbrio químico com a acetoína e o diacetil, responsáveis pelo odor de leite e manteiga, respectivamente. Álcoois com mais de 4 carbonos apresentam influência sensorial desconhecida, sendo os principais destaques: arabitól (C5), manitol (C6), sorbitol (C6) e mesoinositol (C6) (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Dentre os compostos voláteis mais importantes no vinho, além dos álcoois, listam-se os ácidos graxos de cadeia curta e longa e os ésteres. Os ácidos que compõem o vinho variam desde o ácido fórmico (H-COOH) e o ácido acético (CH₃-COOH) até os ácidos de cadeia longa como o ácido caprílico (CH₃-

(CH₂)₆-COOH) e o ácido pelargônico (CH₃-(CH₂)₇-COOH). Traços de ácidos graxos de cadeia insaturada são encontrados nos vinhos, sendo os principais representantes o ácido oleico (C₁₈ com única instauração) e o linoleico (C₁₈ com dupla instauração), ambos encontrados na pruína – cera impermeável que recobre a baga da uva (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Os ésteres são formados pela reação entre uma função álcool e uma função ácido com a eliminação de uma molécula de água, caracterizando a reação de esterificação. Devido ao grande número de álcoois e ácidos nos vinhos, a quantidade de ésteres presentes na bebida é muito elevada, sendo o acetato de etila um dos mais comuns e pesquisados. O antranilato de metila é o éster característico de uvas da espécie *Vitis labrusca* e é responsável pelo sabor e aroma foxado típico dos vinhos de mesa (JACKSON, 2008). De uma forma geral, os ésteres possuem duas origens: esterificação enzimática durante o processo de fermentação e esterificação química durante o processo de envelhecimento do vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Outros compostos em menor quantidade como aldeídos, acetais e lactonas fazem parte da composição do vinho; no entanto, não contribuem de forma efetiva para o perfil sensorial da bebida.

2.2.3. Açúcares

Os açúcares são normalmente conhecidos como carboidratos e consistem em moléculas polifuncionais, participando de inúmeras reações químicas, bioquímicas e metabólicas. Os carboidratos são os precursores dos ácidos orgânicos, sendo a glicose precursora do ácido cítrico, málico e succínico via glicólise aeróbia. Além disso, os açúcares são precursores dos compostos fenólicos e até mesmo de alguns aminoácidos de cadeia aromática como a tirosina, fenilalanina e o triptofano (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Durante a fermentação alcoólica, os açúcares fermentescíveis glicose e frutose são metabolizados gerando etanol e outros bioprodutos. Outros açúcares chamados de redutores apresentam em sua estrutura uma função aldeído ou cetona que os tornam incapazes de serem fermentados diretamente pelas leveduras. Geralmente, esses açúcares são pentoses como arabinose, ramnose e xilose (JACKSON, 2008).

Um exemplo clássico de açúcar encontrado nas uvas é a sacarose que se apresenta nas folhas dos vinhedos e é hidrolisada no momento de sua transferência para a baga da uva, formando os açúcares essenciais para a fermentação: glicose e frutose. Essa reação de hidrólise pode ser química ou enzimática (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; ZOECKLEIN et al., 1994). Dentre os dissacarídeos mais encontrados nas uvas e nos vinhos destacam-se os redutores melibiose (galactose+glicose), maltose (glicose+glicose) e lactose (glicose+galactose), e os não redutores rafinose (frutose+melibiose), trealose (glicose+glicose) e sacarose (frutose+glicose). Todos apresentam-se em pequenas quantidades nos vinhos, sendo a sacarose a principal representante (JACKSON, 2008).

O açúcar encontra-se distribuído de forma desigual na baga da uva, sendo a zona mais próxima à casca a que contém maior quantidade de açúcar, cuja presença é menor à medida que se aproxima do centro da baga. A quantidade de açúcar da uva depende de vários fatores como variedade, maturidade e sanidade da fruta. Espécies como *Vitis vinifera* atingem teores de açúcar em torno de 20% ou mais em seu ponto ótimo de maturação. Uvas da espécie *Vitis labrusca* raramente atingem esse nível de concentração de açúcar para a fermentação, sendo necessária a adição de sacarose ao mosto, ou chaptalização, para atingir o teor alcoólico preconizado pela legislação (JACKSON, 2008).

Os açúcares podem acarretar severas mudanças nos vinhos, principalmente no que se refere à coloração e à volatilização de compostos aromáticos. A reação de Maillard pode ocorrer entre um açúcar redutor e um grupo amino proveniente de aminoácidos e proteínas. O grupo amino age como um catalisador induzindo a desidratação do açúcar redutor e promovendo a formação de compostos altamente reativos. Esses compostos podem sofrer ciclização e formar substâncias odoríferas como os furfuraldeídos. Reações de condensação e polimerização subsequentes com outros compostos nucleofílicos direcionam a formação de pigmentos marrons ao vinho. Metais podem agir como catalisadores da reação de Maillard, sendo o ferro o mais importante deles (JACKSON, 2008). Além disso, Sorrentino et al. (1986) mostraram que a concentração de açúcares pode aumentar a volatilização de compostos

aromáticos nos vinhos secos, sendo que a relevância dos açúcares em vinhos tintos de mesa suave é, ainda, desconhecida.

2.2.4. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos afetam a aparência, o sabor, a textura, o aroma e as propriedades antimicrobianas dos vinhos. Esses compostos, no vinho, são originários da uva, sendo também retirados das barricas de carvalho no processo de envelhecimento, sendo raramente advindos do metabolismo das leveduras (JACKSON, 2008). São compostos que conferem cor aos produtos derivados da uva como os vinhos e sucos. O perfil fenólico depende de vários fatores como a espécie e a variedade da uva, local da vindima, sistema de cultura, clima, solo e o método de extração desses compostos. Além desses fatores, o perfil fenólico também é influenciado por reações químicas e enzimáticas que ocorrem ao longo do processo de vinificação, assim como na etapa de envelhecimento do vinho (CHEYNIER; FULCRAND, 2000; GARRIDO; BORGES, 2013).

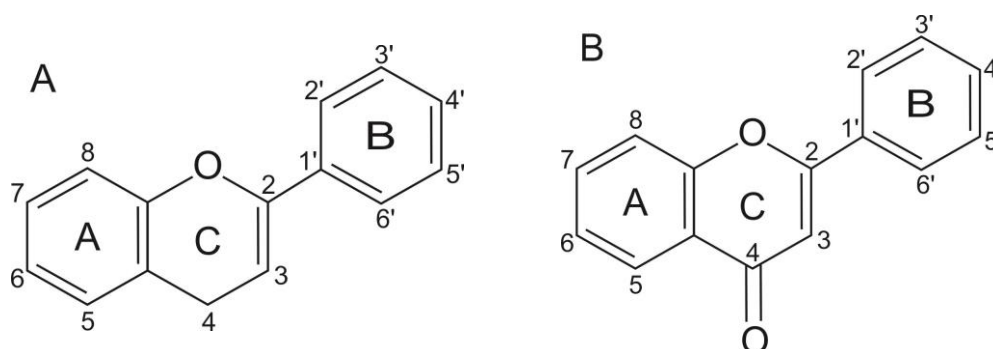
Os compostos fenólicos são divididos, basicamente, em dois grandes grupos:

- a. *Flavonoides*: encontrados principalmente nas películas e sementes das uvas e raramente na polpa. São destaques desse grupo as antocianinas, flavonóis e flavan-3-óis.
- b. *Não flavonoides*: encontrados na polpa da uva e esse grupo é formado pelos ácidos fenólicos, sendo o cinâmico e benzoico os mais importantes, além dos estilbenos como o resveratrol, encontrado na película.

2.2.4.1. Flavonoides

Os flavonoides são caracterizados por uma estrutura C6-C3-C6, ou seja, dois anéis fenólicos ligados por um pirano central contendo oxigênio em sua estrutura (JACKSON, 2008). De acordo com o estado de oxidação do anel C, o flavonoide pode se apresentar como 2-fenil-benzopirano (Figura 1A) ou 2-fenil-benzopirona (Figura 1B) (ANDERSEN; MARKHAM, 2010).

Figura 1. Estrutura básica de um flavonoide.



2.2.4.1.1. Antocianinas

As antocianinas são denominadas de formas diferenciadas de acordo com os substituintes que compõem a molécula de aglicona (antocianidina), constituída de dois anéis fenólicos A e B e um anel pirano heterocíclico (C). A Tabela 2 mostra as possíveis antocianinas encontradas nas uvas e nos vinhos de acordo com seus respectivos substituintes (HARBORNE; WILLIAMS, 1995; LAGO-VANZELA et al., 2014a).

Tabela 2. Antocianidinas mais comuns nas uvas.

Estrutura básica da aglicona	Antocianidina	Grupos substituintes
	Pelargonidina	$R_1 = R_2 = H$
	Cianidina	$R_1 = OH; R_2 = H$
	Peonidina	$R_1 = OCH_3; R_2 = H$
	Delfinidina	$R_1 = R_2 = OH$
	Petunidina	$R_1 = OH; R_2 = OCH_3$
	Malvidina	$R_1 = OCH_3; R_2 = OCH_3$

O cátion flavilium apresenta certa instabilidade eletrônica e devido a sua elevada reatividade, apresenta-se ligado a uma ou duas moléculas de açúcar, sendo eles: glicose, arabinose, ramnose ou galactose, através de ligações hemiacetais. O número de ligações que o açúcar pode ocupar na estrutura da antocianidina classifica a antocianina em mono, di ou triglicosídica, sendo a glicose o principal açúcar ligante. Esses açúcares estabilizam a molécula da

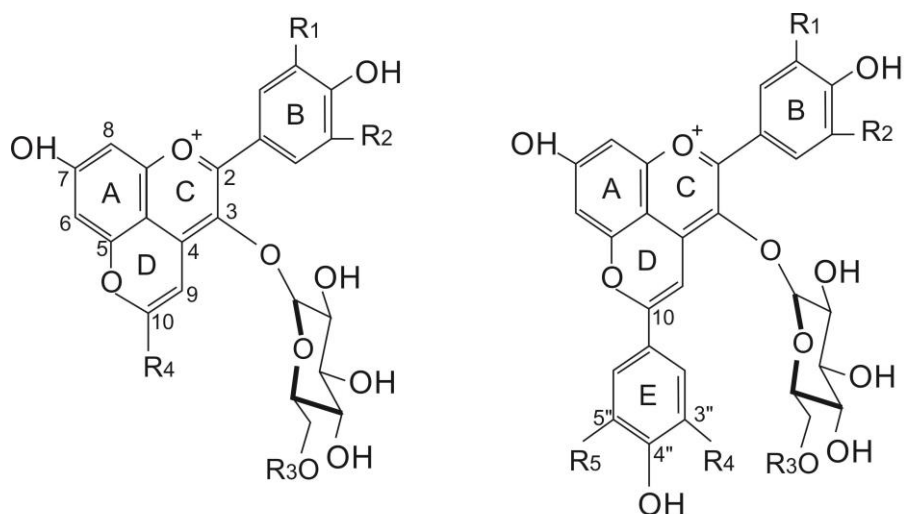
antocianidina e se ligam nas posições 3 e 5 da estrutura. Os açúcares também podem se esterificar com ácidos orgânicos que geralmente estão ligados no carbono 6 da molécula do açúcar (BROUILLARD, 1982; MAZZA; MINIATI, 1993). Essas diferenciações nas estruturas das antocianinas e os diferentes arranjos que podem ser encontrados influenciam sobremaneira na absorção da cor dos vinhos no espectro visível.

2.2.4.1.2. Piranoantocianinas

As piranoantocianinas são substâncias encontradas nos vinhos tintos e são formadas durante a fermentação alcoólica e ao longo da estabilização do vinho. A reação de formação desses compostos envolve uma antocianina e um composto químico contendo uma dupla ligação polarizável (precursor) que reage resultando em um novo anel pirano que se liga à estrutura da antocianina (RENTZSCH; SCWARZ; WINTERHALTER, 2007) (Figura 2, anel D). As primeiras piranoantocianinas reportadas em artigos científicos foram as derivadas de metabólitos de leveduras como a vitisina A (derivada do ácido pirúvico) e a vitisina B (derivada do acetaldeído), mas a lista de possíveis reagentes tem aumentado drasticamente, incluindo compostos fenólicos e não fenólicos.

Em alguns estudos recentes, algumas piranoantocianinas com estruturas simples como as do tipo vitisina A ou 10-carboxipiranoantocianinas e 10-metilpiranoantocianinas, tem sido identificadas como o ponto de partida para a formação de compostos complexos (MATEUS et al., 2003; MATEUS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2010) ou a transformação desses compostos em outros tipos de pigmentos não avermelhados, principalmente de pigmentação alaranjado-telha (HE et al., 2011).

Figura 2. Estrutura das diferentes piranoantocianinas. Fonte: Blanco-Vega et al. (2011).



10-H: R₄=H

10-metil: R₄=CH₃

10-carboxi: R₄=COOH

10-acetil: R₄=COCH₃

10-p-hidroxifenil (10-HP): R₄=R₅=H

10-catequil (10-DHP): R₄=OH; R₅=H

10-guaiaquil: R₄=OCH₃; R₅=H

10-siringil: R₄=R₅=OCH₃

Estrutura das
piranoantocianinas

piranocianidina (pyrcy): R₁=OH; R₂=H

piranopeonidina (pyrpn): R₁=OCH₃; R₂=H

piranodelfinidina (pyrdp): R₁=R₂=OH

piranopetunidina (pyrpt): R₁=OH; R₂=OCH₃

piranomalvidina (pyrmv): R₁=R₂=OCH₃

unidade glicosídica: R₃=H, acetil, cumaroil, cafeoil

As piranoantocianinas podem ser classificadas em dois grandes grupos de acordo com a sua estrutura: as que apresentam um substituinte não fenólico no carbono 10 do anel D, chamadas de piranoantocianinas do tipo vitisina, derivadas de reações entre os metabólitos das leveduras (acetaldeído, ácido pirúvico, ácido acetoacético e diacetil) e antocianinas; e as que apresentam um radical hidroxifenil ligado ao carbono 10 do anel D, chamadas de hidroxifenil-piranoantocianinas, formadas pela reação entre antocianinas e ácidos hidroxicinâmicos como *p*-cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico, por exemplo.

As piranoantocianinas são formadas por reação acoplada entre os compostos mencionados acima (antocianinas, metabólitos de leveduras ou ácidos hidroxicinâmicos) e as antocianinas via carbono C-4 e a hidroxila substituinte na posição C-5, formando um anel pirano nessa posição. Esse anel pirano pode apresentar em sua estrutura um radical não fenólico ou fenólico e

isso depende do tipo de composto que reage com a antocianina. Já que a reação envolve o carbono C-5 do anel A e as principais antocianinas encontradas nos vinhos elaborados por uvas americanas são diglicosiladas (3,5-diglicosídeos), as reações de formação dos pigmentos do tipo vitisina A, B e hidroxifenilpiranoantocianinas são bloqueadas pelo fato de a posição C-5 já estar ocupada por um radical glicose. Desse modo, não é comum encontrar conteúdos relevantes de piranoantocianinas em vinhos elaborados por uvas americanas, sendo que esse conteúdo é superior em vinhos elaborados por uvas viníferas, pois esses apresentam, em sua composição, grande maioria de antocianinas monoglicosiladas (3-glc) (BLANCO-VEGA et al., 2011).

2.2.4.1.3. Flavonóis

Apresentam a mesma estrutura básica da antocianidina, diferenciando-se apenas pela presença de um grupo carbonila no anel C. Os flavonóis apresentam-se nas uvas sob seis diferentes formas (Tabela 3) (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007; MATTIVI et al., 2006; LAGO-VANZELA et al., 2014a).

Tabela 3. Estrutura dos flavonóis nas uvas.

Estrutura básica da aglicona	Flavonol aglicona	Grupos substituintes
	Caempferol	$R_1 = R_2 = H$
	Quercetina	$R_1 = OH; R_2 = H$
	Isoramnetina	$R_1 = OCH_3; R_2 = H$
	Miricetina	$R_1 = R_2 = OH$
	Laricitrina	$R_1 = OCH_3; R_2 = OH$
	Siringetina	$R_1 = R_2 = OCH_3$

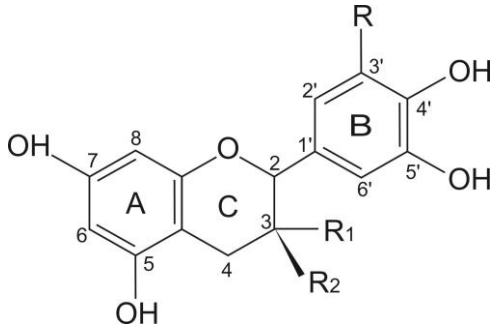
A produção dos flavonóis é induzida de acordo com a incidência de luz nas uvas durante o cultivo. Isso explica a diferente quantidade de flavonóis em uma mesma variedade de uva, cultivada e colhida no mesmo período (PRICE et al., 1995). São encontrados nas uvas sob a forma de 3-glicosídeo e influenciam de forma considerável na coloração dos vinhos, de forma menos importante que

as antocianinas, mas participam de fenômenos de copigmentação e, adicionalmente, participam de forma efetiva como agentes antioxidantes (BOULTON, 2001; SCHWARZ et al., 2005; BURDA; OLESZEK, 2001).

2.2.4.1.4. Flavan-3-óis

Encontrados em larga escala nas sementes e nos engaços das uvas, apresentam como sua unidade fundamental o 2-fenil-benzopirano (Figura 1A). Catequina e epicatequina são os mais abundantes nas uvas e nos vinhos e podem apresentar-se esterificados com ácido gálico (C₇H₆O₅). Contribuem significativamente para o sabor e a adstringência dos vinhos (LAGO-VANZELA et al., 2013; LESSCHAEVE; NOBLE, 2005). A Tabela 4 mostra os principais representantes dos flavan-3-óis.

Tabela 4. Exemplos dos principais flavan-3-óis encontrados nas uvas.

Estrutura básica da aglicona	Flavan-3-ol aglicona	Grupos substituintes
	Catequina	R = H; R ₁ = OH; R ₂ = H
	Epicatequina	R = H; R ₁ = H; R ₂ = OH
	Epicatequina-3-galato	R = H; R ₁ = H; R ₂ = O-galoil
	Galocatequina	R = OH; R ₁ = OH; R ₂ = H
	Epigalocatequina	R = OH; R ₁ = H; R ₂ = OH
	Galocatequina-3-galato	R = OH; R ₁ = H; R ₂ = O-galoil
	Epigalocatequina-3-galato	R = OH; R ₁ = O-galoil; R ₂ = H

A associação de unidades de catequina e epicatequina formam compostos chamados de proantocianidinas ou taninos condensados. Essa associação pode ser entre duas, três, quatro/cinco ou mais de cinco estruturas, formando dímeros, trímeros, oligômeros ou polímeros, respectivamente (TERRIER; PONCET-LEGRAND; CHEYNIER, 2009). As possíveis ligações entre esses compostos e suas diferentes configurações influenciam de forma significativa na coloração dos vinhos tintos, no amargor e na adstringência (BATE-SMITH, 1973), sendo essa caracterizada pela interação entre as

proteínas salivares e os flavan-3-óis, promovendo a desestruturação dessas proteínas, reduzindo a lubrificação que causa a sensação de constrição do palato (MCRAE; KENNEDY, 2011).

2.2.4.2. Não flavonoides

As principais substâncias pertencentes a esse grupo são os ácidos fenólicos, hidroxibenzoico e hidroxicinâmico, em suas formas livres ou esterificadas e os estilbenos.

2.2.4.2.1. Ácidos fenólicos

São encontrados na película e nas sementes das uvas, destacando o ácido gálico e seus ésteres (galatos) para a classe de hidroxibenzoicos, e os ácidos cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico para a classe dos hidroxicinâmicos (DE BEER et al., 2002; JACKSON, 2008). A Tabela 5 mostra os ácidos fenólicos com seus respectivos substituintes.

Tabela 5. Ácidos fenólicos encontrados nas uvas.

Componentes	Substituintes		
A) Ácido hidroxibenzoico (C6-C1) Gálico	R ₁ OH	R ₂ OH	R ₃ OH
B) Ácido hidroxicinâmico (C6-C3)	R ₁	R ₂	R ₃
Cumárico	H	OH	H
Cafeico	OH	OH	H
Ferúlico	O-CH ₃	OH	H
Sinápico	O-CH ₃	OH	O-CH ₃

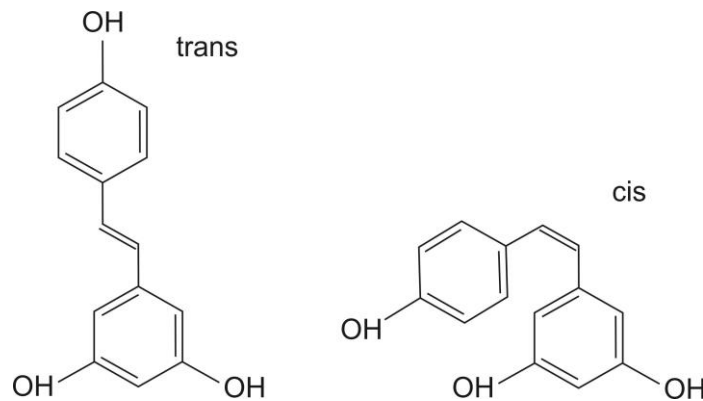
Tais compostos não conferem mudanças significativas no sabor ou na qualidade do vinho, no entanto, eles podem sofrer diversas reações químicas que, em conjunto com os produtos do processo de metabolismo dos açúcares pelas leveduras no processo fermentativo, podem acarretar a formação de compostos que conferem aroma desagradável ao vinho como o aroma de animal ou couro. Além disso, os ácidos fenólicos e seus derivados podem se ligar às antocianinas produzindo piranoantocianinas. A síntese dessa substância está ligada à evolução da cor do vinho tinto no envelhecimento, deixando de ser avermelhado-violeta, tornando-o alaranjado-telha (RENTZSCH et al., 2010).

2.2.4.2.2. Estilbenos

Os estilbenos apresentam estrutura molecular composta de dois anéis benzênicos separados por uma ligação com dois carbonos (Figura 3). Essas substâncias são sintetizadas nas películas, sementes e raízes das uvas sob condições de estresse da videira como contaminação microbiana, danos mecânicos e, principalmente, incidência de radiação ultravioleta (BRAVO, 1996). Dentre os principais compostos da classe dos estilbenos, destacam-se o resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), o piceido (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno-3-O- β -D-glucosídeo) e a astringina (trans-3,3',5,4'-tetrahidroxiestilbeno-3-O- β -D-glucosídeo).

O resveratrol existe naturalmente na sua forma trans, podendo ser transformado para sua forma cis com incidência de raios ultravioleta. Estudos tem sido realizados a fim de avaliar a biofuncionalidade do resveratrol e de seus isômeros no que se refere à atividade antioxidante e a sua capacidade de prevenir doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (DE LA LASTRA; VILLEGAS, 2007; BAUR; SINCLAIR, 2006).

Figura 3. Estrutura do resveratrol na sua forma cis e trans (natural).



2.2.5. Extrato seco, minerais e matérias pécticas

O extrato seco é o resíduo resultante do processo de evaporação do vinho e está relacionado aos compostos que são responsáveis pelo corpo e estrutura da bebida. Estudos mostraram a influência de diversas propriedades físico-químicas no extrato seco de vinhos e, conseqüentemente, na sensação de textura proporcionada pelo corpo da bebida. Yanniotis et al. (2007) mostraram que o teor alcoólico e o teor de açúcares redutores podem influenciar sobremaneira no corpo do vinho e, além disso, podem interferir na densidade da bebida. Teor alcoólico, teor de açúcares redutores e até mesmo a quantidade de compostos fenólicos podem influenciar positiva ou negativamente o corpo do vinho, acarretando mudanças na sua densidade e no extrato seco (DE CASTILHOS et al., 2013).

De acordo com Zoecklein et al. (1994), vinhos com valores de extrato seco entre 20 e 30 g/L podem ser considerados leves ou não encorpados ao paladar, no entanto, vinhos com extrato seco superior a 30 g/L são considerados encorpados. Processos pré-vinificação como a maceração carbônica e o elevado tempo de maceração do vinho podem influenciar no maior ou menor corpo, acarretando melhora da textura final do vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Com relação aos minerais é possível encontrar potássio em variedades cultivadas em climas quentes, sulfatos decorrente da aplicação de fungicidas no controle de doenças das videiras, cálcio em vinhos armazenados em tanques de cimento, cloro e sódio provenientes do uso de colunas de troca iônica, cobre e

ferro provenientes do contato do vinho com materiais corroídos e alumínio pela utilização de bentonite como agente clarificante. Esses minerais podem interferir sensorialmente, visto que quantidades elevadas de cobre e ferro podem proporcionar sabor adstringente ao vinho e concentrações elevadas de sulfato podem gerar um leve gosto amargo (JACKSON, 2008).

Além dos minerais, matérias pécticas podem ser encontradas no mosto, e sua quantidade é direcionada pelo estágio de maturação da uva. Assim, vinhos obtidos de uvas maduras são suaves e fluidos, enquanto os vinhos procedentes de vindimas pouco maduras são ásperos e difíceis de beber (CATALUÑA, 1988). Geralmente, substâncias cristalizadas (coaguladas) como proteínas, gomas e pectina podem ser responsáveis pela turbidez do vinho, influenciando negativamente na sua qualidade visual (SOUSA, 2000).

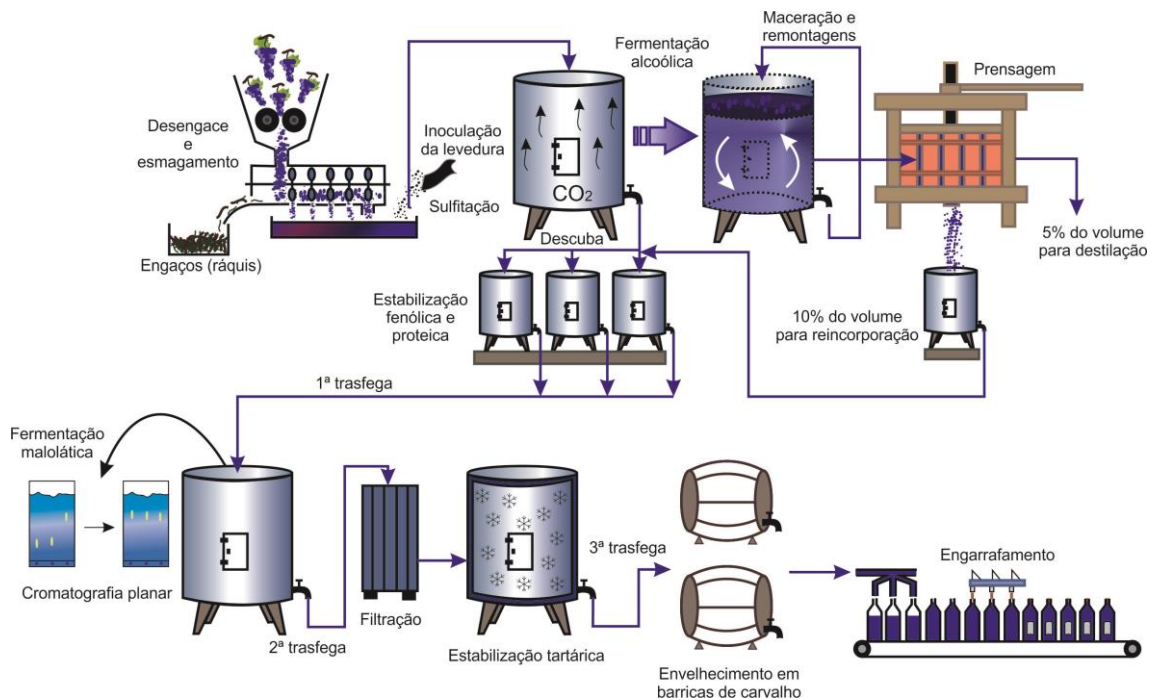
Diante desse contexto, várias propriedades físico-químicas podem se modificar ao longo do processo de vinificação e tais propriedades são diretamente relacionadas a todas as etapas do processo que, dependendo das condições, produz um vinho com características sensoriais singulares e de qualidade. Assim, faz-se necessário o conhecimento sobre as etapas do processo de vinificação em tinto e suas variações, a fim de esclarecer as possíveis influências no processo tanto em relação às propriedades físico-químicas como nas alterações sensoriais.

2.3. O processo de vinificação tradicional

O processo de vinificação em tinto engloba inúmeras etapas e caracteriza-se por um procedimento complexo do ponto de vista tecnológico, pois muitas etapas, em determinados momentos, ocorrem de forma simultânea. É importante ressaltar que o processo aplicado para a elaboração do vinho tinto varia de acordo com alguns fatores como a região de elaboração, o estado sanitário da uva e até mesmo as características das próprias vinícolas.

O processo tradicional de vinificação consiste em desengaçar as uvas e esmagá-las com a finalidade de liberar o mosto fermentativo que, por sua vez, é alocado em um reator fermentativo com a presença das partes sólidas a fim de se iniciar o processo de fermentação alcoólica (Figura 4).

Figura 4. Processo de vinificação em tinto tradicional. Fonte: Jackson (2008); Ribéreau-Gayon et al. (2006).



A presença ou a ausência das partes sólidas dependerá da escolha do vinicultor em produzir vinhos tintos ou brancos, respectivamente, já que a coloração típica dos vinhos tintos é determinada pela presença das antocianinas que são encontradas nas películas das uvas. A mistura (mosto + bagaço) é tratada com metabissulfito de potássio a fim de evitar possíveis contaminações microbianas oportunistas, já que os compostos sulfurados apresentam funções antioxidantes. A fermentação alcoólica pode ser induzida pela incorporação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* ou preparados que contenham misturas de leveduras, ou o processo fermentativo pode ocorrer de forma espontânea pela ação das leveduras existentes na pruína, cera impermeável que recobre a baga da uva.

Alguns autores mostram que a quantidade de levedura inoculada depende da uva a ser vinificada, do processo de vinificação empregado, mas fixa-se a quantidade de 20 g por hL de mosto como o padrão (BINDON et al., 2014; FAVRE et al., 2014; LEE et al., 2006). Mesmo assim, alguns autores utilizam quantidades diferenciadas de levedura, variando de 10 g/hL (CAILLÉ et al., 2010) a 25 g/hL (BORAZAN; BOZAN, 2013). Outras leveduras, além do gênero *Saccharomyces*, participam do processo fermentativo, dentre elas as leveduras

do gênero *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces* e *Pichia* (KREGGER-VAN RIJ, 1984). Entretanto, a *Saccharomyces* é a mais estudada por apresentar propriedades de osmotolerância, relativa insensibilidade a alta acidez e a baixas concentrações de oxigênio.

Após os primeiros dias da fermentação alcoólica, o vinho aumenta o seu conteúdo de etanol devido à conversão dos açúcares em etanol e anidrido carbônico pelas leveduras existentes no meio de acordo com a equação 1, promovendo a diminuição da densidade do mosto fermentativo.



Enólogos preferem dividir a fermentação alcoólica em duas fases: a fase tumultuosa (duração aproximada de 3 dias), caracterizada por apresentar elevada produção de álcool etílico devido à grande atividade das leveduras contidas no meio, pelo grande desprendimento de anidrido carbônico e pela elevação da temperatura; e a fase lenta (duração aproximada de 4 a 6 dias). Devido ao grande desprendimento de CO_2 , a parte sólida tende a se fixar na parte superior do reator fermentativo, limitando a área de contato entre o bagaço e o mosto. Desse modo, faz-se necessária a prática da remontagem, a fim de otimizar o processo de extração dos pigmentos contidos nas cascas das uvas e o aumento da atividade das leveduras contidas no meio (ROSIER, 1993; AMARANTE, 1983).

Com a diminuição gradativa do substrato e o efeito *killer* do etanol sobre as leveduras, a fermentação alcoólica perde o seu ritmo e passa da fase tumultuosa para a fase lenta. Tal fase é caracterizada pela diminuição do desprendimento de CO_2 e da temperatura. O final da fermentação alcoólica é determinado pelo monitoramento da temperatura que deve se apresentar na faixa de 22 a 25 °C e da densidade entre os valores de 0,995 e 1,005 g/cm³, partindo-se de uma densidade inicial de aproximadamente 1,085 g/cm³ (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; ROSIER, 1993).

O período no qual a parte sólida permanece em contato com o mosto é chamado de maceração. Essa etapa ocorre de forma simultânea à fermentação alcoólica e caracteriza-se pela diluição seletiva e a difusão de compostos da

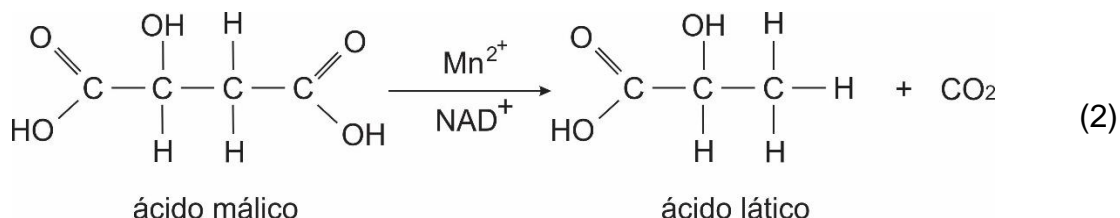
película e semente para o mosto. É a etapa que o mosto incorpora, por contato, todos os componentes retidos na casca. Na maceração são extraídos os componentes da cor, basicamente formados pelos compostos fenólicos (RIZZON; MANFROI, 2006).

A maceração promove maior extração dos componentes das películas e das sementes, o que acarreta maior extração de taninos (pigmentos complexados), não afetando de forma significativa a quantidade de antocianinas extraída (SACCHI; BISSON; ADAMS, 2005). A maceração é uma etapa que pode apresentar grandes variações, pois o tempo de contato do bagaço com o mosto acarreta diferentes respostas químicas e sensoriais no vinho resultante. Esse tempo é determinado de acordo com as características sensoriais almeçadas pela vinícola, pois quanto maior o tempo de maceração, maior será a extração dos compostos fenólicos e, por isso, as características de cor e as sensações bucais serão mais marcantes. Nesse contexto, a maceração torna-se fundamental na caracterização dos vinhos de várias vinícolas.

De uma forma geral, para vinhos de uvas americanas, o tempo de maceração empregada varia de 3 a 5 dias (RIZZON; ZANUS; MANFREDINI, 1994), tempo suficiente para possibilitar a extração de antocianinas e de taninos a níveis que não influenciem de forma negativa nos atributos sensoriais do vinho de mesa. Estudos mostram que o tempo de maceração na vinificação em tinto pode variar 4 a 5 dias (GÓMEZ-PLAZA et al., 2001) até tempos superiores a 40 dias (KUDO; SODEYAMA, 2002; BECKETT, 2008).

Próximo à finalização da fermentação alcoólica, o vinho é separado da parte sólida pela etapa de descuba e o sólido remanescente é prensado, promovendo a liberação de cerca de 10 a 15% de vinho que ainda permaneceu aderido ao bagaço. Geralmente, são realizadas três trasfegas durante o processo de transformação da uva em vinho e essas trasfegas tem por objetivo separar compostos que promovem turbidez ao vinho como sólidos suspensos resultantes da prensagem e da fermentação alcoólica. A primeira trasfega ocorre após a estabilização fenólica e proteica do vinho que, por sua vez, é realizada por preparados proteicos e por materiais adsorventes como a bentonite, respectivamente. A segunda trasfega é realizada após a segunda fermentação, conhecida como fermentação malolática e a terceira é realizada após a estabilização tartárica. Após a primeira trasfega, o vinho sofre a fermentação

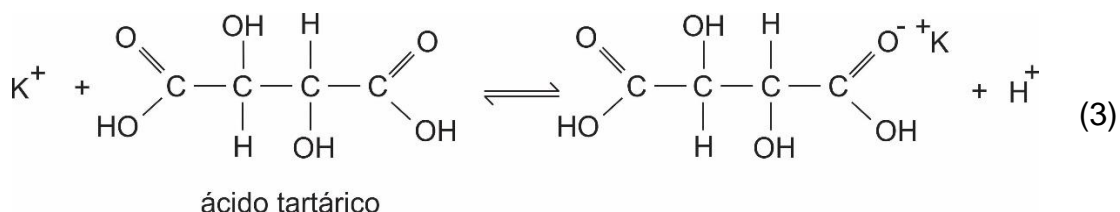
malolática, induzida ou não, pela ação de bactérias ácido-láticas *Oenococcus oeni* que promovem a descarboxilação do ácido málico em ácido láctico com liberação de anidrido carbônico (Equação 2).



Métodos de cromatografia planar são realizados com o objetivo de acompanhar a finalização da fermentação malolática (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). No âmbito das alterações sensoriais, há diversas discussões acerca da influência do processo de descarboxilação na produção de diversos compostos que podem influenciar de forma negativa no aroma e no sabor dos vinhos. Um desses compostos é o diacetil, sintetizado no final da fermentação malolática e que, em concentrações entre 1 e 4 mg/L, pode promover aroma de manteiga ou castanhas ao vinho (JACKSON, 2008).

Além disso, outros compostos podem ser sintetizados como acetaldeído, acetoína, 2-butanol, acetato de etila, 1-hexanol e ácido acético, sendo esse último associado ao metabolismo do ácido cítrico. Nesse contexto, a formação desses compostos está interligada aos tipos de linhagens bacterianas envolvidas no processo de transformação do ácido málico em láctico, sendo passível de intensas discussões científicas (JACKSON, 2008).

Após o término da fermentação malolática, os vinhos são submetidos a um ambiente de refrigeração que possibilita, por mecanismos físicos, a complexação de sais de bitartarato de potássio, reduzindo a acidez total do vinho resultante (Equação 3).



Recomenda-se que o vinho permaneça sob refrigeração na temperatura perto do seu ponto de congelamento. Usualmente, utiliza-se a temperatura de -5 °C durante 5 dias (JACKSON, 2008). Esse tempo pode variar e depende das condições de acidez inicial do vinho, bem como o objetivo a ser alcançado, ou seja, com maior ou menor acidez. Empiricamente, Perin (1977) demonstrou que a temperatura adequada do frio a ser empregado para otimizar o processo de estabilização tartárica está vinculada ao teor alcoólico (Equação 4).

$$Temperatura (-^{\circ}C) = \frac{\% \text{álcool}}{2} - 1 \quad (4)$$

Essa relação é usualmente empregada na maioria das vinícolas brasileiras como um norteador da temperatura a ser empregada no frio para otimizar a formação dos sais de bitartrato de potássio, no entanto, carecem estudos sobre o efeito da estabilização tartárica nas propriedades físico-químicas e sensoriais dos vinhos, visto que tais efeitos são dependentes da temperatura utilizada, do tempo de exposição dos vinhos ao frio e, provavelmente, da uva e do processo de vinificação empregado. Após a estabilização tartárica, o vinho é trasfegado e pode ser estabilizado em garrafas (DE CASTILHOS et al., 2015a,b).

Etapas adicionais podem ser realizadas ao processo tradicional de vinificação de uvas americanas e híbridas, como a chaptalização, por exemplo, praticada de forma usual em vinícolas brasileiras. A chaptalização consiste na adição direta de sacarose ao mosto fermentativo com o objetivo de corrigir o teor alcoólico do vinho resultante, devido ao insuficiente teor de açúcares fermentescíveis das uvas no momento inicial da vinificação (CHAPTAL, 1981).

Teoricamente, são necessários cerca de 18 g/L de açúcares fermentescíveis na uva para se obter 1,0% v/v de etanol (JACKSON, 2008; GUERRA, 2010; DE CASTILHOS et al., 2013) e, de acordo com a legislação brasileira, o teor alcoólico dos vinhos deve estar compreendido entre 8,6 e 14,0% v/v (BRASIL, 2004). No entanto, é comum que as uvas americanas e seus híbridos não atinjam o teor necessário de açúcares para se obter vinhos com teor alcoólico em torno de 10% v/v, sendo necessária a prática da chaptalização. Sendo assim, o limite máximo permitido para a correção do teor alcoólico é de 3,0% v/v.

Jackson (2008) reportou que a sacarose é rapidamente convertida em quantidades equimolares de glicose e frutose, sendo metabolizadas pelas leveduras no processo fermentativo. Além disso, Ribéreau-Gayon et al. (2006) mostraram que a chaptalização aumenta o corpo do vinho e a extração de compostos polifenólicos através do aumento do teor alcoólico. Guerra (2010) observou que, para a vinificação em tinto, é ideal que a inserção da sacarose seja realizada em duas etapas, sendo a primeira durante a fermentação tumultuosa e a segunda após a descuba.

Nesse contexto, a chaptalização ainda é uma prática discutida e questionada por enólogos europeus, devido à falta de informações sobre a sua influência nas demais propriedades físico-químicas e nas características sensoriais, no entanto, é muito empregada por países produtores de vinhos na América Latina, incluindo o Brasil.

Outra etapa comumente empregada no processo de vinificação é o corte, também conhecido como *blending* ou *assemblage*. Consiste na mistura de dois ou mais vinhos com o objetivo de obter um produto equilibrado e harmonioso (ROSIER, 1993). Inúmeros estudos científicos tem sido realizados com o objetivo de avaliar a influência da prática do corte nas propriedades químicas e sensoriais dos vinhos e, de certa forma, na maioria dos estudos, o uso do corte tanto promove efeitos positivos para o incremento fenólico e volátil dos vinhos, assim como para melhoria sensorial (ESCUADERO-GILETE; GONZÁLEZ-MIRET; HEREDIA, 2010; DOOLEY; THRELFALL; MEULLENET, 2012; MONAGAS et al., 2007).

2.4. Processos alternativos de vinificação

2.4.1. Emprego da temperatura no processo de vinificação

A aplicação da temperatura no processo de vinificação tem sido um tema recorrente aplicado por especialistas com o objetivo de melhorar a extração dos compostos fenólicos da uva para o vinho. Além disso, o uso da temperatura demonstrou ser um objeto de estudo a ser explorado com o advento de técnicas instrumentais de alta resolução e sensibilidade como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) acoplada à Espectrometria de Massas (MS) e a

Ressonância Magnética Nuclear (NMR). Essas ferramentas analíticas permitiram a análise de compostos minoritários existentes nos vinhos, principalmente os compostos fenólicos que são responsáveis por determinar características sensoriais como cor e adstringência e, também, por proporcionar ao vinho elevada capacidade antioxidante.

A aplicação de altas temperaturas no processo de vinificação tem resultado na degradação de alguns compostos químicos de elevada instabilidade como as antocianinas e, ao mesmo tempo, tem promovido o aumento da extração de outros compostos como os flavan-3-óis. O uso de altas temperaturas também proporcionou a vantagem de reduzir a população de microrganismos e inibir a ação de enzimas indesejáveis ao processo como a polifenoloxidase (PPO) e a lacase (ANDRADE NEVES; PANTOJA; DOS SANTOS, 2014). Como exemplo do uso da temperatura é possível destacar a termovinificação e a desidratação das uvas pré-vinificação (ou pré-secagem das uvas), sendo esse processo considerado um procedimento pré-fermentativo que pode aumentar a extração dos compostos fenólicos da uva para o vinho. Em contrapartida, tratamentos como a maceração a frio também apresentam sua importância no que se refere a aplicação de baixas temperaturas na etapa de maceração.

2.4.1.1. Termovinificação

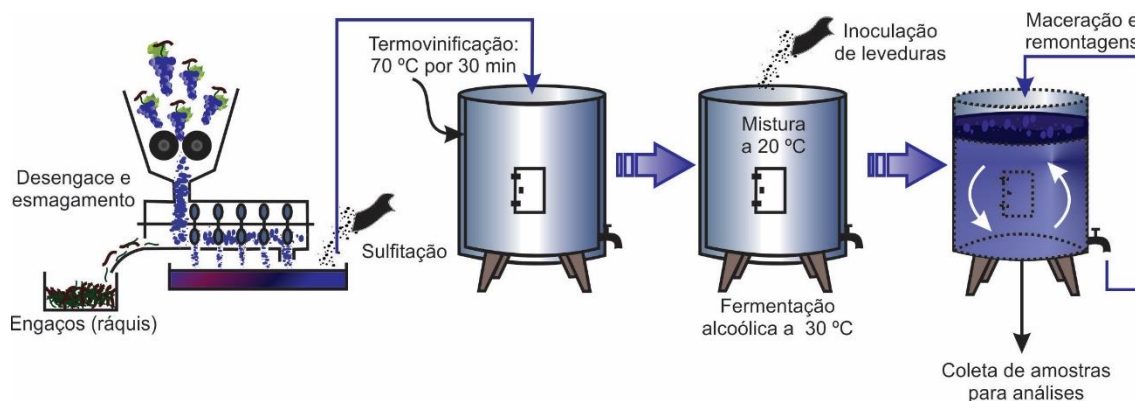
Ao longo do processo tradicional de vinificação, cerca de 40% e 20% das antocianinas e dos taninos, respectivamente, são transferidos para o vinho (CERPA-CALDERON; KENNEDY, 2008) e a extração limitada desses compostos é devido à falta de permeabilidade das paredes celulares nas quais esses compostos estão inseridos (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006). Nesse contexto, alguns estudos tem focado na aplicação de métodos para enfraquecer a parede celular das uvas a fim de otimizar a extração fenólica e o uso de altas temperaturas é um dos procedimentos aplicados para se atingir esse objetivo (LÓPEZ et al., 2008; SACCHI; BISSON; ADAMS, 2005).

A termovinificação é um processo utilizado como alternativa ao processo tradicional de maceração e consiste em submeter as uvas desengaçadas a uma temperatura de até 70 °C por um curto período de aproximadamente 30 a 40

minutos, seguido de resfriamento até a temperatura ambiente (KELEBEK et al., 2007). O calor irá promover a ruptura das células das paredes celulares das uvas e as antocianinas e os taninos serão facilmente liberados de uma maneira não seletiva para o mosto, juntamente com outros compostos fenólicos presentes na uva (AUW et al., 1996). A termovinificação também evita o efeito da oxidação enzimática por meio da inativação das enzimas através do uso da elevada temperatura (SACCHI; BISSON; ADAMS, 2005) e, adicionalmente pode ser empregado em uvas que apresentam má condição sanitária e baixo potencial de cor, visto que o binômio tempo-temperatura empregado é suficiente para inativar as enzimas oxidativas, porém, não inativa as pectinases, por exemplo, que agem no processo de vinificação melhorando o potencial de cor e processos de clarificação (RIZZON et al., 1999).

El Darra et al. (2016) avaliaram a influência da termovinificação nos atributos qualitativos e quantitativos do mosto de uvas tintas durante a fermentação alcoólica. Dentre os atributos avaliados, os autores reportaram resultados acerca do índice total de polifenólicos e características de cor dos vinhos produzidos. Nesse estudo, as uvas foram esmagadas e colocadas em recipientes plásticos, sendo submetidas a câmara termostática a 70 °C por 30 minutos. Após esse tempo, o mosto foi resfriado a 20 °C. A fermentação alcoólica foi induzida e a temperatura ao longo do processo fermentativo foi de 30 °C (Figura 5).

Figura 5. Processo de termovinificação de acordo com El Darra et al. (2016).



Os autores reportaram que a termovinificação permitiu o aumento de aproximadamente 41% do índice de polifenólicos totais quando os vinhos que

foram submetidos a esse tratamento foram comparados à vinificação tradicional. Os autores explicaram que o aumento da extração dos compostos fenólicos pode ser explicado pela ruptura prévia das membranas celulares das películas das uvas pela ação do calor, liberando diferentes compostos fenólicos no mosto fermentativo. A intensidade de cor também apresentou valores elevados para o mosto que foi tratado com altas temperaturas, visto que esses vinhos apresentaram cerca de 62% de intensidade de cor superior aos vinhos submetidos ao processo tradicional (EL DARRA et al., 2016).

O mesmo estudo observou a elevada extração de antocianinas e proantocianidinas promovida pela ação da elevada temperatura, no entanto, a diferença da concentração desses compostos mencionados para os vinhos tradicionais não foi significativa. Em contrapartida, a concentração dos flavonóis dos vinhos termovinificados foi significativamente superior aos vinhos tradicionais e esse resultado pode estar vinculado à ruptura das membranas celulares causada pela ação do calor. Nesse contexto, é relevante sugerir que os vinhos termovinificados apresentem elevada atividade antioxidante devido à maior extração de compostos fenólicos, visto que a relação entre tal propriedade e tais compostos já é conhecida (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; ATANACKOVIC et al., 2012).

Andrade Neves et al. (2014) sugeriram que a termovinificação é um procedimento que possibilita otimizar a extração de compostos fenólicos das películas para o vinho a fim de aumentar a coloração da bebida. No entanto, os autores reportaram que o procedimento empregando elevada temperatura não foi suficiente para a extração dos taninos que se encontravam nas sementes das uvas e a baixa concentração desses compostos trouxe impacto negativo para a maturação dos vinhos elaborados, já que os taninos participam de reações de copigmentação com outros taninos e com antocianinas durante essa etapa. A parte desse resultado negativo, os autores mostraram que o uso da termovinificação pode ser útil para a elaboração de vinhos com elevada aceitação sensorial por consumidores.

Outro estudo importante avaliou a influência da termovinificação em uvas do tipo Okuzgozu (BORAZAN; BOZAN, 2013). Nesse estudo, o mosto foi aquecido a 65 °C por 8 horas antes do início da fermentação alcoólica. Os vinhos elaborados pelo processo de aquecimento do mosto apresentaram elevada

concentração de compostos fenólicos, destacando os flavan-3-óis e ácidos fenólicos. A justificativa desse resultado se repete, ou seja, os autores reportaram que o elevado índice de compostos fenólicos foi alcançado pela ruptura das paredes celulares das películas das uvas, otimizando a transferência desses compostos para o vinho durante a maceração.

O mesmo estudo detectou e quantificou as antocianinas monoméricas (delfinidina, petunidina, cianidina, peonidina e malvidina) e os autores reportaram que os vinhos submetidos a termovinificação apresentaram maiores concentrações dessas antocianinas quando comparados aos vinhos submetidos ao tratamento controle, atingindo a maior concentração no 5º dia da maceração. Os autores ainda sugeriram que a elevada concentração dos compostos pertencentes à classe dos fenólicos pode ocasionar efeitos de proteção para a saúde do consumidor, visto que a capacidade antioxidante do vinho não está vinculada somente a um composto fenólico ou a uma determinada classe de fenólicos, mas sim à presença de grande variedade desses compostos.

Outro importante estudo concernente ao uso da termovinificação demonstrou resultados sobre a influência desse procedimento no perfil volátil de vinhos elaborados com as uvas Carignan e Grenache (GEFFROY et al., 2015). A mistura de mosto e bagaço foi submetida a temperatura de 70 °C por 3 horas e, além dos autores reportarem o aumento da concentração dos compostos fenólicos, sendo esse resultado já esperado, também reportaram a degradação de compostos voláteis característicos das uvas, isto é, os compostos que são responsáveis pelo aroma varietal dos vinhos, como a β -damascenona, β -ionona, β -citronelol, *o*-cresol, etil vanilato e etil cinamato. Os autores vincularam a degradação desses compostos ao emprego da elevada temperatura.

Baseado nesses estudos mencionados, é possível sugerir que a termovinificação é um processo alternativo que promove o aumento da extração de compostos fenólicos devido ao dano irreversível causado nas paredes celulares das películas das uvas. No entanto, deve-se ponderar o uso desse processo alternativo de vinificação, já que alguns estudos reportaram a degradação de alguns compostos fenólicos e, principalmente, de compostos voláteis importantes para denominar as características intrínsecas de vinhos elaborados por determinadas uvas que apresentam suas características varietais.

2.4.1.2. *Secagem das uvas (pré-secagem)*

Outro processo de vinificação alternativo que pode ser empregado com o objetivo de otimizar a extração de compostos fenólicos e, por conseguinte, aumentar a estabilidade dos vinhos, é a aplicação da secagem das uvas previamente à fermentação alcoólica (pré-secagem). Esse procedimento utiliza altas temperaturas com o intuito de aumentar o teor de sólidos solúveis das uvas através da evaporação da água. Nesse contexto, as uvas submetidas ao processo de secagem modificam sua coloração ao longo do processo de secagem e, posteriormente, ao longo da fermentação alcoólica, visto que o uso de calor aumenta a probabilidade de ocorrência de reações de escurecimento enzimático e não enzimático (MARQUEZ et al., 2012).

Nesse contexto, o escurecimento pode ser resultado da reação de Maillard através de um mecanismo não enzimático que promove a formação de compostos chamados de melanoidinas, derivados da reação entre os grupos carbonila e amino existentes na uva (KIM; LEE, 2008). O processo de secagem pode empregar temperaturas entre 30 e 40 °C que permitem a ação da polifenoloxidase, causando a formação de compostos resultantes da oxidação enzimática que fornecem coloração marrom para o vinho (MARQUEZ; SERRATOSA; MERIDA, 2013). De uma forma adicional, a secagem pode ser realizada em temperaturas superiores a 40 °C, permitindo que a reação de Maillard ocorra de uma forma mais concreta que a oxidação enzimática, promovendo a formação de melanoidinas que, por sua vez, apresentam capacidade antioxidante assim como a maioria dos compostos fenólicos (DE CASTILHOS et al., 2015a, 2015b; MARQUEZ et al., 2012).

Marquez et al. (2012) analisaram vinhos doces da região de Montilla-Moriles (Espanha) produzidos pelas uvas Merlot e Tempranillo. As uvas foram submetidas à secagem em câmaras termostáticas a 40 °C com umidade relativa de 20% a fim de aumentar o teor de sólidos solúveis. O processo de secagem foi finalizado no momento que as uvas apresentaram teor de sólidos solúveis de 31,4 °Brix. Após a secagem, as uvas foram amassadas e o mosto foi fortificado com 15% de etanol. A maceração foi realizada a 25 °C por 96 horas. Após a maceração, o bagaço foi prensado e o vinho resultante foi centrifugado, filtrado e armazenado para posterior análise. Como os autores utilizaram a temperatura

de secagem de 40 °C, a reação de Maillard ocorreu de uma forma menos significativa que a oxidação enzimática. Sendo assim, a ruptura das células da parede celular das películas, ocasionada pela evaporação da água, promoveu a diminuição da resiliência da parede celular e o prévio contato das enzimas com seus respectivos substratos.

Dentre os principais resultados obtidos nesse estudo, é possível citar o aumento na absorbância a 520 nm que indica a dispersão facilitada dos pigmentos vermelhos contidos na película para a polpa da uva por meio do dano causado nas células das películas ao longo da secagem. A secagem ainda aumentou a concentração de taninos e antocianinas no vinho Tempranillo, pressupondo que o processo de secagem facilitou a extração desses compostos. Os ésteres de ácidos hidroxicinâmicos apresentaram concentração inferior ao tratamento controle e os autores explicaram tal resultado com base na ação oxidativa da PPO frente a esses compostos.

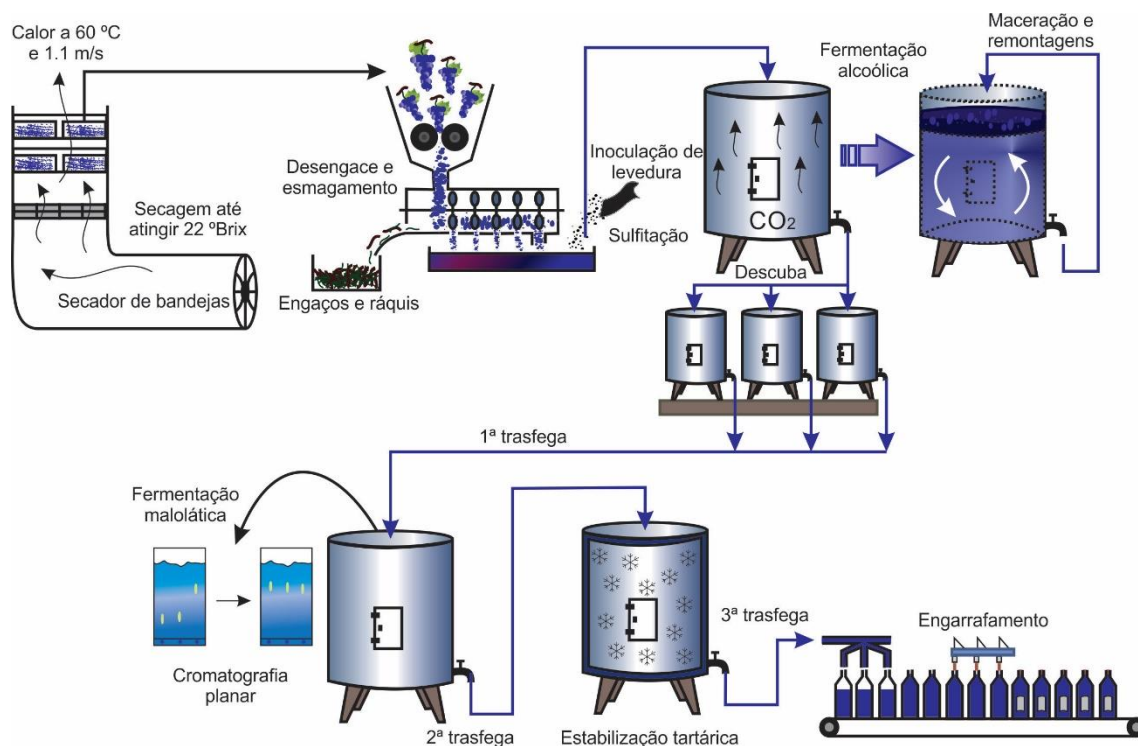
Nesse estudo, os autores ainda reportaram o balanço no conteúdo de flavan-3-óis. Esse balanço está vinculado a perdas que ocorrem devido a participação desses compostos em reações de escurecimento enzimático, auto-oxidação e oxidação por enzimas como PPO e peroxidases. No entanto, ao mesmo tempo, alguns flavan-3-óis de elevado peso molecular podem sofrer hidrólise e formar compostos de baixo peso molecular, aumentando sua concentração final. Esse paradoxo pode ser explicado pelo balanço existente entre ganhos e perdas de flavan-3-óis durante a secagem das uvas e ao longo do processo de vinificação, já que flavan-3-óis como a catequina e as proantocianidinas podem se condensar com antocianinas monoméricas a fim de formar complexos de copigmentação, resultando em um incremento na concentração de compostos fenólicos. A concentração de flavonóis aumentou ao longo da secagem, no entanto, a quantificação desses compostos no vinho final foi inferior ao quantificado no início da vinificação, sendo esse resultado explicado pelas reações de copigmentação que podem ocorrer entre os flavonóis e as antocianinas.

De Castilhos et al. (2013) utilizou a pré-secagem de uvas para aumentar o teor de sólidos solúveis a fim de evitar a etapa de chaptalização. Os autores produziram vinhos das uvas Bordô (*Vitis labrusca*) e Isabel (híbrido de *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*) e utilizaram o processo de secagem a 60 °C utilizando

um secador de bandejas operando a 1,1 m/s (Figura 6). As uvas apresentaram, no início da vinificação, aproximadamente 19 °Brix e, após a secagem, apresentaram cerca de 22 °Brix. O incremento do teor de sólidos solúveis foi alcançado pela secagem a fim de observar os efeitos desse processo nas propriedades químicas e sensoriais do vinhos produzido.

Após a secagem, as uvas foram desengaçadas e esmagadas, permitindo a sulfitação (86 ppm) e a inoculação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (200 ppm). A maceração durou 7 dias e, após a descuba, o vinho foi submetido à fermentação malolática por meio da inoculação de bactérias ácido-láticas *Oenococcus oeni*. A finalização dessa segunda fermentação foi acompanhada por cromatografia planar e, após a finalização, os vinhos foram direcionados a um ambiente refrigerado para promover a estabilização tartárica e, após 10 dias nesse ambiente, os vinhos foram engarrafados.

Figura 6. Processo de vinificação utilizando secagem de acordo com De Castilhos et al. (2013).



Os autores reportaram que a secagem das uvas previamente à vinificação promoveu mudanças significativas no perfil químico dos vinhos. A acidez total e o extrato seco apresentaram valores superiores em relação ao tratamento

controle e esse resultado foi explicado com base na evaporação da água presente nas uvas no momento da secagem. O teor de fenólicos totais aumentou em relação ao tratamento controle e esse resultado foi positivo para os vinhos da uva Isabel que, por sua vez, são conhecidos por apresentar baixos níveis de compostos fenólicos e baixa coloração violeta, típica dos vinhos de mesa. Os autores ainda reportaram a relação significativa entre o extrato seco e a acidez com o atributo sensorial de corpo. Os autores concluíram que o processo de secagem apresentou grande potencial na produção de vinhos tintos com elevada aceitação sensorial da cor, devido ao elevado teor de fenólicos totais. No entanto, esse estudo somente promoveu dados de parâmetros enológicos clássicos e relacionou-os com atributos sensoriais de aceitação.

Adicionalmente a esse estudo, De Castilhos et al. (2015a) e De Castilhos et al. (2015b) utilizaram o mesmo protocolo de secagem prévia das uvas descrito por De Castilhos et al. (2013) e reportaram dados detalhados sobre a composição fenólica dos vinhos submetidos ao processo de secagem e produzidos por cultivares híbridas do tipo BRS através do emprego de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-DAD-ESI-MSⁿ). Os resultados obtidos nesses estudos evidenciaram a degradação das antocianinas pelo calor que, por sua vez, não afetou de forma significativa o conteúdo total de flavan-3-óis.

Esses estudos mostraram que o decréscimo da concentração de antocianinas foi provavelmente observado devido à ação do calor, promovendo degradação térmica desses compostos que apresentam elevada instabilidade e, conseqüentemente, afetaram a coloração violeta-avermelhada típica dos vinhos tintos jovens, tornando-a de tonalidade marrom. Os autores ainda reportaram que o escurecimento desses vinhos foi causado, principalmente, por reações de escurecimento não enzimático (reação de Maillard) em detrimento de reações de oxidação enzimática, já que o processo de secagem foi realizado a 60 °C e, nessa temperatura, a PPO é desnaturada (PATRAS et al., 2010).

Os mesmos autores, em ambos os estudos, relataram que a atividade antioxidante dos vinhos produzidos pelo processo de secagem não diferiu de forma significativa da atividade antioxidante dos vinhos do processo controle. Esse resultado foi explicado pela formação de produtos da reação de Maillard, como as melanoidinas, que apresentam atividade antioxidante, possibilitando um

balanço entre a perda dessa propriedade pela degradação de compostos fenólicos e o ganho promovido pela formação de produtos da reação de Maillard que apresentam tal atividade (DELGADO-ANDRADE; MORALES, 2005).

Adicionalmente, os vinhos produzidos pelo processo de secagem foram descritos como amargos, adstringentes e encorpados, principalmente devido à presença de alta concentração de flavan-3-óis, que não foi afetada de forma significativa pela ação do calor. Os autores ainda reportaram que a fraca influência do calor sobre esses compostos foi relacionada com a presença de elevadas quantidades de flavan-3-óis monoméricos como a catequina e epicatequina e a impossibilidade desses compostos de reagir com as antocianinas advindas das uvas híbridas que apresentam elevada concentração de antocianinas 3,5-diglicosiladas. Esse fato promoveu o bloqueio do sítio de ligação entre os flavan-3-óis e as antocianinas devido à presença da glicose na molécula (DE CASTILHOS et al., 2015a; DE CASTILHOS et al., 2015b).

De uma forma geral, os estudos vinculados ao uso da secagem evidenciaram que os vinhos produzidos por esse processo apresentam coloração marrom típica de reações de escurecimento enzimático e não enzimático, além de apresentarem degradação de antocianinas. No entanto, esse resultado negativo não afetou a atividade antioxidante dos vinhos estudados, já que os produtos gerados pelas reações mencionadas apresentam tal propriedade, sendo essa transferida da uva para o vinho. Portanto, o processo de secagem pode ser considerado um processo alternativo de vinificação que estabiliza os vinhos produzidos, visto que produz substâncias que não estão presentes nas uvas in natura e tão pouco nos vinhos produzidos pelo processo de vinificação tradicional, sendo esses compostos carreadores de propriedades antioxidantes que podem trazer benefícios nutricionais aos consumidores.

2.4.1.3. Maceração a frio

A maceração a frio é uma técnica pré-fermentativa que consiste em otimizar a extração de antocianinas e taninos através do contato da parte sólida (películas e sementes) com o mosto (parte líquida) em um ambiente não alcoólico de baixa temperatura. A ausência de etanol é garantida pela submissão do mosto a baixas temperaturas, na faixa entre 5 e 10 °C por curtos períodos

entre 3 e 5 horas ou longos períodos que podem se estender até 10 dias (GIL-MUÑOZ et al., 2009; GORDILLO et al., 2010; ORTEGA-HERAS; PÉREZ-MAGARIÑO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2012). A temperatura e o tempo empregados nessa técnica de vinificação variam de estudo para estudo e, também, tal variação está vinculada ao objetivo a ser alcançado no que se refere às características sensoriais do vinho a ser produzido.

Em um primeiro momento, a maceração a frio foi aplicada com o objetivo de extração, ao máximo, de compostos solúveis em água como os pigmentos encontrados nas uvas, precursores de aromas, polissacarídeos e fenóis glicosilados de uvas brancas, objetivando produzir vinhos com elevada qualidade sensorial. Em um segundo momento, essa técnica foi aplicada em vinhos tintos e rosados com o intuito de produzir vinhos com maior complexidade aromática e vinhos mais complexos no que se refere à coloração e ao corpo, ou seja, produzir vinhos mais estruturados (DE SANTIS; FRANGIPANE, 2010).

Favre et al. (2014) aplicaram a maceração a frio em vinhos produzidos pela cultivar Tannat. O processo de vinificação consistiu em desengajar as uvas e esmagá-las, liberando o mosto a ser fermentado. O mosto foi sulfitado e submetido à temperatura de 10 a 15 °C por 5 dias antes de se iniciar a fermentação alcoólica, através da aplicação de água refrigerada como agente de refrigeração. A fermentação alcoólica foi induzida pela inoculação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e, após o término da fermentação alcoólica, o vinho foi submetido à descuba e a parte sólida foi prensada para a retirada do vinho aderido. Após alguns processos de estabilização, os vinhos foram engarrafados para análise. Os autores avaliaram o teor de fenólicos total, antocianidinas, flavan-3-óis, proantocianidinas e parâmetros de cor.

Os autores mostraram que a maceração a frio aumentou o conteúdo de antocianinas dos vinhos Tannat, visto que quatro antocianinas, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina, apresentaram elevada concentração comparada à concentração observada no tratamento de vinificação controle. Tal resultado foi possivelmente explicado pelos autores pela ausência de etanol no meio promovido pelas baixas temperaturas aplicadas no procedimento, assim como foi reportado em alguns outros estudos (BUSSE-VALVERDE et al., 2010; KOYAMA; GOTO-YAMAMOTO; HASHIZUME, 2007).

Os autores ainda reportaram a elevada concentração de malvidina, que é considerada a antocianina mais estável, resultando em um impacto positivo na estabilização da cor durante o envelhecimento do vinho. O conteúdo de flavan-3-óis e de flavonóis também aumentou, sendo que os flavan-3-óis menos polimerizados foram os mais facilmente extraídos no início da maceração a frio e o tempo utilizado no procedimento auxiliou na acumulação desses compostos no vinho produzido (KOYAMA; GOTO-YAMAMOTO; HASHIZUME, 2007). Adicionalmente, os autores mencionaram diferenças significativas nos parâmetros de cor determinados pelo espaço CIELab, sendo que esses parâmetros foram superiores nos vinhos produzidos pela maceração a frio quando comparados aos vinhos produzidos pelo tratamento tradicional de vinificação.

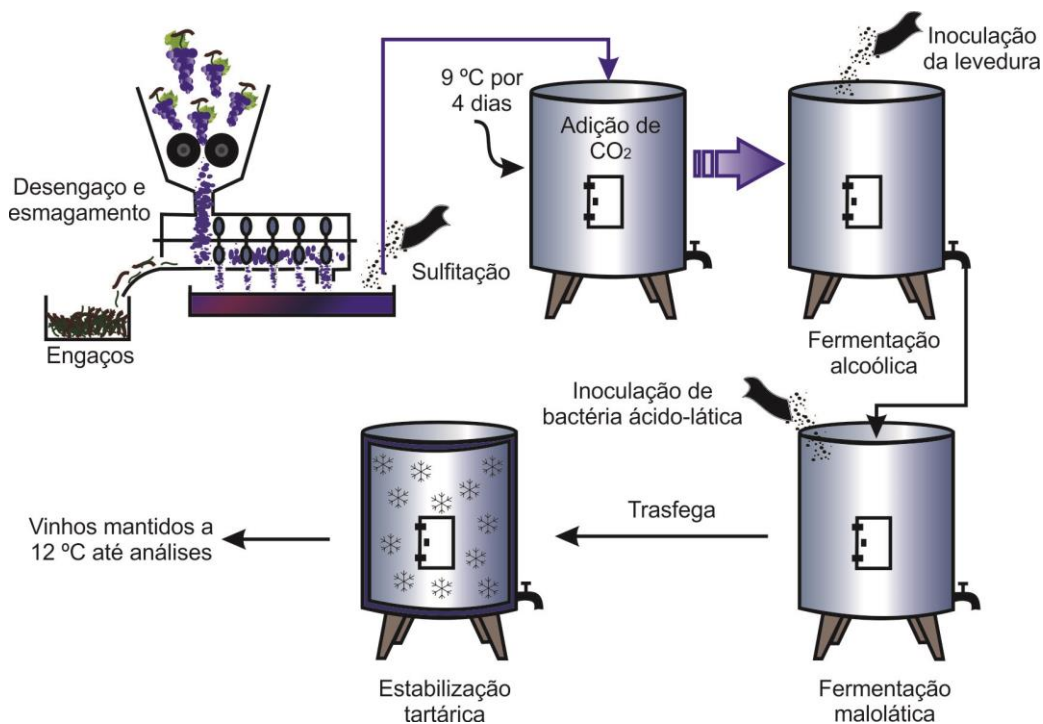
Casassa; Bolcato; Sari (2015) avaliaram resultados de caracterização química, cromática e sensorial de vinhos produzidos por seis cultivares da Argentina: Barbera D'Asti, Cabernet Sauvignon, Malbec, Merlot, Pinot Noir e Syrah, sendo esses submetidos ao processo de maceração a frio. As uvas foram desengaçadas e esmagadas, o mosto e a parte sólida colocados em tanques de fermentação de aço inoxidável e a mistura tratada com 80 mg/L de dióxido de enxofre. A maceração a frio consistiu em submeter a mistura a 9 °C por 4 dias, sendo essa temperatura atingida pela inserção de pastilhas de CO₂.

Durante o esmagamento das uvas, os autores inseriram cerca de 13 Kg de pastilhas de CO₂ por 100 Kg de uvas desengaçadas para garantir a temperatura almejada. Após a maceração a frio, a mistura foi fermentada e tal reação foi induzida pela adição de *Saccharomyces cerevisiae* a 0,3 g/L. A fermentação malolática também foi induzida pela adição da cultura comercial de *Oenococcus oeni* e, após a segunda fermentação concluída, os vinhos foram trasfegados e acondicionados em ambiente refrigerado a 1 °C para possibilitar a estabilização tartárica por 45 dias. Após esse período, os vinhos foram trasfegados e engarrafados para posterior análise (Figura 7).

Os autores evidenciaram ausência de diferenças significativas entre os vinhos submetidos ao tratamento de vinificação controle e o tratamento de vinificação utilizando maceração a frio no que se refere à composição química como o teor de etanol, pH, acidez titulável, teor de ácido málico, acidez volátil, teor de açúcares redutores e glicerol. Os autores também evidenciaram que a

maceração a frio influenciou nos parâmetros de cor dos vinhos tintos, no entanto, tal tratamento não aumentou a concentração de antocianinas e taninos.

Figura 7. Processo de vinificação utilizando maceração a frio de acordo com Casassa; Bolcato; Sari (2015).



Casassa; Bolcato; Sari (2015) sugeriram, então, que há resultados conflitantes na literatura acerca dos efeitos da maceração a frio em vinhos tintos, principalmente no que se refere ao aumento da extração fenólica. Um estudo pontual reportou a otimização da extração dos compostos fenólicos em vinhos produzidos por uvas com baixo teor inicial de compostos fenólicos, sendo esse resultado explicado pela ruptura das células da parede celular das uvas causada pela ação do CO₂ como agente refrigerante (LLAUDY et al., 2005); no entanto, os resultados obtidos seguem conflitantes e passíveis de serem reconsiderados para se obter conclusões sólidas.

Além desses resultados mencionados, Casassa; Bolcato; Sari (2015) ainda indicaram a falta de efeito sinérgico entre o estágio de maturação da uva e o efeito do CO₂ na extração dos compostos fenólicos. Os autores encontraram um resultado que indicou baixa extração dos compostos fenólicos promovido

pela maceração a frio quando as uvas foram colhidas em estágio ideal de maturação, apresentando, portanto, elevado conteúdo fenólico. Além disso, os autores explicaram a contribuição da baixa temperatura utilizada no processo de maceração a frio para a baixa solubilidade dos compostos fenólicos na matriz complexa do vinho e para a baixa permeabilidade das células hipodérmicas das uvas que são responsáveis por liberar as antocianinas para o mosto.

González-Neves et al. (2010) também estudaram o efeito da maceração a frio na composição dos pigmentos dos vinhos tintos Tannat. O processo de vinificação consistiu em desengajar e esmagar as uvas, sendo a mistura (mosto e bagaço) acondicionada em reatores fermentativos de aço inoxidável. A mistura foi tratada com 5 ppm de dióxido de enxofre e a fermentação alcoólica foi induzida pela inoculação de 15 g de *Saccharomyces cerevisiae* por 100 L de mosto. O tratamento controle foi desenvolvido pelo processo de fermentação clássico com aplicação de duas remontagens diárias durante 8 dias. A maceração a frio foi determinada pelo contato inicial das películas a baixa temperatura, na faixa de 10 a 15 °C, antes da fermentação, pela adição de gelo seco durante 5 dias.

Ao final da fermentação alcoólica, os vinhos foram descubados, promovendo a obtenção do vinho primário, e o bagaço foi prensado, permitindo a liberação do vinho secundário que, por sua vez, foi reincorporado ao vinho primário obtido pela descuba. Não houve fermentação malolática e, pelo fato de existir certa probabilidade de essa reação ocorrer de forma espontânea, foi utilizada a quantidade de 40 mg/L de dióxido de enxofre para inibi-la.

Os autores encontraram resultados semelhantes aos encontrados por Casassa; Bolcato; Sari (2015) e observaram que os vinhos submetidos à maceração a frio apresentaram baixa concentração de antocianinas quando comparados aos vinhos elaborados pelo tratamento tradicional. De uma maneira geral, o processo de maceração a frio responde de forma positiva no incremento dos compostos fenólicos para vinhos que são produzidos por uvas que apresentam déficit de concentração de antocianinas.

Os vinhos submetidos ao processo de vinificação tradicional apresentaram alta concentração de antocianinas e de seus derivados glicosilados, não acilados, acetilados e cumaroilados e, apesar de os vinhos submetidos ao processo de maceração a frio apresentarem certo aumento na

concentração desses compostos, tal incremento não foi significativo quando comparado aos vinhos elaborados pelo protocolo tradicional. Alguns autores sugerem que o sucesso dessa técnica alternativa depende de fatores intrínsecos das uvas como o estágio de maturação e a composição fenólica inicial da uva (ÁLVAREZ et al., 2006; REYNOLDS et al., 2001).

De acordo com o mesmo estudo de González-Neves et al. (2010), o processo de maceração a frio aumentou a concentração de pigmentos derivados das antocianinas em 56,3%, ao passo que os vinhos elaborados pelo processo tradicional apresentaram um aumento de 41,1% na concentração desses pigmentos. Os pigmentos derivados das antocianinas apresentam elevada complexidade e, dentre eles, o representante mais conhecido é a vitisina A que, por sua vez, está diretamente relacionada com o processo de envelhecimento dos vinhos; no entanto, os autores sugeriram, baseado nos resultados obtidos, que a maceração a frio pode influenciar positivamente na formação desses compostos.

Baseado nos estudos mencionados, o uso de baixas temperaturas na maceração dos vinhos como potencial procedimento a ser adotado com o objetivo de aumentar a estabilidade da bebida por meio da otimização da extração de compostos fenólicos necessita ser discutido. Existem estudos que mostram que a aplicação da maceração a frio aumenta a concentração fenólica; no entanto, outros resultados indicam que o uso de baixas temperaturas na maceração não promove diferenças significativas na extração dos compostos fenólicos, sugerindo que esse tipo de processo alternativo de vinificação é duvidoso e deve ser discutido com sólido embasamento científico.

2.4.2. Chapéu submerso

Existem poucos estudos que reportam a aplicação da técnica de chapéu submerso como alternativa para o processo de vinificação tradicional, com o objetivo de aumentar a extração dos compostos fenólicos e, por conseguinte, incrementar a capacidade antioxidante dos vinhos produzidos por essa técnica. Entretanto, esse procedimento apresentou resultados positivos no que se refere à redução da necessidade de operações mecânicas durante a etapa de maceração, principalmente no que se refere à não realização das remontagens

(BOSSO et al., 2011; SURIANO; CECI; TAMBORRA, 2012). De fato, a técnica de chapéu submerso tem como objetivo principal promover o contato ininterrupto entre o mosto e o bagaço durante a etapa de maceração dos vinhos, propiciando maior extração dos compostos químicos, incluindo os compostos fenólicos.

Bosso et al. (2011) aplicaram a técnica de chapéu submerso em vinhos produzidos pela uva Barbera e os compararam com vinhos produzidos pelo processo tradicional aplicando remontagens. Para ambos os processos de vinificação, as uvas foram desengaçadas e esmagadas, sendo a mistura resultante tratada com 80 mg de metabissulfito de potássio por Kg de uva. O efeito de chapéu submerso foi obtido pela utilização de uma grade fixada 10 cm abaixo do topo do reator fermentativo com a finalidade de manter o chapéu submerso no mosto durante todo o período da fermentação alcoólica.

A fermentação alcoólica foi induzida (20 g/hL de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*) e a temperatura foi fixada em 27 °C. Para os vinhos submetidos ao tratamento tradicional, remontagens foram realizadas até o final da maceração que durou 12 dias. Após a descuba, o bagaço foi prensado e o vinho obtido da prensagem (secundário) foi reincorporado ao vinho obtido da descuba (primário). Após a finalização da fermentação alcoólica, os vinhos foram trasfegados e micro-oxigenados (6 mg/L de O₂) por 1 mês e trasfegados novamente para barricas de carvalho, permitindo a sua estabilização nesse ambiente por 12 meses. Posteriormente, as amostras foram coletadas para análise química e da composição fenólica.

Os autores relataram que a técnica de chapéu submerso aumentou a acidez total dos vinhos e o extrato seco; no entanto, promoveu menor extração de compostos fenólicos, principalmente, antocianinas e taninos durante a maceração. Outro fato interessante reportado pelos autores referiu-se ao fato de que os vinhos submetidos à maceração sob chapéu submerso, após o processo de prensagem da parte sólida, apresentaram maiores concentrações de antocianinas, flavan-3-óis e proantocianidinas quando comparados aos vinhos elaborados pelo processo tradicional. Esse resultado mostrou que a prensagem dos vinhos afetou a extração dos compostos fenólicos do bagaço para o vinho, quando esse foi submetido à técnica de chapéu submerso. Em linhas gerais, o procedimento alternativo de chapéu submerso pode aumentar o conteúdo de compostos polifenólicos e, conseqüentemente, afetar a capacidade antioxidante

dos vinhos tintos, tornando-os mais estáveis e com considerável potencial de envelhecimento quando submetidos à prensagem.

Outro estudo revelou interessantes resultados da aplicação do chapéu submerso como técnica alternativa de vinificação de uvas Nero di Troia (SURIANO; CECI; TAMBORRA, 2012). Os autores promoveram informações sobre o perfil químico e sensorial desses vinhos comparados aos submetidos ao processo tradicional de vinificação. O efeito do chapéu submerso foi obtido pela utilização de um tanque horizontal rotativo composto de dois tanques cilíndricos concêntricos. O tanque operava em rotação durante 1 minuto a cada 3 horas e, após duas horas, operava em rotação contrária pelo mesmo período mencionado.

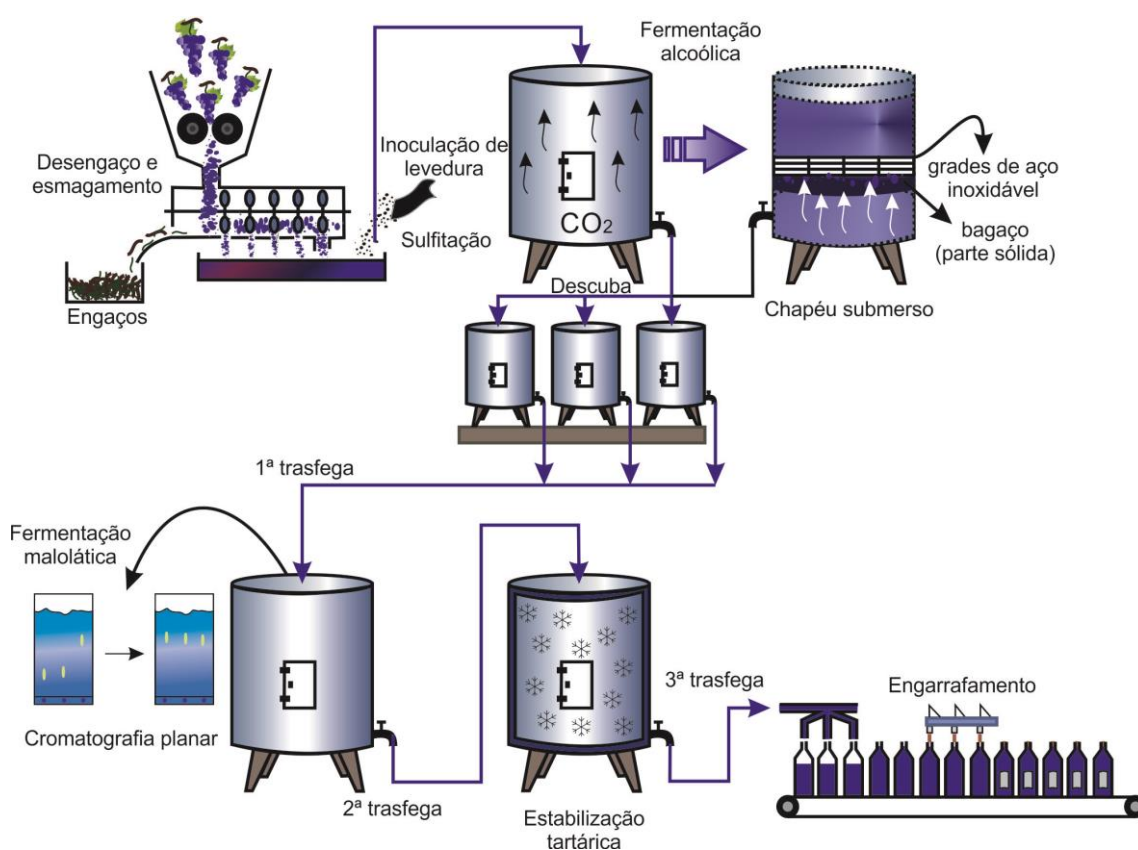
Os resultados obtidos desse estudo mostraram que os vinhos submetidos à técnica de chapéu submerso aumentaram significativamente o extrato seco, assim como apresentaram alta concentração de compostos fenólicos totais, flavonóis e proantocianidinas. A alta concentração de proantocianidinas pode direcionar os vinhos a um elevado potencial de guarda, ou seja, tais vinhos podem apresentar características essenciais para o envelhecimento em barricas de carvalho. Adicionalmente, esses vinhos apresentaram altas concentrações de antocianinas totais e monoméricas, assim como elevados valores de parâmetros de cor e esses resultados responderam, de forma significativa, nos atributos sensoriais, já que esses vinhos foram descritos como intensos em coloração e com elevada tonalidade violeta.

De Castilhos et al. (2015a,b) apresentaram resultados do perfil polifenólico de vinhos elaborados por uvas híbridas empregando a técnica de chapéu submerso. Nesses estudos, os autores realizaram o efeito do chapéu submerso utilizando telas de aço inoxidável no interior do reator fermentativo que, por sua vez, evitavam o deslocamento do bagaço para a parte superior do reator, fruto da formação do anidrido carbônico, bioproduto da fermentação alcoólica (Figura 8).

Na realidade, as telas de aço inoxidável permitiram o efeito de remontagem constante ao longo da etapa de maceração e os autores esperavam que o constante contato entre o mosto e o bagaço aumentasse a extração dos compostos químicos da uva para o vinho, principalmente os compostos fenólicos. O perfil polifenólico dos vinhos foi avaliado por meio da aplicação de

cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MSⁿ) e foi observado que os vinhos submetidos à maceração com chapéu submerso apresentaram altos índices de cor e elevada concentração de antocianinas quando comparados aos vinhos produzidos pelo método tradicional.

Figura 8. Processo de vinificação utilizando a técnica de chapéu submerso de acordo com De Castilhos et al. (2015a,b).



Os autores também reportaram a inexistência de diferenças significativas na atividade antioxidante dos vinhos submetidos ao chapéu submerso quando comparados aos vinhos tradicionais. Adicionalmente, o rendimento do processo de chapéu submerso foi superior ao rendimento do tratamento tradicional, ou seja, a produção de vinho por quilograma de uva foi superior no tratamento de chapéu submerso quando comparado ao tratamento tradicional. De certo modo, os resultados desses estudos evidenciaram o alto potencial do chapéu submerso como alternativa de método de vinificação com o objetivo de produzir vinhos com

elevado potencial de cor e alta capacidade antioxidante, tornando-os mais atrativos aos consumidores.

2.4.3. Maceração carbônica

Esse procedimento alternativo de vinificação tem ganhado substancial atenção no campo enológico devido a relevantes mudanças no perfil químico, fenólico e sensorial de vinhos produzidos por uvas submetidas a essa técnica. A maceração carbônica tem por objetivo produzir vinhos com características frutadas e é um protocolo indicado para a produção de vinhos jovens que, por sua vez, apresentam tal característica. Basicamente, o procedimento consiste em submeter as uvas, desengaçadas ou não, em um ambiente saturado de gás carbônico, permitindo a atividade de enzimas glicolíticas que metabolizam o ácido málico existente no interior das uvas para etanol e outras substâncias. Uma transformação enzimática natural ocorre nessa condição anaeróbia que é determinada pela saturação em CO₂ (SACCHI; BISSON; ADAMS, 2005). Alguns estudos tem reportado que a maceração carbônica produz vinho com aromas ricos e distintos dos vinhos produzidos por protocolo tradicional, sendo esses aromas relacionados com morango e framboesa (VERSINI; TOMASI, 1983; LŐRINCZ; VAS, 1998; FLANZY, 2003) e vinhos com relevante leveza e aveludado sabor (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Etaio et al. (2008) estudaram os efeitos da maceração carbônica nas propriedades químicas e no perfil sensorial descritivo de vinhos tintos produzidos pela uva Tempranillo e de cortes entre as uvas Tempranillo e Viura, típicas da região de Rioja, Espanha. Os autores seguiram o protocolo europeu de produção de vinhos que está vinculado à certificação de Denominação de Origem do Conselho da Região de Rioja e uma das exigências a ser realizada é a não utilização de compostos que promovesse a clarificação dos vinhos, pois esses compostos influenciam negativamente na composição fenólica das bebidas, principalmente na concentração de antocianinas. Dentre as características pontuais do processo tradicional de vinificação proposto pelo Conselho mencionado, é possível pontuar que os vinhos foram sulfitados e submetidos às duas fermentações, alcoólica e malolática, seguido da estabilização tartárica.

Posteriormente, os vinhos foram engarrafados e estocados em ambiente refrigerado com umidade relativa de 90% a 12 °C.

Os autores observaram que os vinhos submetidos à maceração carbônica apresentaram diminuição da acidez total e esse resultado foi explicado pelo parcial metabolismo do ácido málico no interior da uva. Alguns autores também reportaram a presença de baixa concentração de antocianinas (SPRANGER et al., 2004; CASTILLO-SANCHEZ et al., 2006); no entanto, a diferença dessa concentração para a concentração observada nos vinhos tradicionais não foi significativa.

Etaio et al. (2008) esperavam que os vinhos submetidos à maceração carbônica apresentassem baixa concentração de taninos devido ao elevado período de contato entre a película e o mosto em estado anaeróbio, já que a presença prévia do etanol, produto da maceração carbônica, é inexpressiva e dificultaria a extração desses compostos. No entanto, foi observada a inexistência de diferenças significativas na concentração de taninos dos vinhos macerados em ambiente saturado de CO₂ e dos vinhos tradicionais. Dados de atributos sensoriais foram coletados por um painel treinado e os resultados mostraram que os vinhos macerados em anidrido carbônico foram descritos com aroma de frutas vermelhas, sabor ácido e com elevado teor alcoólico. Os dados advindos desse estudo mostraram que a maceração carbônica não aumentou a extração dos compostos fenólicos e a sua aplicação como técnica alternativa de vinificação deve ser discutida.

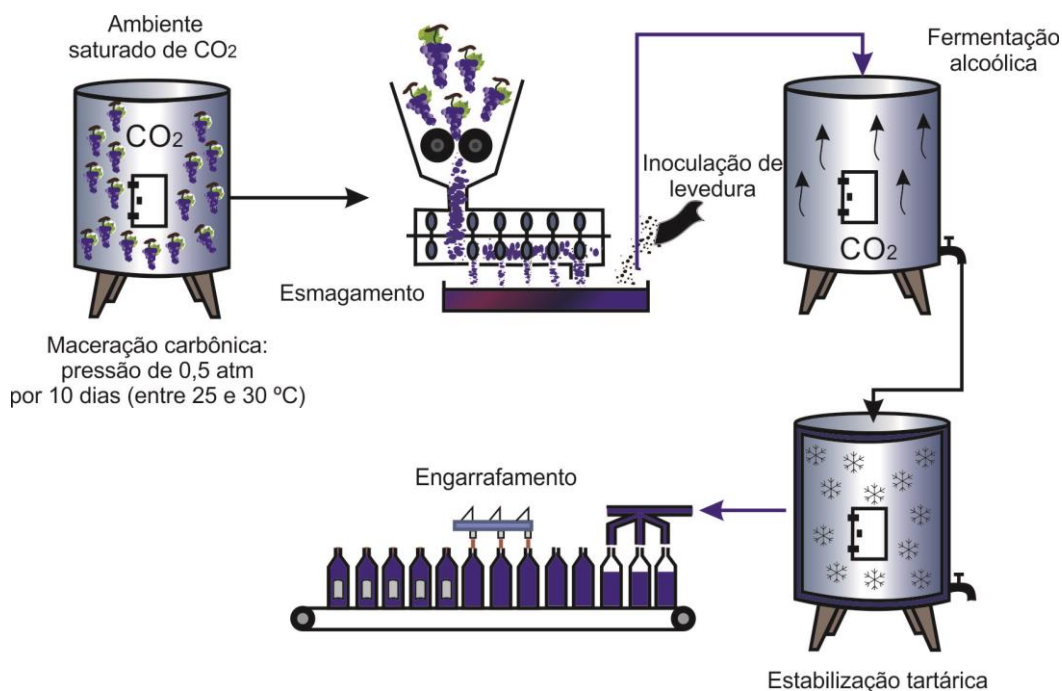
Bertagnolli et al. (2007) apresentaram relevantes resultados sobre a aplicação da maceração carbônica e o impacto da irradiação ultravioleta nos níveis de trans-resveratrol em vinhos da uva Cabernet Sauvignon. O procedimento da maceração carbônica consistiu em submeter as uvas a um ambiente com temperatura de 0,5 °C e 10% de CO₂ por 7 dias. Após esse tratamento, as uvas foram desengaçadas e esmagadas e o mosto obtido tratado com dióxido de enxofre e chaptalizado. A fermentação alcoólica foi induzida pela inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* e, posteriormente, trasfegados e submetidos à fermentação malolática. Por fim, os vinhos foram trasfegados e engarrafados por 2 meses.

Os autores reportaram o aumento da concentração de trans-resveratrol nos primeiros momentos da fermentação alcoólica; no entanto, esse conteúdo

diminuiu até o final do processo de vinificação. Esse resultado foi possivelmente explicado pela atmosfera saturada de CO₂ que ocasionou mudanças na reação de síntese de trans-resveratrol. Nesse contexto, é possível sugerir que o uso da maceração carbônica não promoveu resultados positivos relevantes para a estabilização dos vinhos estudados, já que essa técnica alternativa não aumentou consideravelmente o conteúdo de trans-resveratrol.

Rizzon et al. (1999) também aplicaram a maceração carbônica como procedimento alternativo de vinificação para vinhos elaborados pelas uvas Cabernet Franc (Figura 9). As uvas foram alocadas em tanques de fermentação, sendo elas submetidas a um ambiente saturado de CO₂, sendo esse injetado até atingir pressão interna de 0,5 atm. As uvas foram mantidas nessa atmosfera por 10 dias e a temperatura do processo variou de 25 a 30 °C. Após a maceração carbônica, as uvas foram prensadas e a fermentação alcoólica foi induzida pela inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*. Após a finalização da fermentação alcoólica, os vinhos foram refrigerados a -4 °C possibilitando a estabilização tartárica e, posteriormente, foram engarrafados. Os autores compararam os vinhos submetidos à maceração carbônica com os vinhos submetidos ao procedimento tradicional de vinificação.

Figura 9. Processo de vinificação utilizando a técnica de maceração carbônica de acordo com Rizzon et al. (1999).



Os vinhos submetidos à maceração carbônica apresentaram concentração de antocianinas inferior à concentração observada nos vinhos elaborados pelo processo tradicional e, devido a isso, tais vinhos também apresentaram inexpressivas características de cor. Adicionalmente, o pH dos vinhos macerados em ambiente anaeróbio foi superior e a acidez total foi inferior aos demais vinhos. Tal resultado foi explicado pela metabolização prévia do ácido málico em etanol na baga da uva proporcionado pela ação do CO₂ durante à maceração carbônica. Os autores ainda reportaram que os vinhos elaborados pela maceração carbônica apresentaram coloração menos intensa e foram considerados menos encorpados, apresentando fraca estrutura devido à inexpressiva concentração de compostos fenólicos e baixa acidez, sendo que essas propriedades químicas respondem positivamente para o incremento da cor e do corpo dos vinhos.

2.4.4. Aplicação de diferentes linhagens de leveduras para a fermentação alcoólica

Importantes estudos tem promovido informações sobre o efeito do uso de leveduras selecionadas no perfil químico e sensorial de vinhos, principalmente no que se refere ao perfil de compostos fenólicos e características de cor. Tem-se sugerido que as borras formadas pela ação das leveduras absorve antocianinas (MORATA et al., 2003) e as macromoléculas que são liberadas na autólise das leveduras podem se ligar a compostos fenólicos poliméricos, resultando em um efeito similar ao efeito obtido pelos agentes clarificantes (SACCHI; BISSON; ADAMS, 2005). As manoproteínas liberadas pelas diferentes espécies de leveduras foram examinadas e existem hipóteses do incremento de reações de condensação antocianina-tanino, resultando em um decréscimo da adstringência do vinho (ESCOT et al., 2001).

As manoproteínas são polissacarídeos com elevado nível de glicosilação, principalmente compostos de manose (aproximadamente 90%), glicose e proteínas (aproximadamente 10%) (GUADALUPE; MARTÍNEZ; AYESTARÁN, 2010; VIDAL et al., 2003). A quantidade de manoproteínas liberada depende da linhagem da levedura utilizada na fermentação alcoólica e das condições empregadas no processo de vinificação (GIOVANI; CANUTI; ROSI, 2010).

Estudos tem mostrado que as manoproteínas podem influenciar no aparecimento de alguns atributos sensoriais negativos como elevado amargor e adstringência, aumentando a persistência no palato e o corpo dos vinhos. Aparentemente, esses compostos químicos também podem aumentar a estabilização da cor devido à atividade de proteção coloidal promovido por esses metabólitos das leveduras (DEL BARRIO-GALÁN et al., 2012). Outros estudos tem mostrado que esses compostos podem evitar a interação entre flavan-3-óis e as proteínas salivares via diferentes mecanismos, diminuindo a sensação de adstringência (CARVALHO et al., 2006).

Del Barrio-Galán et al. (2015) analisaram os perfis químico e sensorial de vinhos tintos elaborados pela uva Syrah fermentados com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* que apresentaram diferentes perfis de liberação de polissacarídeos. Os vinhos produzidos apresentaram um protocolo padrão de vinificação que, basicamente, consistiu na colheita das uvas em seu estágio ideal de maturação e no esmagamento das uvas, liberando o mosto que, por sua vez, foi tratado com dióxido de enxofre. A fermentação alcoólica foi induzida pela inoculação de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*: uma convencional e outra caracterizada pela elevada produção de polissacarídeos complexos. A fermentação alcoólica foi realizada com temperatura controlada na faixa de 21 a 25 °C e, a partir do término da fermentação, os vinhos foram trasfegados e submetidos à fermentação malolática que se desenvolveu de forma espontânea. Após a segunda fermentação, o teor de dióxido de enxofre foi corrigido e os vinhos engarrafados para posterior análise.

A aplicação de diferentes linhagens de levedura resultou na ausência de diferenças significativas nos parâmetros enológicos avaliados pelos autores. Os vinhos fermentados pela levedura que produzia níveis relevantes de manoproteínas apresentaram concentração significativamente inferior em todos os compostos fenólicos avaliados, exceto para os ácidos hidroxicinâmicos que apresentou concentração similar aos vinhos que foram produzidos pela levedura convencional. Esses resultados mencionados podem ser explicados pela interação ou pelo fenômeno de adsorção que ocorre entre as manoproteínas liberadas pelas leveduras e os compostos fenólicos, principalmente antocianinas, durante a fermentação alcoólica. Adicionalmente, os resultados sensoriais indicaram baixos escores para sensação alcoólica, amargor e

adstringência e altos escores para sabor frutado, persistência e corpo para os vinhos que foram fermentados pelas leveduras que produziram elevado teor de polissacarídeos complexos.

Esses resultados estão de acordo com outro estudo que reportou o efeito das manoproteínas na minimização da adstringência pela complexação desses compostos com taninos (DEL BARRIO-GALÁN et al., 2011; DEL BARRIO-GALÁN et al. 2012). De uma forma geral, a aplicação de elevada quantidade de manoproteínas pode aumentar alguns atributos sensoriais vinculados à textura do vinho, principalmente pela diminuição da adstringência e do gosto amargo. No entanto, esse procedimento alternativo pode apresentar efeitos indesejáveis na intensidade de cor dos vinhos tintos, já que os compostos fenólicos, principalmente antocianinas, são complexados com os polissacarídeos produzidos por algumas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*.

De uma forma geral, as técnicas alternativas de vinificação são aplicadas com o objetivo de otimizar a extração fenólica e a extração de outros compostos químicos que responderão de forma positiva no perfil sensorial dos vinhos produzidos. Além disso, tal extração pode contribuir para a melhoria de características nutricionais como o aumento da capacidade antioxidante (YAMOMOTO et al., 2015). O uso da variação de temperatura na tecnologia de vinificação possibilita danos irreversíveis às células das películas das uvas, resultando em maior extração de compostos fenólicos da uva para o vinho. No entanto, tal extração pode ser prejudicada pela temperatura empregada, promovendo degradação de compostos fenólicos pelo calor e otimizando a participação desses compostos em reações de escurecimento enzimático (MARQUEZ et al., 2012).

Adicionalmente ao uso da temperatura, a maceração carbônica é uma técnica alternativa que deve ser discutida com maior cuidado, visto que promoveu resultados discrepantes em alguns estudos analisados. Além disso, é possível observar que a técnica de chapéu submerso é uma opção ao tratamento tradicional de vinificação, permitindo o aumento da concentração de compostos fenólicos, o que respondeu de forma positiva no incremento da coloração dos vinhos e de sensações bucais como corpo e acidez (DE CASTILHOS et al., 2015a,b).

Por fim, o emprego de leveduras selecionadas, que apresentaram elevada produção de polissacarídeos complexos, resultou no decréscimo das características de cor dos vinhos devido à complexação entre antocianinas e manoproteínas (DEL BARRIO-GALÁN et al. 2015). Além disso, propriedades sensoriais como gosto amargo e adstringência foram intensamente influenciadas pela aplicação de diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, promovendo vinhos com boa estrutura e com aroma e sabor frutados.

3. Material e Métodos

3.1. Materiais de vinificação

A vinificação em tinto foi realizada em reatores fermentativos de plástico atóxico de 10 L de capacidade contendo batoque hidráulico que possibilitou a saída do CO₂, bioproduto da fermentação alcoólica, e evitou a entrada de O₂ do ambiente externo para o interior do reator. Para a fermentação alcoólica foi utilizada levedura seca ativa *Saccharomyces cerevisiae* Y904 produzida pelo grupo AB Brasil (Mauri®) e para a fermentação malolática foi utilizada a bactéria ácido láctica *Oenococcus oeni* da Laffort®.

As uvas empregadas para esse estudo foram colhidas na cidade de Jales (20° 16' 7" sul e 50° 32' 58" oeste), São Paulo, Brasil, no seu estado ideal de maturação e em ótima condição sanitária. As uvas escolhidas para o estudo foram: Bordô, Isabel, BRS Violeta, BRS Carmem, BRS Rúbea e BRS Cora e apresentaram, no início da vinificação, 16,4±0,4 °Brix, 16,4±1,0 °Brix, 18,5±0,4 °Brix, 17,5±0,5 °Brix, 18,1±1,6 °Brix, 17,2±1,2 °Brix, respectivamente.

3.2. Materiais químicos

Todos os solventes utilizados para a determinação do perfil fenólico dos vinhos apresentaram grau de pureza HPLC (>99%) e a água de qualidade Milli-Q. Os seguintes padrões comerciais foram empregados para a identificação dos compostos fenólicos: malvidina 3-glicosídeo, malvidina 3,5-diglicosídeo, peonidina 3,5-diglicosídeo, trans-piceido, ácido trans-caftárico, (-)-epigallocatequina e (-)-galocatequina (Phytolab, Vestenbergsgreuth, Alemanha);

cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3,5-diglucosídeo, procianidinas B1 e B2, caempferol, quercetina, isoramnetina, miricetina, siringetina e os 3-glicosídeos de caempferol, quercetina, isoramnetina e siringetina (Extrasynthese, Genay, França); trans-resveratrol, ácido cafeico, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epicatequina 3-galato e (-)- galocatequina 3-galato (Sigma Aldrich, Madri, Espanha).

Outros padrões não comerciais de flavonóis como miricetina 3-glicosídeo, quercetina 3-glicurônico e laricitrina 3-glicosídeo foram previamente isolados das películas da uva Petit Verdot (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009). Procianidina B4 foi gentilmente cedida pelo Prof. Fernando Zamora do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade de Rovira e Virgili, Espanha. Os isômeros trans do resveratrol e seus glicosídeos (piceidos) foram convertidos em seus respectivos isômeros cis por irradiação UV (366 nm por 5 minutos em vials de quartzo) em uma solução de 25% de metanol contendo os isômeros trans desses compostos.

Todos os padrões foram utilizados para identificação e quantificação por meio de curvas de calibração que garantiam as faixas de concentração esperadas. A não disponibilidade de um padrão cromatográfico permitiu a quantificação através da curva de calibração do padrão com estrutura química mais similar, sendo eles: malvidina 3,5-diglicosídeo para as antocianinas diglicosiladas, quercetina 3-glicosídeo para os flavanóis glicosilados e suas agliconas livres, ácido cafeico para os ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados, (+)-catequina para os flavan-3-óis poliméricos e a soma total dos monômeros e dímeros individuais de flavan-3-óis pela concentração em (+)-catequina equivalente.

3.3. Vinificação em tinto

Todos os tratamentos seguiram o processo de vinificação previamente descrito por De Castilhos et al. (2013), que se iniciou com o desengace das uvas e esmagamento manual, permitindo a liberação do mosto fermentativo (Figura 10). O mosto e o bagaço foram inseridos em reatores fermentativos de 10 L e a mistura foi tratada com metabissulfito de potássio na proporção de 150 ppm (aproximadamente 86,5 ppm de SO₂). A fermentação alcoólica foi induzida pela

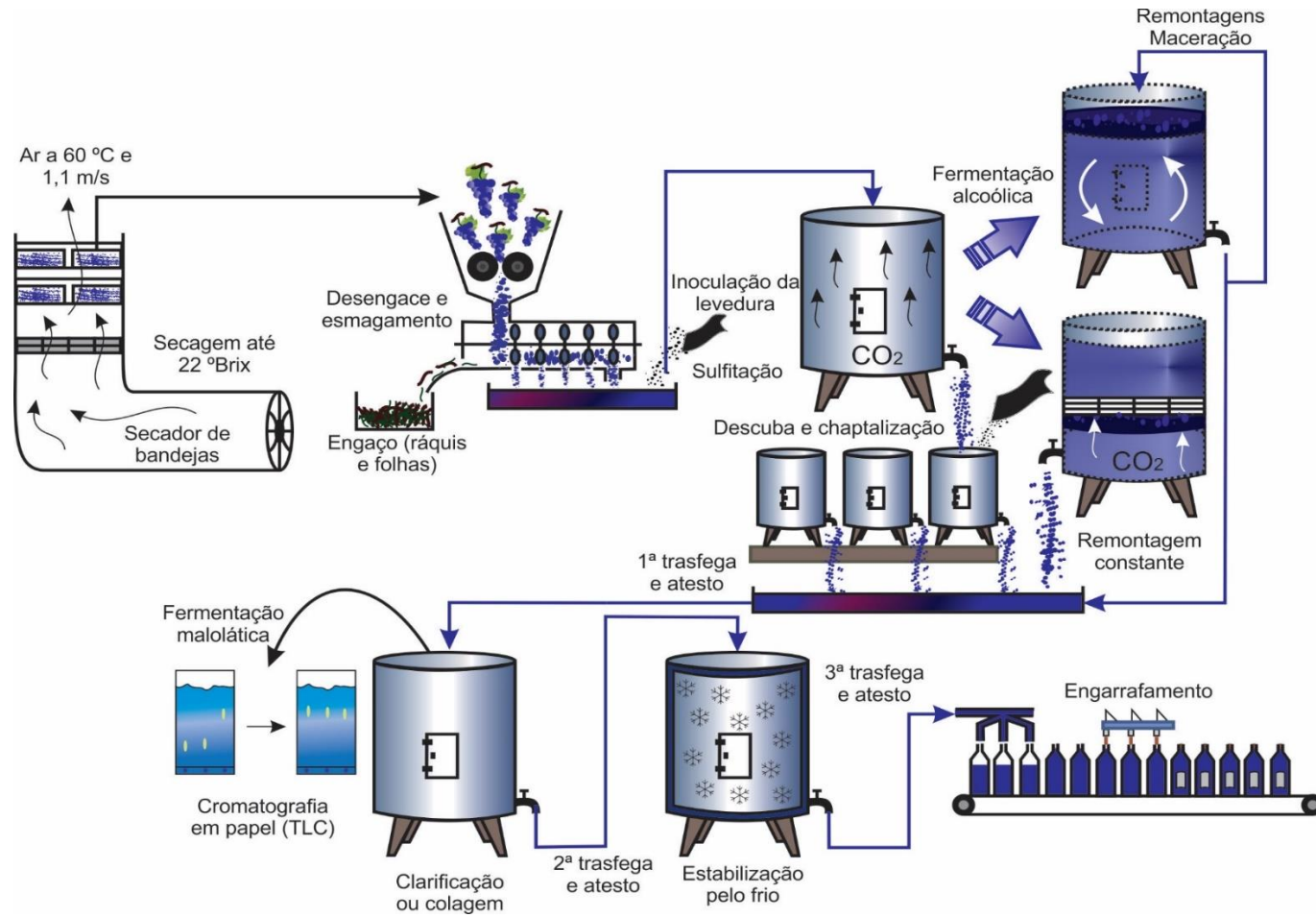
inoculação de 200 ppm de levedura seca ativa *Saccharomyces cerevisiae* e durou cerca de 7 dias. No sétimo dia, a densidade dos mostos foram medidas para observar a finalização da fermentação alcoólica e promover a descuba. A densidade observada, nessa etapa, apresentaram-se na faixa de 1,010 a 1,025 g/cm³.

Após a descuba, o bagaço foi manualmente prensado e o mosto resultante dessa prensagem foi reincorporado ao vinho liberado pela descuba. Esse volume foi inserido em outro reator fermentativo, induzindo a fermentação malolática pela inoculação da bactéria ácido-lática *Oenococcus oeni*. Após a finalização da fermentação malolática, acompanhada por cromatografia em camada planar (TLC) (RIBÉREAU-GAYON et al., 1982), os vinhos foram trasfegados, estocados em ambiente de refrigeração para possibilitar a estabilização tartárica e, após 10 dias, engarrafados para posterior análise. Os vinhos foram envelhecidos em garrafa por 90 dias.

O processo alternativo de chapéu submerso promoveu o efeito da constante maceração através do uso de telas de aço inoxidável que possibilitou que o bagaço não sofresse deslocamento por conta da produção de CO₂, bioproduto da fermentação alcoólica. Esse fato promoveu o constante contato da parte sólida com o mosto fermentativo.

O tratamento de secagem consistiu na secagem das uvas a aproximadamente 22° Brix para evitar o processo de chaptalização, a fim de obter vinhos com teor alcoólico entre 8,6 e 14 %v/v, como preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2004). A secagem das uvas foi realizada por método convectivo com utilização de um secador de bandejas.

Figura 10. Protocolo de vinificação aplicado no estudo.



Quantidades aproximadas de uvas (7 Kg para cada tratamento) foram colocadas em cada bandeja e essas foram submetidas ao fluxo de ar a 1,1 m/s a temperatura de 60 °C (DOYMAZ, 2006; TORRES et al., 2010). Antes do início da secagem, uma amostra representativa do total das uvas foi submetida à secagem em estufa a vácuo para determinação do teor de umidade. Além disso, o teor de sólidos solúveis das uvas foi determinado a fim de estimar a quantidade de água a ser evaporada para se atingir, no final da secagem, aproximadamente 22 °Brix.

O balanço de massa empregado no processo de secagem consistiu na determinação do peso final das uvas em cada uma das bandejas sabendo que, no final, elas deveriam apresentar 22 °Brix. Assim, sendo U a umidade das uvas determinado por método de estufa a vácuo em base úmida, ou seja, a razão da massa de água existente na uva em relação à massa total da amostra; B o teor de sólidos solúveis da amostra (°Brix) determinado por refratometria; m_{uvas} a massa em gramas das uvas submetidas à secagem; $m_{água}$ a massa em gramas de água representativa da umidade da amostra; m_{seca} a massa em gramas de material seco da amostra analisada; $m_{açúcar}$ a massa em gramas de açúcar existentes na amostra e m_{outros} a massa em gramas de outros materiais existentes na amostra, determinou-se a massa de uvas no final do processo de secagem através das seguintes relações:

$$m_{água} = m_{uvas} \cdot U \quad (5)$$

$$m_{seco} = (1 - U) \cdot m_{uvas} \quad (6)$$

$$m_{açúcar} = m_{água} \cdot B \quad (7)$$

$$m_{outros} = m_{seco} - m_{açúcar} \quad (8)$$

Sabendo que a massa de uvas (m_{uvas}) deveria apresentar um teor de sólidos solúveis de 22 °Brix e que a m_{seca} , m_{outros} e a $m_{açúcar}$ não variaram durante a secagem, tem-se:

$$m_{água} = m_{açúcar} / B \quad (9)$$

$$U = m_{água} / (m_{seco} + m_{água}) \quad (10)$$

$$m_{uvas} = m_{água} / U \quad (11)$$

Como a $m_{\text{açúcar}}$ não varia com a secagem, calcula-se a $m_{\text{água}}$ que deverá existir na massa de uvas em cada bandeja do secador. Conhecendo a $m_{\text{água}}$, determina-se a umidade (U) que as uvas devem apresentar quando atingirem o $^{\circ}\text{Brix}$ desejado. Com a umidade e a $m_{\text{água}}$ determinadas, calcula-se a m_{uvas} , ou seja, a massa que cada bandeja deverá apresentar quando a uva atingir 22 $^{\circ}\text{Brix}$, finalizando o processo de secagem. Após o término da secagem, as uvas foram submetidas ao processo de vinificação padrão, excetuando-se a etapa de chaptalização.

No final do processo de secagem, as uvas Bordô, Isabel, BRS Violeta, BRS Carmem, BRS Rúbea e BRS Cora apresentaram 22,6 $^{\circ}\text{Brix}$, 22,9 $^{\circ}$ Brix, 22,6 $^{\circ}\text{Brix}$, 22,6 $^{\circ}\text{Brix}$, 22,3 $^{\circ}\text{Brix}$ e 22,0 $^{\circ}\text{Brix}$, respectivamente, com 20,9%, 22,2%, 12,7%, 16,8%, 14,7% e 17,4% de água evaporada em relação ao peso inicial, respectivamente. Todos os processos de vinificação foram realizados em duplicata.

3.4. Análises químicas clássicas

As análises químicas realizadas para cada um dos vinhos elaborados foram: acidez total e volátil (g/L em ácido tartárico e acético, respectivamente) com uso de pHmetro, aparato para titulometria e destilador Tecnal (TE0363) (BRASIL, 1986); extrato seco total (g/L) utilizando banho termostático a 100 $^{\circ}\text{C}$ e estufa a 105 $^{\circ}\text{C}$ até peso constante (AOAC, 2005); açúcares redutores utilizando Redutec Tecnal (TE0861) baseado no método de Lane-Eynon com redução de íons cobre a partir da solução de Fehling (AOAC, 2005); teor alcoólico (% v/v) utilizando picnômetro e balança analítica (AOAC, 2005) e teor de fenólicos totais (mg/L de ácido gálico) pelo método de Folin-Ciocalteu com emprego de espectrofotômetro de absorvância a 765 nm (SLINKARD; SINGLETON, 1977). Todas as propriedades físico-químicas foram obtidas em triplicata.

3.5. Análise dos compostos fenólicos por HPLC-MSⁿ

3.5.1. Preparação das amostras

As frações dos flavonóis foram isoladas de amostras de vinhos diluídas conforme procedimento previamente descrito por Castillo-Muñoz et al. (2007), utilizando cartuchos de extração de fase sólida Bond Elute Plexa PCX (Agilent®, 6 cm³, 500 mg de material adsorvente). Os flavan-3-óis, sendo eles monômeros, dímeros do tipo B e proantocianidinas, assim como estilbenos, foram isolados segundo procedimento previamente descrito por Rebello et al. (2013), através da utilização de cartuchos de extração de fase sólida SPE C18 (Waters® Sep-Pak Plus, 820 mg de material adsorvente). As frações de antocianinas foram determinadas pela injeção direta do vinho após simples filtração, considerando as diluições realizadas.

3.5.2. Análise dos compostos fenólicos por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

A separação, identificação e quantificação dos compostos fenólicos foram determinadas por um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência HPLC - Agilent 1100 Series (Agilent, Alemanha) equipado com detector de arranjo de diodos DAD (G1315B) e com espectrômetro de massas LC/MSD Trap VL (G2445C VL) com ionização por eletrospray (ESI-MSⁿ) acoplado a uma unidade de processamento de dados Agilent ChemStation (versão B.01.03). Os dados dos espectros de massa dos compostos pós-ionização foram processados utilizando o Agilent LC/MS Trap Software (versão 5.3).

As antocianinas e os demais compostos fenólicos foram analisados de acordo com método previamente descrito por Lago-Vanzela et al. (2011). As amostras de vinhos foram injetadas, sendo 10 µL para antocianinas e 20 µL para os flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados, no HPLC contendo uma coluna XDB-C18 Zorbax Eclipse de fase reversa (2,1 x 150 mm; 3,5 µm de partícula; Agilent, Alemanha) com temperatura controlada de 40 °C.

Para identificação, o sistema de ionização eletrospray ESI-MS/MS foi aplicado em ambos os modos de ionização, positivo para antocianinas e negativo para flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados, seguindo os

seguintes parâmetros: gás de ionização N₂ com fluxo de 8 L/min com temperatura de secagem de 325 °C e nebulizador de N₂ a 50 psi. Os parâmetros de ionização e fragmentação foram otimizados pela injeção direta de soluções padrão apropriadas de malvidina 3,5-diglicosídeo no modo positivo; quercetina 3-glicosídeo e ácido caftárico no modo negativo de ionização, utilizando uma faixa de varredura de 50 a 1200 m/z.

A identificação dos compostos foi baseada em dados espectroscópicos de absorção ultravioleta na região do espectro visível (UV-Vis) e por fragmentações prévias do espectrômetro de massas (MS-MS) de padrões autênticos empregando dados previamente publicados (BARCIA et al., 2014; LAGO-VANZELA et al., 2013; LAGO-VANZELA et al., 2014b; NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; REBELLO et al., 2013). Para quantificação dos compostos mencionados, os cromatogramas DAD foram extraídos a 520 nm para antocianinas, 360 nm para flavonóis e 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD). As análises foram realizadas em duplicata.

3.5.3. Identificação e quantificação dos flavan-3-óis e estilbenos utilizando o método de monitoramento de reação múltipla (MRM) HPLC-ESI-MS/MS

Essa análise foi realizada utilizando um sistema HPLC Agilent série 1200 equipado com detector de arranjo de diodos DAD (Agilent, Alemanha) e acoplado com um sistema de espectrometria de massas AB Sciex 3200 TRAP (Applied Biosystems) com triplo quadrupolo e ionização turbo spray, ou seja, ionização por eletrospray assistida por termonebulização (ESI-MS/MS). O sistema cromatográfico foi gerenciado por uma estação de tratamento de dados Agilent ChemStation (versão B.01.03) e os dados referentes aos espectros de massa foram processados utilizando o software Analyst MSD (Applied Biosystems, versão 1.5).

Informações estruturais acerca das proantocianidinas foram obtidas utilizando o método de despolimerização ácida catalisada e induzida pelo agente nucleofílico pirogalol (BORDIGA et al., 2013). A reação consistiu de adicionar 0,50 mL de uma solução de pirogalol (100 g/L de pirogalol adicionado de 20 g/L de ácido ascórbico em 0,3 N de HCl) a 0,25 mL da amostra de vinho em metanol (20:80 v/v), sendo incubado por 40 minutos a 30 °C. A reação de hidrólise foi

cessada pela adição de 2,25 mL de acetato de sódio (67 mM). Uma alíquota de 2 mL da amostra que foi submetida à reação de despolimerização foi colocada em um vial cromatográfico e injetada diretamente no equipamento descrito acima para análise.

As amostras, antes e após a reação de despolimerização ácida mediada por pirogallol, foram injetadas (20 µL) em uma coluna cromatográfica de fase reversa Ascentis C18 (150 mm x 4,6 mm com 2,7 µm de tamanho de partícula), com temperatura controlada de 16 °C. Os solventes e gradientes utilizados para essa análise e os dois tipos de varredura de espectrometria de massas empregados (Espectrometria de Massa Otimizada e Monitoramento de Múltipla Reação) assim como todas as transições de m/z (massa/carga) para identificação e quantificação foram aplicados de acordo com o método previamente descrito por Lago-Vanzela et al. (2011).

3.6. Determinação da capacidade antioxidante pelo ensaio de DPPH

O procedimento consistiu na adição de 100 µL (0,1 mL) de vinho diluído em metanol em 2,9 mL de uma solução metanólica do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila, Fluka Chemie) a $6 \cdot 10^{-5}$ mol/L (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Após 25 minutos, o decréscimo no percentual da absorbância a 515 nm foi medida. Para essa determinação, a faixa de medição da absorbância deve estar entre 20 e 80% da absorbância inicial de DPPH e, desse modo, a diluição da amostra de vinho a ser analisada deve ser ajustada para se adequar a essa faixa mencionada. De um modo geral, para vinhos tintos, os fatores de diluição estão entre 1/10 e 1/20 v/v. A quantificação da atividade antioxidante foi obtida utilizando curvas de calibração obtidas por solução metanólica de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Fluka Chemie).

3.7. Análise sensorial

A análise sensorial foi dividida em duas abordagens: uma descritiva com o objetivo de obter o perfil descritivo de cada um dos vinhos estudados, sendo

esse perfil determinado por um painel de provadores treinados com experiência na análise sensorial descritiva de vinhos tintos; e outra abordagem que determinou a aceitação das amostras estudadas por consumidores, a fim de observar quais amostras, ou grupo de amostras, foram sensorialmente mais aceitas.

3.7.1. Análise sensorial descritiva

Dez avaliadores treinados, provenientes do painel de provadores da Embrapa Uva e Vinho de Bento Gonçalves/RS com mais de 15 anos de experiência em avaliação sensorial de vinhos, realizaram sessões para levantamento de descritores sensoriais utilizando amostras de vinhos e padrões de referência para elencar os limites máximo e mínimo para cada descritor levantado (Tabela A1 - Anexo). Após breve discussão, os provadores elencaram uma lista de 15 descritores, dois referentes à aparência (intensidade de cor e matiz violeta); quatro referentes ao aroma (intensidade de frutado, nota de foxado, intensidade de vegetal, nota de geleia) e nove referentes ao sabor (doçura, acidez, amargor, corpo, estrutura, sabor herbáceo, adstringência, pungência e persistência).

As sessões de análise foram realizadas no laboratório de análise sensorial da Embrapa Uva e Vinho em cabines individuais a temperatura ambiente. O volume de 30 mL de vinho a 18 °C foi colocado em taças transparentes ISO e os provadores avaliaram cada descritor sensorial em uma escala não estruturada de 90 mm ancorada pelos extremos mínimo e máximo de intensidade (SHEPHERD; GRIFFITHS; SMITH, 2007). Todas as amostras foram codificadas com três dígitos aleatórios e foram apresentadas de forma monádica e aleatória. Os provadores avaliaram as amostras em triplicata. A análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista (UNESP) (CAAE nº 15159913.3.0000.5466).

3.7.2. *Análise sensorial de aceitação*

A aceitação sensorial dos vinhos foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce - Unesp). Um painel de consumidores avaliou a aceitação dos vinhos tintos em relação aos atributos de aparência, aroma, corpo, sabor e aceitação global através de uma escala estruturada de 9 pontos, variando de desgostei extremamente (1) a gostei extremamente (9). Além dos atributos, a intenção de compra também foi avaliada, utilizando uma escala estruturada de 5 pontos, variando de certamente não compraria (1) a certamente compraria (5).

Os consumidores responderam um questionário preliminar abordando a quantidade de ingestão de vinho por mês, sendo essa quantidade baseada no volume de vinho ingerido per capita/ano pelo brasileiro - 1,90 L/habitante/ano (OIV, 2013). Esse consumo seria aproximadamente 158 mL (4 taças) de vinho por habitante ao mês, sendo considerado um consumo moderado.

Para os vinhos produzidos com as uvas da safra de 2012, Bordô, Isabel, BRS Violeta e BRS Carmem, o planejamento experimental empregado foi o de blocos incompletos aleatorizados (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999), sendo que cada um dos 96 provadores avaliou 7 dos 12 vinhos, sendo eles aleatorizados e apresentados de forma monádica, codificados com uma sequência de três números aleatórios, totalizando 56 avaliações para cada vinho. Para os vinhos produzidos com as uvas da safra de 2013, BRS Cora e BRS Rúbea, o planejamento experimental empregado foi o de blocos completos aleatorizados, sendo que cada um dos 100 provadores avaliou todos os vinhos, sendo também aleatorizados e apresentados de forma monádica, codificados com uma sequência de três números aleatórios.

A análise da aceitação foi realizada em cabines individuais com luz branca e temperatura variando de 22 a 25 °C. Foram utilizados copos de vidro de 30 mL com volume de vinho de 15 mL. A análise sensorial de aceitação foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) (CAAE nº 15159913.3.0000.5466).

3.8. Análise dos dados

As médias dos parâmetros enológicos clássicos, dos atributos sensoriais descritivos e de aceitação e os dados referentes à caracterização fenólica dos vinhos foram analisados utilizando Análise de Variância (ANOVA) com teste de comparação de médias de Tukey, quando as variâncias apresentaram homoscedasticidade, e teste de comparação múltipla de Games-Howell quando as variâncias não apresentaram homoscedasticidade, utilizando o software Minitab 15 (Minitab Inc.). Em alguns casos, o teste de correlação de Pearson foi aplicado para justificar correlações entre atributos sensoriais. Todas as variáveis coletadas, concernentes às propriedades enológicas clássicas, dados sensoriais e dados da caracterização fenólica foram relacionados através da aplicação da Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando o software Statistica 7 (StatSoft Inc.). Para todos os testes estatísticos foi considerado o nível de significância de 0,05.

A Análise de Componentes Principais (PCA) é uma ferramenta estatística multivariada que é utilizada para analisar inter-relações entre um grande número de variáveis e explicar essas variáveis em termos de componentes principais que são comuns às variáveis. De um modo geral, o objetivo dessa análise é encontrar um meio de condensar a informação contida em várias variáveis originais em um conjunto menor de variáveis estatísticas (componentes principais) com perda mínima de informação (HAIR et al., 2009).

Basicamente, quando a PCA é aplicada em estudos quimiométricos, o número de variáveis é reduzido em grupos alocados em duas componentes principais que são responsáveis por explicar a maior parte da variação das variáveis originais. No caso desse estudo em particular, as variáveis serão delimitadas pelas propriedades químicas e sensoriais (descritivas e de aceitação) e os vinhos se relacionarão com os grupos de variáveis que, por sua vez, serão alocados em determinadas componentes principais. Essa abordagem é muito aplicada em estudos científicos que objetivam observar a relação entre inúmeras variáveis e tem sido uma ferramenta muito difundida em estudos sensoriais e químicos, caracterizando estudos quimiométricos (GRANATO et al., 2015; ZIELINSKI et al., 2014).

4. Resultados e discussão

Os resultados obtidos nesse estudo foram avaliados separadamente, pois o objetivo da tese está centrado na análise e avaliação da influência dos tratamentos alternativos de vinificação nas propriedades enológicas clássicas, nos parâmetros sensoriais, no perfil fenólico e na capacidade antioxidante de cada um dos vinhos produzidos. Sendo assim, para facilitar a discussão dos resultados, em alguns casos, os vinhos foram agrupados de acordo com as semelhanças observadas no perfil fenólico. Nesse contexto, os resultados e a discussão desses estão divididos em quatro tópicos, sendo eles: Bordô e BRS Carmem; BRS Rúbea e BRS Cora; BRS Violeta e Isabel.

4.1. Parâmetros básicos da vinificação

Vinhos submetidos ao tratamento tradicional e chapéu submerso foram chaptalizados pela inserção de sacarose nas proporções de 52,2 g/L para os vinhos Bordô e Isabel, 33,5 g/L para BRS Violeta, 42,3 g/L para BRS Carmem, 37,8 g/L para BRS Rúbea e 45,0 g/L para BRS Cora. Os resultados do rendimento do processo de vinificação (L de vinho/Kg de uva) apresentaram valores nas faixas de 31,08% e 48,61% para o vinho Bordô; 30,76% a 54,54% para o vinho Isabel; 35,00% a 63,25% para o vinho BRS Violeta; 32,39% a 54,16% para o vinho BRS Carmem; 36,45% a 43,47% para o vinho BRS Rúbea e 30,97% a 50,43% para o vinho BRS Cora. Em todos os casos, os vinhos submetidos a pré-secagem apresentaram o menor rendimento e os vinhos elaborados pela técnica alternativa de chapéu submerso apresentaram os maiores rendimentos dentre os tratamentos avaliados, sendo esses resultados de acordo com os resultados previamente descritos por De Castilhos et al. (2013).

4.2. Vinhos Bordô e BRS Carmem

4.2.1. Parâmetros enológicos clássicos

Os parâmetros enológicos clássicos referentes aos vinhos Bordô e BRS Carmem estão expostos na Tabela 6. De acordo com os resultados obtidos foi possível observar a influência dos diferentes tratamentos de vinificação em todas as determinações enológicas, sendo a amostra elaborada pelo processo de pré-secagem (BPD) a que apresentou valores superiores para todas as determinações químicas, exceto para o teor alcoólico. Resultado similar foi observado para o vinho BRS Carmem para todos os parâmetros enológicos, exceto para o teor alcoólico, que não apresentou diferenças significativas quando os tratamentos alternativos de vinificação foram comparados, e para pH e acidez volátil que apresentaram diferenças significativas dos vinhos submetidos à pré-secagem, sendo esses os que apresentaram valor inferior quando comparados aos vinhos submetidos aos tratamentos tradicional e chapéu submerso.

A elevada acidez e o elevado conteúdo de açúcares redutores dos vinhos submetidos à pré-secagem foi um resultado esperado devido à evaporação da água no processo de secagem das uvas e consequente concentração dos ácidos orgânicos não voláteis e dos açúcares não fermentescíveis, respectivamente, corroborando os resultados encontrados por De Castilhos et al. (2013). Em todos os casos, os vinhos foram classificados como secos, pois o teor de açúcar redutor foi inferior a 5 g/L (BRASIL, 2004).

Adicionalmente, os vinhos submetidos à pré-secagem, independentemente da uva avaliada, apresentaram extrato seco superior a 30 g/L, sendo considerados encorpados (JACKSON, 2008) e com elevado teor de fenólicos totais, sugerindo que o calor empregado no processo de secagem não afetou de forma significativa esses compostos. Os vinhos submetidos ao tratamento de chapéu submerso não apresentaram diferenças significativas quando comparados aos vinhos elaborados pelo processo tradicional e esse resultado sugeriu discreto potencial dessa técnica de vinificação alternativa.

Tabela 6. Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos.

Vinhos ²	Parâmetro enológico ¹						
	Acidez total (g.L ⁻¹)	Acidez volátil (g.L ⁻¹)	pH	Teor alcoólico (%v/v)	Extrato seco (g.L ⁻¹)	Açúcares reduzores (g.L ⁻¹)	Conteúdo total de compostos fenólicos (mg.L ⁻¹)
BT	7,29±1,13 ab	0,59±0,03 b	3,37±0,01 b	11,73±0,28 a	29,25±0,60 b	3,44±0,46 a	1446,4±27,5 c
BPD	8,03±0,23 a	0,73±0,03 a	3,40±0,01 a	10,80±0,20 b	39,41±2,32 a	3,73±0,54 a	1618,8±22,8 a
BSC	6,65±0,16 b	0,59±0,03 b	3,41±0,01 a	10,90±0,91 ab	29,87±1,59 b	2,54±0,21 b	1509,8±45,3 b
CART	7,00±0,25 b	0,57±0,03 a	3,37±0,01 a	12,81±0,19 a	29,08±0,48 b	3,28±0,22 ab	1515,9±43,5 a
CARPD	8,17±0,79 a	0,37±0,08 b	3,33±0,02 b	12,41±0,60 a	34,26±3,11 a	3,61±0,44 a	1483,2±56,0 a
CARSC	6,00±0,09 c	0,49±0,06 a	3,40±0,00 a	11,75±1,15 a	27,24±0,41 b	2,90±0,22 b	1325,7±60,3 b

¹ Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Análise de Variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Tukey (P<0,05). ² BT: Bordô tradicional, BPD: Bordô pré-secagem, BSC: Bordô chapéu submerso, CART: Carmem tradicional, CARPD: Carmem pré-secagem, CARSC: Carmem chapéu submerso.

4.2.2. Perfil de antocianinas e piranoantocianinas

Os dados referentes aos perfis de antocianinas e piranoantocianinas foram obtidos baseados em dados advindos da técnica de espectrometria de massa MS/MS e da absorção na região do UV-visível previamente descritos por alguns autores (BLANCO-VEGA et al., 2011; LAGO-VANZELA et al., 2011; NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010). As formas 3,5-diglicosídeo de antocianinas comumente encontradas em vinhos tintos (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina) foram identificadas e quantificadas pelos espectros na região do UV-visível sendo as diferentes formas de malvidina a principal antocianidina encontrada nas amostras avaliadas (Tabela 7, Figura 11).

Acerca da ocorrência de antocianinas 3-glicosídeo, a peonidina 3-glicosídeo foi detectada e quantificada somente nos vinhos Bordô, enquanto que a malvidina 3-glicosídeo foi identificada e quantificada somente nos vinhos elaborados com a uva BRS Carmem. Esse resultado pode ser explicado pela formação de piranoantocianinas que, por sua vez, podem ser formadas somente por antocianinas monoglicosiladas (3-glicosídeo) (BLANCO-VEGA et al., 2011).

Foi possível detectar 27 diferentes piranoantocianinas através dos dados de espectro de absorção e espectrometria de massas MS/MS, sendo a maioria delas do tipo hidroxifenil-piranoantocianinas resultante da reação entre as antocianinas e os ácidos hidroxicinâmicos. Esses compostos foram, principalmente, caracterizados por se apresentarem como 10-(3"-hidroxifenil) (10-HP), ou seja, produtos da reação com ácido *p*-cumárico e 10-(3",4"-dihidroxifenil) (10-DHP), ou seja, produtos da reação com ácido cafeico, sendo essas piranoantocianinas derivadas das cinco antocianinas 3-glicosídeo e algumas delas derivadas de antocianinas acetiladas ou cumaroiladas (BLANCO-VEGA et al., 2011).

Tabela 7. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos de mesa elaborados com as uvas Bordô e BRS Carmem.

Antocianinas e piranoantocianinas	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
<i>Antocianinas (mg.L⁻¹)</i>				415,5±2,86 b	273,5±0,41 c	564,6±4,18 a	301,2±51,4 ab	199,6±1,29 b	469,6±66,8 a
Dp-3,5diglc	1	4.5	627;465,303	19,06±0,20 b	13,50±0,54 c	34,71±0,35 a	6,47±3,01 a	3,73±0,04 a	13,25±7,86 a
Cy-3,5diglc	2	6.5	611;449,287	9,84±0,15 b	9,97±0,30 b	12,15±0,55 a	6,37±0,07 a	2,95±0,03 c	5,12±0,39 b
Pt-3,5diglc	3	9.5	641;479,317	34,59±0,28 b	23,57±0,72 c	51,24±2,84 a	19,34±4,32 a	9,56±0,07 a	27,88±6,79 a
Pn-3,5diglc	4	12.1	625;463,301	33,22±0,45 ab	25,65±0,02 b	41,03±3,45 a	25,60±0,55 a	13,27±0,06 b	23,64±2,29 a
Mv-3,5diglc	5	14.0	655;493,331	173,83±1,66 b	117,42±0,28 c	213,36±7,25 a	113,90±15,60 ab	80,88±0,22 b	159,68±12,86 a
Pn-3glc	6	16.1	463;301	0,32±0,02 a	0,19±0,06 a	0,27±0,09 a	ND	ND	ND
Pt-3acglc-5glc	7	18.2	683;521,479,317	2,47±0,18 b	1,49±0,53 b	4,46±0,45 a	3,26±0,89 a	1,98±0,03 a	5,06±0,91 a
Mv-3glc	8	19.2	493;331	0,25±0,04 a	0,41±0,10 a	0,19±0,03 a	ND	ND	ND
Pn-3acglc-5glc	10	20.4	667;505,463,301	3,52±0,05 a	2,80±0,84 a	2,75±0,65 a	4,16±0,19 a	2,55±0,98 a	3,28±0,74 a
Mv-3acglc-5glc	13	21.7	697;535,493,331	5,20±0,12 a	2,66±0,76 b	5,52±0,34 a	8,91±0,86 b	6,84±0,03 b	13,57±1,45 a
<i>cis</i> -Pt-3cmglc-5glc	14	22.9	787;625,479,317	1,64±0,04 a	1,49±0,19 a	2,04±0,98 a	ND	ND	ND
Dp-3cmglc-5glc	16	23.6	773;611,465,303	12,43±0,07 b	8,87±0,16 b	31,82±5,17 a	5,14±3,26 a	4,19±0,10 a	14,72±10,80 a
<i>cis</i> -Pn-3cmglc-5glc	17	25.3	771;609,463,301	1,16±0,15 a	0,78±0,03 a	0,97±0,06 a	ND	ND	ND
Cy-3cmglc-5glc	18	25.8	757;595,449,287	4,60±0,04 b	3,68±0,06 c	6,83±0,06 a	5,31±0,57 a	2,85±0,00 b	5,28±0,30 a
<i>cis</i> -Mv-3cmglc-5glc	19	26.3	801;639,493,331	3,11±0,17 a	1,31±0,02 c	2,40±0,05 b	1,66±0,79 a	2,08±0,01 a	7,42±7,25 a
Mv-3cfglc-5glc	21	27.2	817;655,493,331	ND	ND	ND	NQ	NQ	NQ
<i>trans</i> -Pt-3cmglc-5glc	22	27.4	787;625,479,317	20,59±0,08 b	14,73±0,04 b	36,70±2,52 a	15,28±5,59 a	11,67±0,32 a	31,95±9,85 a
<i>trans</i> -Pn-3cmglc-5glc	26	29.6	771;609,463,301	9,79±0,19 b	4,96±0,08 c	14,55±0,69 a	12,01±1,41 a	5,61±0,00 b	15,66±1,10 a
<i>trans</i> -Mv-3cmglc-5glc	27	30.5	801;639,493,331	79,85±0,37 b	40,05±0,08 c	105,63±6,13 a	72,40±15,90 b	50,03±0,08 b	140,81±4,49 a
Mv-3cmglc	34	35.9	639;331	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ

Tabela 7. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos de mesa elaborados com as uvas Bordô e BRS Carmem (continuação).

Antocianinas e piranoantocianinas	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
<i>Piranoantocianinas (mg.L⁻¹)</i>				61,78±0,05 b	70,88±0,04 a	62,22±0,36 b	78,49±1,49 a	73,85±0,79 b	80,94±0,73 a
10H-pyrpt-3glc	9	19.8	503;341	ND	ND	ND	4,59±0,25 a	4,38±0,03 a	4,80±0,07 a
10HP-pyrcy-3cflgc	11	20.9	727;565,403	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10-carboxi-pyrmv-3glc (vitisina A)	12	21.3	561;399	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10-carboxi-pyrmv-3acglc (ac-vitisina A)	15	23.0	603;399	ND	ND	ND	4,52±0,01 a	4,64±0,01 a	5,91±1,45 a
10-methyl pyrdp-3glc	20	26.8	503;341	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10-carboxi-pymv-3cmglc (cm-vitisina A)	23	27.7	707;399	4,31±0,00 a	4,31±0,01 a	4,24±0,15 a	4,08±0,03 b	4,19±0,06 ab	4,37±0,03 a
10-methyl-pyrmv-3glc	24	28.3	531;369	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10HP-pyrdp-3glc	25	28.9	581;419	2,04±0,08 b	8,77±0,08 a	2,21±0,08 b	4,20±0,08 b	7,13±0,03 a	4,13±0,09 b
10DHP-pyrdp-3cmglc	28	31.2	743;435	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
10DHP-pyrpt-3glc	29	31.7	611;449	2,55±0,03 b	2,29±0,09 b	3,32±0,08 a	4,38±0,11 ab	4,13±0,00 b	4,55±0,04 a
10HP-pyrcy-3glc	30	32.8	565;403	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10DHP-pyrpt-3acglc	31	34.1	653;449	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrpt-3glc	32	34.6	595;433	4,55±0,01 b	4,14±0,02 c	4,37±0,00 a	4,27±0,09 a	4,11±0,00 a	4,32±0,02 a
10HP-pyrdp-3cmglc	33	34.8	727;419	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
10DHP-pyrmv-3glc	35	36.7	625;463	5,45±0,00 ab	3,07±0,94 b	7,46±0,37 a	5,79±0,05 b	5,14±0,08 b	7,01±0,25 a
10DHP-pyrpt-3cmglc	36	37.5	757;449	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND

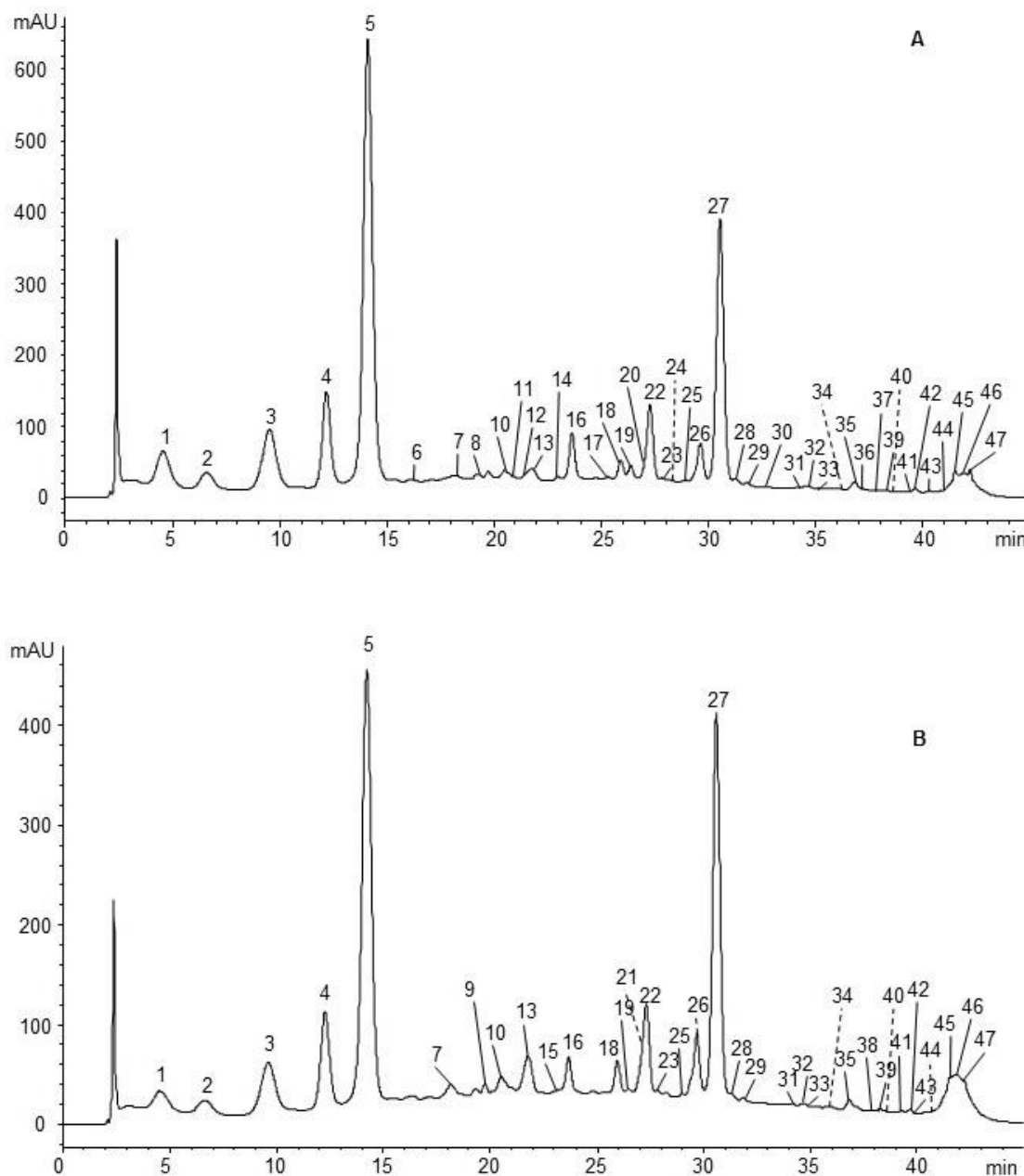
Tabela 7. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos de mesa elaborados com as uvas Bordô e BRS Carmem (continuação).

Antocianinas e piranoantocianinas	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
10DPH-pyrpn-3glc	37	37.7	595;433	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10HP-pyrpt-3acglc	38	38.0	637;433	ND	ND	ND	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrpn-3glc	39	38.2	579;417	4,06±0,00 a	4,21±0,02 a	4,17±0,07 a	4,02±0,04 b	4,13±0,00 b	4,40±0,09 a
10HP-pyrcy-3cmglc	40	38.6	711;403	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
10DHP-pyrmv-3acglc	41	39.5	667;463	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrmv-3glc	42	39.6	609;447	4,47±0,00 b	4,12±0,04 c	4,66±0,03 a	4,42±0,03	NQ	4,30±0,03
10HP-pyrpt-3cmglc	43	40.3	741;433	4,21±0,00 b	4,01±0,01 c	4,28±0,00 a	4,30±0,08	NQ	4,52±0,04
10HP-pyrpn-3acglc	44	41.1	621;417	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
10DHP-pyrmv-3cmglc	45	41.5	771;463	8,93±0,03 a	9,52±0,69 a	9,76±0,18 a	7,49±0,18 a	8,60±0,67 a	9,20±0,69 a
10HP-pyrpn-3cmglc and 10HP-pyrmv-3acglc (coeluição)	46	41.9	725/651;417/447	10,21±0,07 b	13,26±0,02 a	7,73±0,33 c	14,53±0,54 a	13,97±1,11 a	11,05±1,33 a
10HP-pyrmv-3cmglc	47	42.2	755;447	11,14±0,03 b	13,13±0,29 a	9,80±0,17 c	11,85±1,04 a	13,39±0,31 a	12,34±0,44 a

Abreviaturas: Dp, delfinidina; Cy, cianidina; Pt, petunidina; Pn, peonidina; Mv, malvidina; 3,5-diglc, 3,5-diglucosídeo; 3-acglc-5-glc, 3-(6"-acetil)-glucosídeo-5-glucosídeo; 3-cmglc-5-glc, 3-(6"-*p*-coumaroil)-glucosídeo-5-glucosídeo; 3-glc, 3-glucosídeo; 3-acglc, 3-(6"-acetil)-glucosídeo; 3-cmglc, 3-(6"-*p*-coumaroil)-glucosídeo; 10-HP, 10-(3"-hidroxifenil); 10-DHP, 10-(3",4"-dihidroxifenil); pyrdp: piranodelfinidina; pyrcy: piranocianidina; pyrpt: piranopetunidina; pyrpn: piranopeonidina; pyrmv: piranomalvidina; BT, Bordô tradicional; BPD, Bordô pré-secagem; BSC, Bordô chapéu submerso; CART, BRS Carmem tradicional; CARPD, BRS Carmem pré-secagem; CARSC, BRS Carmem chapéu submerso; ND, não detectável; NQ, não quantificável. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc Tukey, $\alpha = 0,05$).

Figura 11. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 520 nm para antocianinas) dos vinhos tintos Bordô (A) e BRS Carmem (B).

Para descrição dos picos, ver Tabela 8. Picos nº 9, 15, 21 e 38 não foram detectados para os vinhos Bordô. Picos nº 6, 8, 11, 12, 14, 17, 20, 24, 30, 36 e 37 não foram detectados para os vinhos BRS Carmem.



As formas da vitisina A (10-carboxi-piranomalvidina) foram detectadas tanto nos vinhos Bordô como nos vinhos BRS Carmem, sendo a forma 3-glicosídeo detectada somente no vinho Bordô (10-carboxy-pyrmv-3glc), a forma acetilada detectada e quantificada somente nos vinhos BRS Carmem (10-carboxy-pyrmv-3acglc) e a forma *p*-cumaroilada detectada e quantificada em

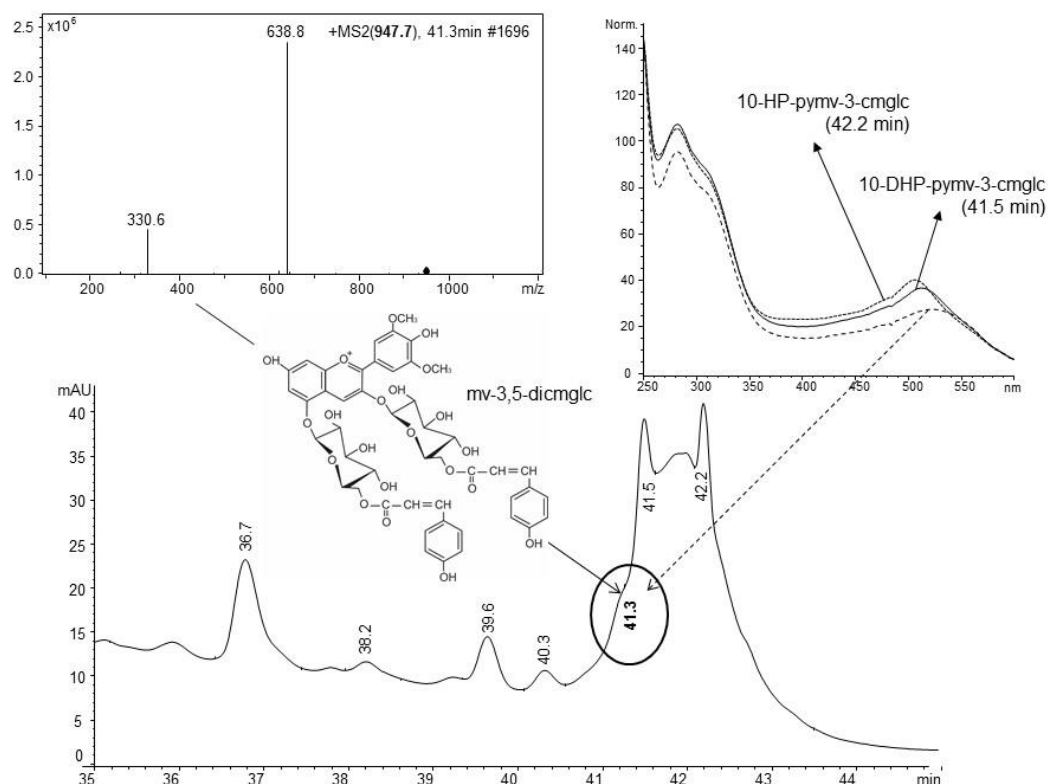
ambos os vinhos (10-carboxy-pyrmv-3cmglc). A formação desses pigmentos do tipo vitisina A é resultante da reação entre antocianinas e ácido pirúvico, sendo esse último um metabólito das leveduras que são responsáveis pela fermentação alcoólica do mosto (BLANCO-VEGA et al., 2011).

As formas 3-(6"-*p*-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo (3-cmglc-5-glc) das cinco antocianidinas foram detectadas. Assumiu-se, por estudos prévios, que a glicose ligou-se à posição C-5 e o radical 6"-*p*-cumaroil-glicose ligou-se à posição C-3 (MAZZUCA et al., 2005). Foi possível detectar as formas delphinidina e cianidina 3-(6"-*p*-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo (dp-3cmglc-5glc e cy-3cmglc-5glc), assim como as formas *cis* (tempos de retenção de 22,9 min, 25,3 min e 26,3 min) e *trans* (tempos de retenção de 27,4 min, 29,6 min e 30,5 min) da petunidina, peonidina e malvidina em ambos os vinhos tintos, respectivamente, sendo a forma malvidina a que apresentou maiores concentrações. O espectro MS/MS mostrou a detecção da malvidina-3-(6"-cafeoil)-glicosídeo-5-glicosídeo (mv-3cfglc-5glc) com íon molecular *m/z* de 817 e íons produtos com *m/z* 655,493,331 nos vinhos BRS Carmem, sendo tal antocianina previamente descrita como existente em uvas americanas (BARCIA et al., 2014).

As formas 3-(6"-acetil)-glicosídeo-5-glicosídeo (3-acglc-5-glc) da petunidina e peonidina foram quantificadas tanto nos vinhos Bordô quanto nos vinhos BRS Carmem que, por sua vez, também apresentou certa concentração de *trans* malvidina 3-(6"-acetil)-glicosídeo-5-glicosídeo aos 21,7 minutos e a forma *cis* dessa malvidina, detectada a 18,7 minutos, foi somente quantificada nas amostras de vinhos BRS Carmem.

Adicionalmente à detecção de cerca de 47 antocianinas e piranoantocianinas, foi possível detectar uma nova antocianina com tempo de retenção de 41,3 minutos com íon molecular *m/z* 947 e íons produtos com *m/z* 639 e 331, sugerindo que esse composto pode ser malvidina 3-(6"-cumaroil)-glicosídeo-5-(6"-cumaroil)-glicosídeo (mv 3,5-dicmglc) (Figura 12). No entanto, outras análises detalhadas devem ser realizadas com o objetivo de confirmar a detecção desse novo composto, já que a área desse composto no cromatograma coeluiu com outros compostos devido ao gradiente empregado na análise cromatográfica. O sinal de fragmentação no espectrômetro de massas sugere que os dois radicais cumaroil-glicose estão ligados nas posições C-3 e C-5 da malvidina.

Figura 12. Fragmentação do íon molecular m/z 947 sugerindo a existência da mv 3,5-dicmglc em ambos os vinhos Bordô e BRS Carmem.



Apesar de os perfis serem semelhantes em ambos os vinhos, o número total de antocianinas e piranoantocianinas variou de forma significativa quando os tratamentos foram comparados, sendo que a maioria deles apresentou menor concentração nos vinhos submetidos ao processo de pré-secagem. Tanto nos vinhos Bordô quanto nos vinhos BRS Carmem, o procedimento de pré-secagem diminuiu o conteúdo de antocianinas, principalmente devido à degradação desses compostos pela ação da temperatura por oxidação, pela clivagem das ligações covalentes ou pela hidrólise das antocianinas 3-glicosídeo.

Em quase todas as antocianinas e piranoantocianinas quantificadas, quando houve diferenças significativas ($P < 0,05$), os vinhos elaborados por chapéu submerso apresentaram elevada concentração desses compostos quando comparado ao tratamento tradicional de ambos os vinhos avaliados. Esse resultado sugere certo desacordo com os resultados reportados por Bosso et al. (2011) que observaram um decréscimo na extração dos compostos fenólicos durante a maceração usando a técnica do chapéu submerso foi aplicada em comparação com a técnica de maceração tradicional. No entanto,

os mesmos autores reportaram que, após leve prensagem do bagaço, os vinhos elaborados por chapéu submerso resultaram em altas concentrações de antocianinas, sugerindo que esses compostos ficam aderidos ao bagaço e são liberados facilmente por leve prensagem do bagaço após a descuba.

4.2.3. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)

As formas 3-glicosídeo das cinco agliconas, quercetina, miricetina, laricitrina, siringetina e isoramnetina, foram detectadas e quantificadas em ambos os vinhos Bordô e BRS Carmem (Tabela 8, Figura 13). Miricetina e quercetina 3-glucorônido (M-3glcU e Q-3glcU), miricetina 3-galactosídeo (M-3gal) e as formas livres da miricetina e quercetina foram detectadas em ambos os vinhos Bordô e BRS Carmem. As formas glicosilada e livre da miricetina (M-3glc e M) apresentaram maior concentração em ambos os vinhos tintos. Esse resultado também foi encontrado em outro estudo que avaliou o perfil fenólico do vinho BRS Violeta (LAGO-VANZELA et al., 2013) e das uvas Bordô (LAGO-VANZELA et al., 2011). Em ambos os vinhos, M-3glc foi o flavonol mais importante, seguido da forma livre de M, L-3glc e S-3glc, sendo essas formas não encontradas em altas concentrações nos estudos previamente mencionados.

De uma forma geral, não foi possível observar diferenças significativas nas concentrações dos flavonóis quando os tratamentos de vinificação foram comparados para os vinhos Bordô; no entanto, para os vinhos BRS Carmem, as diferenças foram significativas ($P < 0,05$) para a forma livre de M e Q, e os vinhos elaborados por chapéu submerso apresentaram as maiores concentrações para esses flavonóis. Em relação aos ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD), altas concentrações de ácido cafeico e ácido *p*-cumárico foram observadas para ambos os vinhos (Tabela 8, Figura 14) e essas concentrações são consideradas elevadas quando comparadas aos vinhos elaborados pelas uvas viníferas. Um fato importante a ser discutido é a elevada concentração de hidroxifenil-piranoantocianinas nos vinhos Bordô e BRS Carmem, sendo esse fato uma possível explicação para as altas concentrações desses ácidos (RENTZSCH; SCHWARZ; WINTERHALTER, 2007).

Tabela 8. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e derivados determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem.

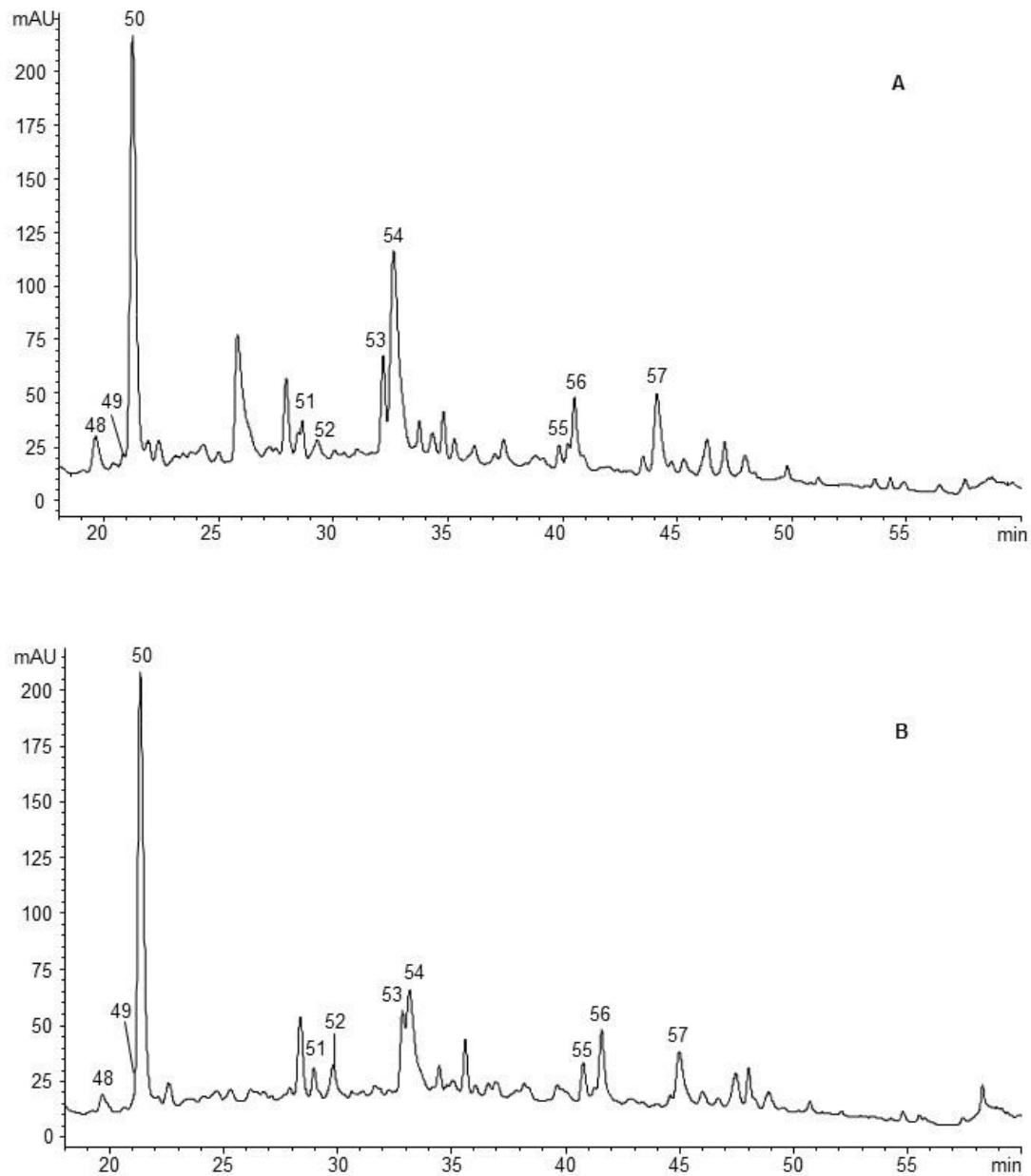
<i>Flavonóis e HCAD</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
<i>Flavonóis (mg.L⁻¹)</i>				53,50±42,40 a	71,80±74,40 a	144,52±1,75 a	68,56±13,41 a	50,10±28,20 a	83,94±2,10 a
M-3-glcU	48	20.0	493;317	2,47±1,43 a	4,67±3,48 a	3,75±0,49 a	1,89±0,12 a	1,55±0,75 a	2,09±0,16 a
M-3-gal	49	20.4	479;317	0,50±0,04 a	0,54±0,38 a	0,55±0,00 a	0,53±0,16 a	0,34±0,08 a	0,33±0,03 a
M-3-glc	50	21.5	479;317	20,30±20,80 a	12,10±16,20 a	62,76±1,37 a	34,84±2,80 a	16,16±11,72 a	29,70±0,05 a
Q-3-glcU	51	28.6	477;301	3,18±2,64 a	9,47±9,79 a	4,90±0,94 a	3,99±2,11 a	12,22±7,88 a	4,57±3,25 a
Q-3-glc	52	29.9	463;301	1,45±0,87 a	0,73±0,11 a	1,98±1,97 a	1,50±0,60 a	5,72±3,65 a	1,79±0,05 a
L-3-glc	53	33.0	493;331	4,80±2,17 a	5,01±4,31 a	8,37±0,55 a	5,41±0,24 a	4,24±1,95 a	5,29±0,15 a
M livre	54	33.2	317	13,40±16,40 a	25,20±28,00 a	39,67±2,50 a	10,88±1,85 b	1,99±2,33 c	21,19±0,48 a
I-3-glc	55	40.1	477;315	1,34±0,15 a	2,62±2,81 a	3,91±0,70 a	2,76±0,33 a	2,42±1,72 a	3,27±0,09 a
S-3-glc	56	41.6	507;345	4,52±1,98 a	4,13±1,63 a	0,85±0,08 a	3,53±3,79 a	2,33±1,81 a	5,37±1,47 a
Q livre	57	45.0	301	1,52±0,10 a	7,33±7,99 a	17,75±0,75 a	3,21±2,64 b	3,12±0,07 b	10,34±0,05 a
<i>Ácidos hidroxicinâmicos (HCAD) (mg.L⁻¹)</i>				232,31±34,46 a	252,55±36,29 a	256,23±42,00 a	197,80±11,46 ab	136,40±22,00 b	227,57±13,70 a
Ácido caftárico	58	4.1	311;179,149,135	8,99±10,78 a	0,35±0,09 a	7,83±3,18 a	4,86±1,62 a	3,13±3,13 a	7,17±0,35 a
Ácido trans-cutárico	59	6.1	295;163,149,119	1,18±0,00 a	2,70±3,10 a	0,65±0,67 a	0,79±0,19 ab	4,17±1,42 a	0,13±0,01 b
Ácido cis-cutárico	60	6.5	295;163,149,119	0,83±0,00 a	1,21±0,91 a	2,03±0,40 a	NQ	NQ	NQ
Ácido cafeico	61	7.8	179;135	84,80±16,60 a	93,81±3,02 a	117,83±1,01 a	60,12±2,83 a	42,90±22,30 a	77,87±2,92 a
<i>p</i> -coumaroil-glicose-1	62	9.0	325;163,145	25,19±5,98 a	27,52±11,83 a	17,41±2,46 a	25,63±1,43 ab	29,61±1,04 a	17,42±3,53 b
<i>p</i> -coumaroil-glicose-2	63	11.6	325;163,145	11,23±0,70 a	26,39±12,39 a	9,04±0,28 a	10,86±0,42 b	16,27±0,70 a	9,33±1,26 b

Tabela 8. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e derivados determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem (continuação).

<i>Flavonóis e HCAD</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
Ácido <i>p</i> -cumárico	64	14.4	163;119	85,42±9,45 a	84,48±1,13 a	82,99±2,42 a	85,59±8,54 a	36,61±4,09 b	102,68±8,07 a
Cafeato de etila	65	46.1	207;179,135	3,53±1,32 ab	1,02±1,10 b	6,39±0,34 a	3,78±1,29 a	1,72±2,16 a	6,05±1,17 a
Cumarato de etila	66	55.8	191;163,119	12,10±5,10 a	15,07±0,17 a	12,06±0,00 a	6,15±0,94 a	2,00±0,22 b	6,91±0,57 a

Abreviaturas: M, miricetina; Q, quercetina; L, laricitrina; K, caempferol; S, siringetina; I, isoramnetina; glcU, glucorônido; gal, galactosídeo; glc, glucosídeo; BT, Bordô tradicional; BPD, Bordô pré-secagem; BSC, Bordô chapéu submerso; CART, BRS Carmem tradicional; CARPD, BRS Carmem pré-secagem; CARSC, BRS Carmem chapéu submerso; NQ, não quantificável. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

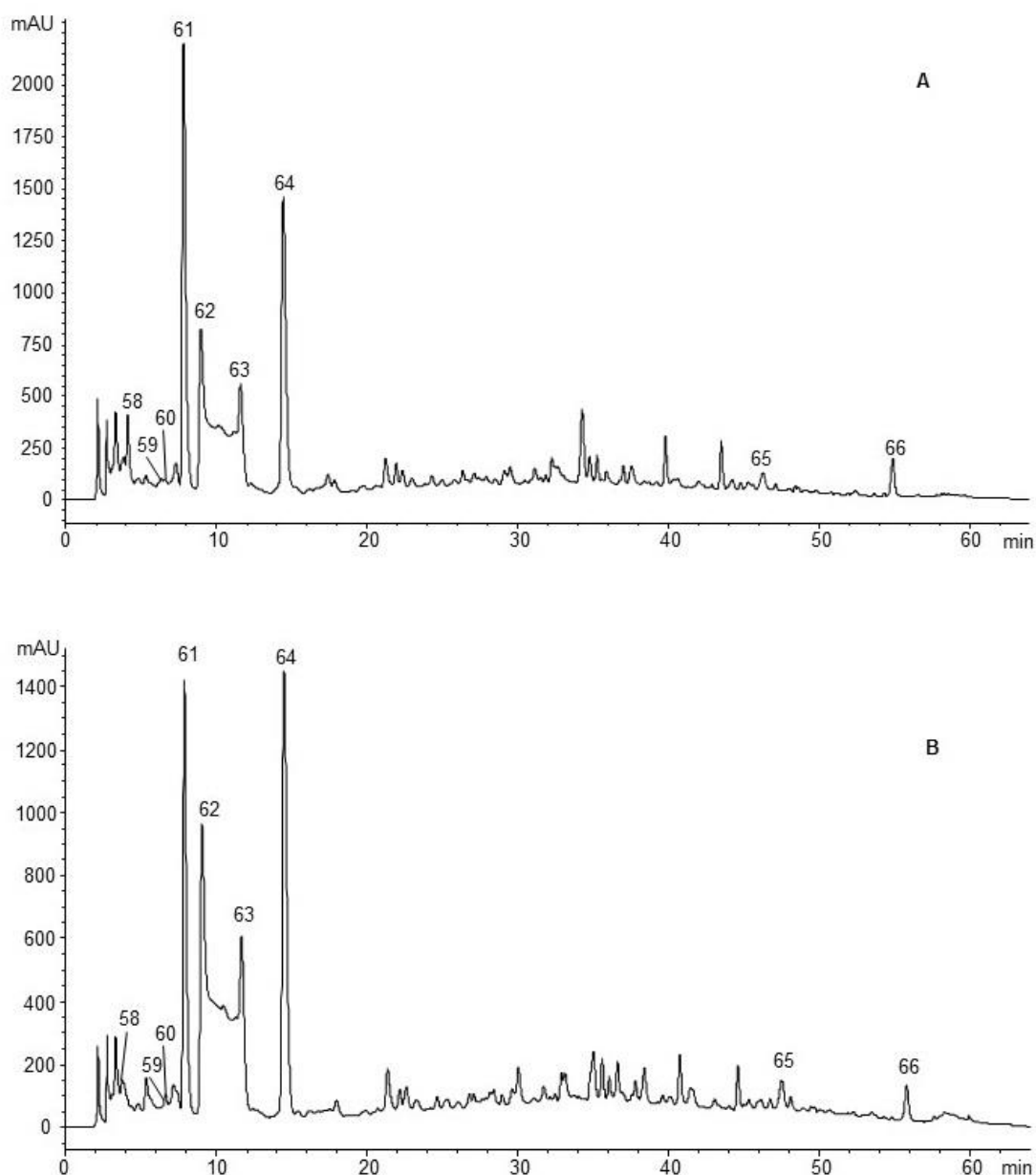
Figura 13. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 360 nm para flavonóis) dos vinhos tintos Bordô (A) e BRS Carmem (B).



Uma relevante informação pode ser retirada desses dados: tanto os vinhos Bordô quanto os vinhos BRS Carmem elaborados pelo processo de pré-secagem apresentaram concentrações inferiores de etil ésteres; no entanto, quase todos os ácidos hidroxicinâmicos, nos vinhos elaborados pelo processo de secagem, apresentaram concentrações superiores quando comparados aos vinhos elaborados pelos tratamentos tradicional e chapéu submerso. Esse resultado pode ser comparado com os resultados obtidos por Barcia et al (2014)

que pesquisaram os resíduos de vinificação de uvas BRS Violeta e BRS Lorena obtidos por processo de secagem a 50 °C, sendo que tal processo pareceu não afetar a concentração dos ácidos hidroxicinâmicos e de seus derivados.

Figura 14. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos) dos vinhos tintos Bordô (A) e BRS Carmem (B).



Não foi observada diferença significativa na comparação da concentração de flavonóis e HCAD quando os vinhos Bordô foram comparados em relação aos diferentes tratamentos, exceto para o cafeato de etila, sugerindo que os processos de secagem e de chapéu submerso não afetaram a concentração

dessa classe de compostos fenólicos; mas, para a uva BRS Carmem, os vinhos submetidos à pré-secagem apresentaram menores concentrações de ácido *p*-cumárico e etil *p*-cumarato, indicando que esse tratamento possivelmente possibilitou reações de oxidação química e degradação térmica (PATRAS et al., 2010). Os vinhos BRS Carmem submetidos ao chapéu submerso apresentaram o comportamento semelhante aos vinhos elaborados pelo tratamento tradicional.

4.2.4. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos

Catequina (C), epicatequina (EC), galato de epicatequina (ECG), proantocianidina B1 (PB1), proantocianidina B2 (PB2) e proantocianidina B4 (PB4) foram detectados em ambos os vinhos avaliados, independentemente da uva empregada para a vinificação, exceto ECG que não foi detectada para os vinhos Bordô (Tabela 9).

Apesar da ausência de diferenças significativas na comparação entre os tratamentos, os vinhos submetidos aos tratamentos alternativos apresentaram concentração superior de flavan-3-óis e proantocianidinas do tipo B quando comparados aos vinhos elaborados pelo processo tradicional, sendo tais diferenças mais expressivas nos vinhos Bordô. Para os vinhos BRS Carmem, essa tendência também foi observada, porém de uma forma mais discreta.

Figueiredo-González; Cancho-Grande; Simal-Gándara (2013) mencionaram que as uvas perdem a sua integridade fisiológica durante a desidratação, favorecendo a difusão dos compostos fenólicos da película para a polpa da uva, incluindo flavan-3-óis, que são transferidos para o vinho durante a fermentação alcoólica. Esses mesmos autores também reportaram que essa difusão e consequente otimização da extração desses compostos fenólicos pode promover reações entre antocianinas 3-glicosídeo e flavan-3-óis, resultando em pigmentos poliméricos com um paralelo decréscimo da concentração de flavan-3-óis, devido a participação dos mesmos nessa reação de copigmentação.

Tabela 9. Perfil de flavan-3-ol e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e atividade antioxidante determinada por radical DPPH (média \pm desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem.

<i>Flavan-3-óis e estilbenos</i>	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
<i>Monômeros e dímeros de flavan-3-óis (mg.L⁻¹)</i>	17,02 \pm 21,70 a	76,37 \pm 95,00 a	135,85 \pm 55,40 a	65,76 \pm 4,52 a	46,15 \pm 50,40 a	101,58 \pm 44,30 a
C	6,01 \pm 7,50 a	22,30 \pm 25,20 a	31,33 \pm 13,02 a	28,95 \pm 2,86 a	24,40 \pm 24,60 a	40,60 \pm 14,50 a
EC	2,31 \pm 2,62 a	9,48 \pm 9,95 a	16,11 \pm 7,35 a	5,70 \pm 0,15 a	5,18 \pm 5,51 a	9,72 \pm 3,91 a
ECG	ND	ND	ND	0,13 \pm 0,18 a	0,60 \pm 0,65 a	0,09 \pm 0,13 a
PB1	4,14 \pm 5,53 a	20,90 \pm 28,10 a	42,80 \pm 16,80 a	19,22 \pm 1,98 a	9,30 \pm 11,09 a	32,50 \pm 16,70 a
PB2	4,08 \pm 5,41 a	22,20 \pm 29,70 a	42,90 \pm 16,60 a	10,15 \pm 0,36 a	5,68 \pm 7,06 a	16,02 \pm 8,27 a
PB4	0,48 \pm 0,64 a	1,48 \pm 2,04 a	2,71 \pm 1,58 a	1,59 \pm 0,00 a	1,03 \pm 1,46 a	2,63 \pm 1,07 a
<i>Caracterização estrutural das proantocianidinas</i>						
mDP	1,33 \pm 0,08 a	1,40 \pm 0,23 a	1,66 \pm 0,03 a	2,67 \pm 0,59 b	1,66 \pm 0,54 b	6,43 \pm 0,94 a
% galoilação	1,31 \pm 0,20 a	1,96 \pm 0,53 a	1,35 \pm 0,24 a	10,07 \pm 4,73 a	18,13 \pm 5,59 a	18,63 \pm 4,55 a
% prodelfinidinas	1,45 \pm 0,85 a	2,15 \pm 1,08 a	3,94 \pm 0,13 a	4,76 \pm 2,12 a	1,43 \pm 1,32 a	0,60 \pm 0,00 a
<i>Estilbenos (mg.L⁻¹)</i>	0,61 \pm 0,61 a	0,87 \pm 0,70 a	1,07 \pm 0,17 a	0,33 \pm 0,01 a	0,57 \pm 0,30 a	0,48 \pm 0,32 a
<i>cis-resveratrol</i>	0,28 \pm 0,31 a	0,24 \pm 0,25 a	0,52 \pm 0,02 a	0,20 \pm 0,06 a	0,03 \pm 0,05 a	0,42 \pm 0,34 a
<i>cis-piceido</i>	0,26 \pm 0,23 a	0,60 \pm 0,42 a	0,52 \pm 0,12 a	0,09 \pm 0,07 a	0,35 \pm 0,16 a	0,03 \pm 0,01 a
<i>trans-piceido</i>	0,06 \pm 0,05 a	0,02 \pm 0,03 a	0,01 \pm 0,02 a	0,03 \pm 0,00 a	0,18 \pm 0,08 a	0,01 \pm 0,01 a
<i>Capacidade antioxidante (mmol.L⁻¹ de Trolox)</i>	7,74 \pm 0,55 a	10,99 \pm 1,99 a	7,94 \pm 0,07 a	7,06 \pm 0,24 a	6,68 \pm 1,27 a	5,27 \pm 0,76 a

Abreviaturas: C, catequina; EC, epicatequina; ECG, galato de epicatequina; PB1, proantocianidina B1; PB2, proantocianidina B2; PB4, proantocianidina B4; mDP, grau médio de polimerização; BT, Bordô tradicional; BPD, Bordô pré-secagem; BSC, Bordô chapéu submerso; CART, BRS Carmem tradicional; CARPD, BRS Carmem pré-secagem; CARSC, BRS Carmem chapéu submerso; ND, não detectável. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Esse fato pode explicar, de certa forma, os resultados obtidos para os vinhos elaborados pela uva BRS Carmem, já que a diferença entre a concentração de flavan-3-óis do vinho pré-secagem comparado aos vinhos tradicional e de chapéu submerso foi inferior à diferença obtida para o vinho Bordô quando os tratamentos foram comparados, sugerindo que os vinhos BRS Carmem apresentaram, no início da vinificação, concentrações superiores de antocianinas 3-glicosídeo.

Em relação aos estilbenos, as formas cis-resveratrol, trans-piceido e cis-piceido foram detectados em ambos os vinhos. Apesar da ausência de diferenças significativas entre as concentrações de estilbenos quando os vinhos foram comparados em relação aos diferentes tratamentos de vinificação, os resultados mostraram que o uso do calor promoveu a degradação desses compostos e esse resultado foi corroborado por resultados reportados por Barcia et al. (2014). Resultado oposto foi observado para a concentração de cis-piceido, isto é, vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem apresentaram maior concentração para esse composto.

Estilbenos e outros compostos fenólicos tem sido foco de diversos estudos acerca da correlação com a atividade antioxidante e seus benefícios no tratamento de doenças crônicas (BAHT; KOSMEDER; PEZZUTO, 2001; LÓPEZ-VÉLEZ et al., 2003). Nesse contexto, é possível afirmar que vinhos com elevado teor de estilbenos nem sempre apresentam a maior capacidade antioxidante, isto é, tem-se sugerido que as propriedades antioxidantes dos vinhos estão intensamente relacionadas a determinados tipos de compostos fenólicos que ocorrem nos vinhos, assim como a sua concentração global (RIVERO-PÉREZ; MUÑIZ; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, 2007). Além disso, a formação de produtos da reação de Maillard, como as melanoidinas, apresentam atividade antioxidante (BORRELLI et al., 2002; DELGADO-ANDRADE; MORALES, 2005; TAGLIAZUCCHI; VERZELLONI; CONTE, 2008). Portanto, os diferentes tipos de compostos fenólicos em ambos os vinhos avaliados, considerando os processos alternativos de vinificação, assim como a formação de melanoidinas, principalmente no que se refere ao processo de pré-secagem, devem ser responsáveis pela ausência de diferenças significativas na capacidade antioxidante dos vinhos avaliados.

Esse resultado, aparentemente contraditório, pode ser explicado pelo balanço de reações químicas que produzem compostos com elevada capacidade antioxidante e, ao mesmo tempo, causam perdas na capacidade antioxidante promovida pelos compostos fenólicos degradados ao longo do processo de vinificação, isto é, enquanto o uso do calor na secagem promove a degradação de compostos fenólicos, ocorre, adicionalmente, a formação de compostos que apresentam atividade antioxidante como as melanoidinas (MAKRIS; KALLITHRAKA; KEFALAS, 2006).

4.2.5. Análise sensorial

4.2.5.1. Análise sensorial descritiva

A comparação dos diferentes tratamentos de vinificação promoveu relevantes diferenças em relação ao descritor intensidade de cor tanto para os vinhos Bordô quanto para os vinhos BRS Carmem, e as diferenças para os descritores acidez e matiz violeta foram observadas somente para os vinhos BRS Carmem (Tabela 10). Os vinhos submetidos à pré-secagem apresentaram elevada intensidade de cor quando comparados aos vinhos elaborados por chapéu submerso (BDP vs. BSC) e não apresentou diferenças significativas em comparação ao tratamento tradicional (BPD vs. BT e CARPD vs. CART).

Os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem ainda apresentaram elevada acidez em relação aos vinhos produzidos pelo processo tradicional, sendo que essa diferença foi observada somente para os vinhos BRS Carmem. Além disso, o vinho Bordô elaborado pelo processo de pré-secagem apresentou escore de nota de foxado significativamente inferior aos escores desse atributo para os vinhos elaborados pelos processos tradicional e chapéu submerso. Para os demais descritores sensoriais, não houve diferenças significativas ($P > 0,05$).

Tabela 10. Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos Bordô e BRS Carmem.

Atributos sensoriais	Vinhos					
	BT	BPD	BSC	CART	CARPD	CARSC
<i>Aparência</i>						
Intensidade de cor	7,35±0,90 ab	7,93±0,86 a	6,86±1,11 b	7,70±0,80 a	7,46±0,97 ab	6,98 ±0,79 b
Matiz violeta	7,11±0,77 a	7,38±0,88 a	7,03±1,04 a	7,16±1,01 a	6,25±1,18 b	7,08±0,64 a
<i>Aroma</i>						
Intensidade de frutado	5,28±1,93 a	4,91±1,57 a	5,61±1,67 a	5,38±1,57 a	4,95±1,52 a	5,21±1,45 a
Nota de foxado	6,45±0,99 a	5,28±1,30 b	6,15±1,39 a	4,38±2,13 a	3,80±2,23 a	3,98±2,08 a
Intensidade de vegetal	1,51±1,14 a	1,75±0,91 a	1,65±1,04 a	1,95±1,55 a	1,66±1,30 a	2,01±1,58 a
Nota de geleia	3,58±2,23 a	4,36±2,06 a	3,50±2,46 a	4,76±2,03 a	4,90±1,82 a	4,30±1,96 a
<i>Sabor</i>						
Doçura	3,23±1,44 a	2,86±1,48 a	3,28±1,44 a	3,21±1,20 a	2,80±1,26 a	2,98±1,08 a
Acidez	4,16±1,30 a	4,50±1,53 a	4,28±1,25 a	4,45±1,35 b	5,38±1,68 a	4,63±1,36 ab
Amargor	1,00±1,00 a	1,45±1,30 a	1,25±1,44 a	1,55±1,48 a	2,08±2,03 a	1,41±1,19 a
Corpo	5,39±1,14 a	5,26±1,17 a	5,46±0,96 a	5,31±0,97 a	5,30±1,37 a	5,06±1,10 a
Estrutura	4,73±1,78 a	5,00±1,50 a	4,75±1,32 a	4,98±1,33 a	4,93±1,58 a	4,60±1,41 a
Sabor herbáceo	1,71±1,03 a	2,05±1,15 a	1,86±1,10 a	2,03±1,19 a	2,55±1,67 a	2,11±1,43 a
Adstringência	1,38±1,02 a	1,70±1,18 a	1,61±1,43 a	2,13±1,40 a	2,30±1,63 a	1,73±1,25 a
Pungência	5,40±1,29 a	5,18±1,08 a	5,23±0,98 a	5,45±1,08 a	5,23±1,29 a	5,30±1,14 a
Persistência	5,86±1,40 a	5,53±1,06 a	5,71±1,01 a	5,61±1,00 a	5,43±1,29 a	5,41±1,41 a

Abreviaturas: BT, Bordô tradicional; BPD, Bordô pré-secagem; BSC, Bordô chapéu submerso; CART, BRS Carmem tradicional; CARPD, BRS Carmem pré-secagem; CARSC, BRS Carmem chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

4.2.5.2. Análise sensorial de aceitação

A análise sensorial de aceitação dos vinhos Bordô e BRS Carmem foi realizada com 96 consumidores (61 mulheres – 63,54%) com idade média de 24,1 anos e desvio padrão de 6,03 anos (idade mínima de 18,0 anos e idade máxima de 56,0 anos). Do total de consumidores, 18 (18,8%) alegaram consumir muito pouco vinho, 22 (22,9%) consomem pouca quantidade, 27 (28,1%) consomem ocasionalmente, 19 (19,8%) consomem moderadamente e 10 (10,4%) consomem muita quantidade de vinho por mês.

De acordo com a Tabela 11, não houve diferenças significativas na aceitação dos cinco atributos avaliados tanto para os vinhos Bordô e BRS Carmem quando os diferentes tratamentos de vinificação foram comparados. De acordo com os resultados, somente a aceitação do atributo aroma para o vinho Bordô apresentou escores discretamente superiores em relação ao vinho BRS Carmem, porém, tal diferença não foi significativa. A intenção de compra, para ambos os vinhos, não apresentou diferenças significativas ($P > 0,05$), independentemente do processo de vinificação empregado.

Infelizmente, a abordagem univariada não promoveu informações relevantes sobre o perfil sensorial descritivo dos vinhos Bordô e BRS Carmem que foram submetidos aos diferentes processos de vinificação. Baseado nisso, foi realizada uma abordagem quimiométrica com a aplicação da ferramenta estatística multivariada de Análise de Componentes Principais (ACP) com o objetivo de obter relações interessantes entre os atributos sensoriais descritivos, de aceitação e os compostos químicos.

A falta de diferenças significativas na abordagem univariada não exclui a aplicação da PCA como forma exploratória dos dados, ou seja, a aplicação da PCA possibilita observar a resposta de cada variável avaliada (sensorial e química) em relação aos três tratamentos de vinificação diferenciados que foram aplicados no estudo, sendo possível relacionar quais parâmetros químicos foram responsáveis por determinar possíveis descritores dos vinhos avaliados e, além disso, a aceitação sensorial dessas amostras, considerando os processos de vinificação tradicional e alternativos empregados.

Tabela 11. Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação.

Vinhos*	Atributos sensoriais de aceitação**					
	Aparência	Aroma	Corpo	Sabor	Aceitação global	Intenção de compra
BT	7,66±1,25 a	7,19±1,54 a	5,94±1,77 a	4,91±2,26 a	5,71±1,96 a	2,98±1,18 a
BPD	7,69±1,47 a	6,83±1,81 a	6,44±1,76 a	5,17±2,35 a	5,78±2,06 a	2,87±1,30 a
BSC	7,42±1,26 a	6,53±1,73 a	5,85±1,88 a	4,85±2,18 a	5,33±2,02 a	2,87±1,19 a
CART	7,44±1,42 a	6,30±1,75 a	5,91±1,98 a	4,91±2,28 a	5,33±1,94 a	2,84±1,09 a
CARPD	7,60±1,10 a	6,07±1,74 a	5,89±1,58 a	4,53±2,23 a	5,30±1,94 a	2,51±1,20 a
CARSC	7,12±1,50 a	5,96±2,00 a	5,44±2,23 a	4,62±2,33 a	5,25±2,11 a	2,55±1,19 a

*BT: Bordô tradicional, BPD: Bordô pré-secagem, BSC: Bordô chapéu submerso, CART: BRS Carmem tradicional, CARPD: BRS Carmem pré-secagem, CARSC: BRS Carmem chapéu submerso. **Letras diferentes na mesma coluna, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$). Atributos de aparência, aroma, corpo, sabor e aceitação global foram avaliados utilizando a escala de 1 a 9, intenção de compra foi avaliada utilizando a escala de 1 a 5.

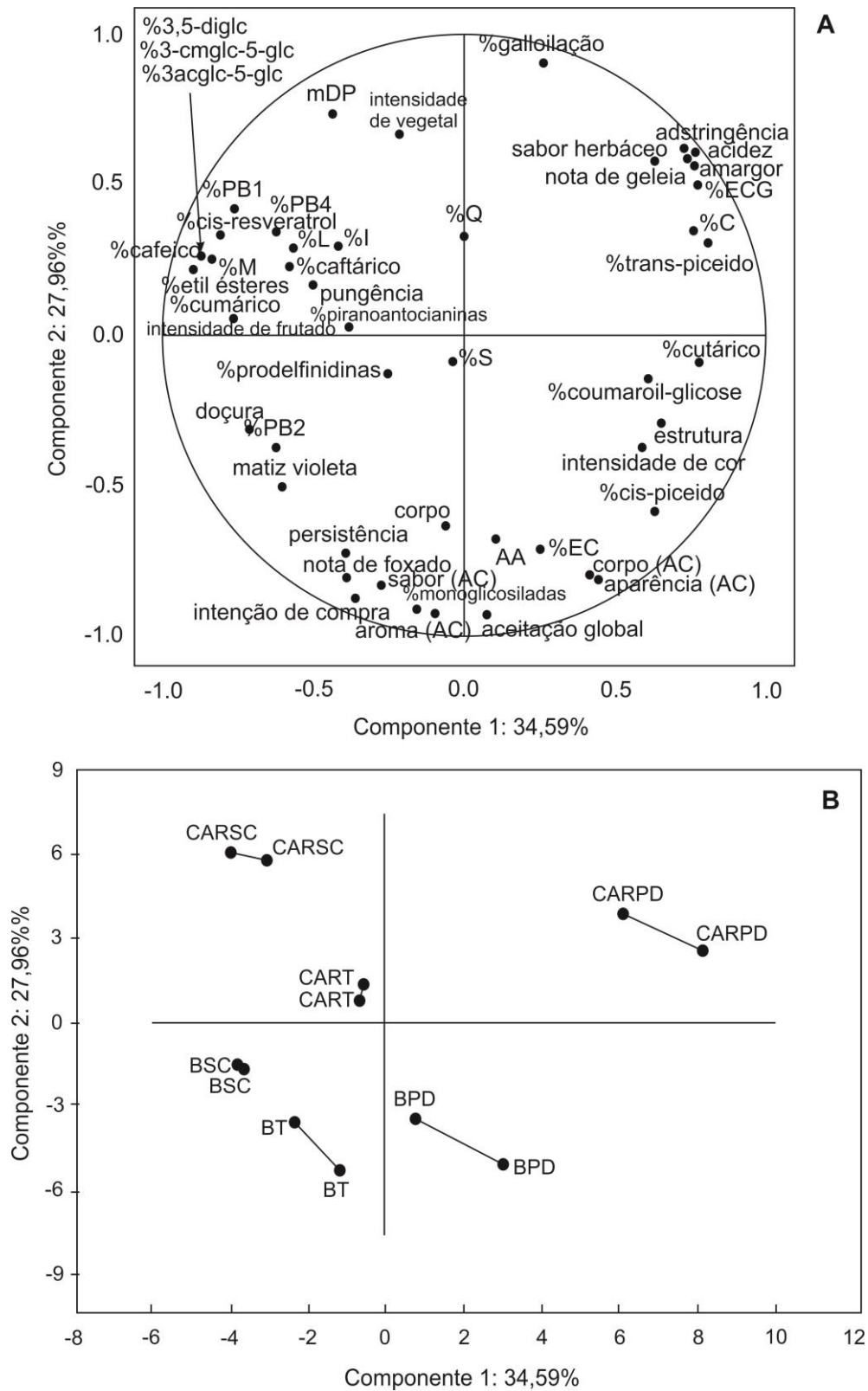
4.2.6. Análise quimiométrica

O objetivo da análise quimiométrica foi avaliar a relação entre os compostos químicos, o perfil sensorial descritivo e de aceitação utilizando ferramentas estatísticas multivariadas. De acordo com os resultados da Análise de Componentes Principais (Figura 15), 62,55% da variação total dos dados foi explicada pelas primeiras duas componentes, sendo a componente 1 (PC1) representada por 34,59% da variação total dos dados e a componente 2 (PC2) representada por 27,96% da variação total dos dados. A PC1 permitiu observar a diferenciação entre os processos de vinificação, independentemente da uva avaliada, ou seja, as amostras produzidas pelos tratamentos tradicional e de chapéu submerso foram diferenciadas das amostras elaboradas pelo processo de pré-secagem. A PC2 permitiu observar as diferenças entre as uvas, independentemente do processo de vinificação empregado, ou seja determinou características que diferenciaram os vinhos Bordô dos vinhos BRS Carmem.

Dois grupos de variáveis explicaram a componente 1. O primeiro grupo foi composto pelas seguintes variáveis: antocianinas diglicosiladas (3,5-diglc), acetiladas (3-acglc-5-glc) e cumaroiladas (3-cmglc-5-glc), ácidos cafeico e *p*-cumárico, etil ésteres, proantocianidina B1, cis-resveratrol, os descritores sensoriais matiz violeta, intensidade de frutado e doçura. Os vinhos representantes desse grupo foram as amostras elaboradas pelos processos tradicional (BT e CART) e de chapéu submerso (BSC e CARSC).

A formação de complexos de copigmentação entre as antocianinas pode explicar a intensa matiz violeta dos vinhos tradicionais e elaborados pelo processo de chapéu submerso, já que esses apresentaram elevadas concentrações de antocianinas, exceto as formas monoglicosiladas. A intensidade do aroma frutado está diretamente correlacionado à existência de um éster conhecido como antranilato de metila, responsável por proporcionar aroma e sabor frutado aos vinhos elaborados por uvas americanas e, tal descritor pode apresentar forte influência nos escores do descritor sensorial de doçura (DE CASTILHOS et al., 2013). Além disso, a intensidade de frutado pode estar vinculada a alguns compostos voláteis da classe dos álcoois lineares de 6 carbonos e acetatos (JORDÁN et al., 2003) que são responsáveis por determinar o aroma frutado dos vinhos.

Figura 15. Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos Bordô e BRS Carmem (B), em duas repetições, utilizando Análise de Componentes Principais.



O segundo grupo de variáveis dessa componente foi representado pelas seguintes determinações químicas: ácido cutárico, catequina (C), galato de epicatequina (ECG) e trans-piceido e pelos descritores sensoriais de nota de geleia (aroma), acidez, amargor, estrutura, sabor herbáceo e adstringência. Os vinhos representantes desse grupo foram os elaborados pelo processo de pré-secagem. Os resultados evidenciam a relação direta dos atributos acidez, amargor, estrutura, sabor herbáceo e adstringência com flavan-3-óis, taninos e ácidos hidroxicinâmicos que provocam uma sensação áspera ao paladar (VIDAL et al., 2003). Existe certa tendência em pressupor forte relação entre amargor e o conteúdo de flavan-3-óis monoméricos, ou seja, de baixo peso molecular, e da adstringência com os flavan-3-óis poliméricos como as proantocianidinas e os taninos (CHIRA et al., 2011). A nota de geleia pode estar vinculada a algum composto de caráter volátil que determina o odor de fruta de compota como a hexenona (ROBERTS; ACREE, 1996).

O sabor herbáceo configura um efeito sensorial indesejável nos vinhos elaborados pelas uvas americanas e seus híbridos e esse efeito pode ser explicado pela degradação térmica dos compostos fenólicos devido à temperatura empregada no processo de pré-secagem das uvas ser superior a 50 °C. De acordo com Patras et al. (2010), os mecanismos de degradação térmica dos compostos fenólicos são complexos e a indução de reações que promovem a formação desses compostos ainda é desconhecida, porém, é de conhecimento que influenciam de maneira negativa na qualidade final dos vinhos.

A componente 2 também foi explicada por dois grupos de variáveis, sendo o primeiro grupo composto de antocianinas monoglicosiladas, epicatequina (EC), cis-piceido, atividade antioxidante e os descritores nota de foxado, corpo e persistência. Além disso, esse grupo também apresentou todos os atributos de aceitação sensorial, assim como elevada intenção de compra. Os vinhos Bordô foram os representantes desse grupo de variáveis. De uma maneira geral, as variáveis presentes nesse grupo estão diretamente relacionadas às características intrínsecas da uva Bordô e de seu vinho produzido, independentemente do processo de vinificação empregado. Sendo assim, os vinhos Bordô foram caracterizados por apresentar elevada concentração de antocianinas monoglicosiladas e elevada concentração de outros compostos

fenólicos como a epicatequina e o cis-piceido (estilbeno). Pressupõe-se que esses compostos foram responsáveis por determinar a elevada capacidade antioxidante dos vinhos Bordô, já que essa propriedade química não é restrita a um composto químico ou a uma classe química, sendo determinada pela variedade de compostos fenólicos (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010).

A relação do aroma foxado com os vinhos Bordô era esperada, visto que a uva Bordô apresenta, em sua composição, elevada concentração de antranilato de metila, um composto volátil que está relacionado intimamente com esse descritor sensorial (TECCHIO; MIELE; RIZZON, 2007). Gonzalo-Diago; DIZY; Fernández-Zurbano (2014) reportaram que a sensação bucal de persistência pode estar relacionada ao fato de o vinho apresentar baixa adstringência e amargor. Esse fato pode ser uma possível explicação ao resultado obtido no presente estudo, já que os vinhos Bordô apresentaram escores baixos de intensidade de amargor e adstringência, sendo considerados persistentes ao paladar. A persistência, por sua vez, pode estar diretamente relacionada ao corpo do vinho, já que ambos descritores podem ser classificados como sensações bucais que são determinadas por compostos químicos como os flavan-3-óis, sendo o principal representante, para esses vinhos, a epicatequina (EC) (JACKSON, 2008).

De uma forma pontual, os resultados quimiométricos pressupõem que a aceitação da aparência e do corpo, assim como a atividade antioxidante foram superiores nos vinhos Bordô elaborados pelo processo de pré-secagem (BPD), ao passo que a aceitação do aroma, sabor, aceitação global, intenção de compra foram superiores nos vinhos elaborados pelo processo tradicional (BT), sendo determinada principalmente pelo aroma foxado e pela persistência dessas amostras. Além dessa abordagem pontual, é possível pressupor que a maior aceitação em todos os atributos avaliados foi um fator vinculado à uva propriamente dita, não sofrendo influências significativas dos processos alternativos de vinificação empregados no estudo.

O segundo grupo de variáveis que explicou a componente 2 foi determinado pelo grau médio de polimerização das proantocianidinas (mDP), pelo percentual de galoilação e pelo descritor intensidade de vegetal (aroma), sendo essas propriedades vinculadas aos vinhos BRS Carmem. Esse descritor sensorial pode ser considerado indesejável nos vinhos tintos elaborados por

uvas americanas e seus híbridos e, de acordo com os resultados, pressupõe-se a sua ligação com algum composto intrínseco da uva BRS Carmem. De uma forma geral, o aroma de vegetal pode estar vinculado principalmente ao benzil acetato (JORDÁN et al., 2003) ou à hexenona (ROBERTS; ACREE, 1996), sendo esse último também responsável pelo aroma de geleia.

De uma forma geral, o estudo quimiométrico mostrou que os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem foram descritos como ácidos, estruturados, amargos, adstringentes, com sabor herbáceo e com nota aromática de geleia. No caso dos vinhos tradicionais e elaborados pelo processo de chapéu submerso, os vinhos foram descritos como doces, com notas frutadas e com intensa coloração violeta. Algumas características foram consideradas pontuais às uvas, como a nota aromática de foxado e a nota aromática de vegetal para os vinhos Bordô e BRS Carmem, respectivamente, passíveis de serem consideradas características sensoriais intrínsecas dos vinhos elaborados por essas uvas. Adicionalmente, os componentes químicos piranoantocianinas, flavonóis, ácido caftárico, cumaroil-glicose, proantocianidinas B2 e B4 e os descritores intensidade de cor e pungência não apresentaram relevante significância no estudo quimiométrico, sendo parâmetros considerados neutros na análise da relação química e sensorial dos processos alternativos de vinificação.

4.3. Vinhos BRS Rúbea e BRS Cora

4.3.1. Parâmetros enológicos clássicos

Os parâmetros enológicos clássicos referentes aos vinhos BRS Rúbea e BRS Cora estão expostos na Tabela 12. De acordo com os resultados obtidos, os vinhos BRS Rúbea apresentaram diferenças significativas para o teor alcoólico e conteúdo de açúcares redutores, sendo que os vinhos elaborados pelos processos tradicional e chapéu submerso foram os que apresentaram maiores concentrações para esses atributos químicos. Adicionalmente, os vinhos BRS Rúbea apresentaram diferenças significativas para o extrato seco e para o teor de fenólicos totais, sendo o vinho elaborado pelo processo de pré-secagem o que apresentou maiores valores para esses parâmetros.

Tabela 12. Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos.

Vinhos	Parâmetro enológico						
	Acidez total (g.L ⁻¹)	Acidez volátil (g.L ⁻¹)	pH	Teor alcoólico (%v/v)	Extrato seco (g.L ⁻¹)	Açúcares redutores (g.L ⁻¹)	Conteúdo total de compostos fenólicos (mg.L ⁻¹)
RUBT	9,42±1,48 a	0,66±0,28 a	3,18±0,13 a	12,15±0,20 a	26,98±1,83 b	2,95±0,38 a	737,9±87,4 b
RUBPD	9,79±1,63 a	0,52±0,08 a	3,22±0,07 a	10,65±0,08 b	32,95±3,74 a	2,38±0,34 b	975,1±33,6 a
RUBSC	11,18±0,45 a	0,45±0,07 a	3,15±0,03 a	12,03±0,19 a	31,48±0,84 a	2,54±0,33 ab	706,1±18,4 b
CORAT	10,34±1,97 a	0,70±0,20 a	3,34±0,08 ab	11,15±0,24 a	28,14±2,03 b	1,62±0,12 b	380,1±46,5 a
CORAPD	10,60±0,14 a	0,72±0,06 a	3,42±0,06 a	9,70±0,08 c	31,09±0,67 a	1,86±0,22 a	369,1±15,8 a
CORASC	11,60±1,90 a	0,61±0,09 a	3,27±0,13 b	10,43±0,63 b	28,82±2,29 ab	1,64±0,08 ab	366,1±66,7 a

Abreviaturas: RUBT, BRS Rúbea tradicional; RUBPD, BRS Rúbea pré-secagem; RUBSC, BRS Rúbea chapéu submerso; CORAT, BRS Cora tradicional; CORAPD, BRS Cora pré-secagem; CORASC, BRS Cora chapéu submerso. Letras diferentes na mesma coluna, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

Os diferentes processos de vinificação influenciaram o pH, extrato seco e teor de açúcares redutores, sendo o vinho BRS Cora elaborado pelo processo de pré-secagem o que apresentou maiores valores para essas propriedades químicas. Adicionalmente, o vinho BRS Cora produzido pelo processo tradicional apresentou elevado teor alcoólico em relação aos outros tratamentos, sendo tal diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$). Em todos os casos, os vinhos foram classificados como secos, pois o teor de açúcar redutor foi inferior a 5 g/L (BRASIL, 2004).

Adicionalmente, os tratamentos de pré-secagem e de chapéu submerso influenciaram de forma positiva no extrato seco dos vinhos BRS Rúbea e BRS Cora, sendo que, em alguns casos, foram considerados encorpados, pois apresentaram extrato seco superior a 30 g/L (JACKSON, 2008), principalmente os vinhos submetidos à pré-secagem. Todos os vinhos avaliados apresentaram acidez e pH dentro dos limites desejáveis, ou seja, pH entre 3,2 e 3,4 para vinhos tintos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006) e o tratamento de pré-secagem para os vinhos BRS Rúbea resultou em efeito positivo na concentração do conteúdo total de compostos fenólicos.

4.3.2. Perfil de antocianinas e piranoantocianinas

As formas 3,5-diglicosídeo das antocianinas encontradas em vinhos tintos (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina) foram identificadas e quantificadas pelos espectros na região do UV-visível e pelo padrão de fragmentação dos íons moleculares determinada pela aplicação da técnica de espectrometria de massas (MS/MS), sendo tais espectros previamente publicados (LAGO-VANZELA et al., 2011; NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; BLANCO-VEGA et al., 2011) sendo a delfinidina, e suas diferentes formas, a principal antocianidina encontrada nas amostras avaliadas (Tabela 13, Figura 16). Esse resultado foi esperado, visto que as uvas americanas e seus híbridos apresentam em sua composição elevada concentração de antocianinas 3,5-diglicosídeo, em oposição às antocianinas 3-glicosídeo comumente encontradas em uvas viníferas (LAGO-VANZELA et al., 2011; NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010).

Tabela 13. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Rúbea e BRS Cora.

<i>Antocianidinas e piranoantocianinas</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produtos (m/z)	RUBT	RUBPD	RUBSC	CORAT	CORAPD	CORASC
<i>Antocianinas (mg.L⁻¹)</i>				550,89±5,54 a	105,56±1,80 c	269,00±5,78 b	274,54±1,66 a	56,74±3,25 b	287,74±4,35 a
Dp-3,5diglc	1	4.5	627;465,303	235,22±4,93 a	36,46±0,15 c	115,15±2,18 b	144,86±0,84 b	27,49±2,90 c	153,35±1,37 a
Cy-3,5diglc	2	6.5	611;449,287	51,46±0,92 a	23,37±1,32 c	35,86±0,93 b	14,43±0,27 a	7,41±0,39 b	17,00±1,34 a
Pt-3,5diglc	3	9.5	641;479,317	24,65±0,42 a	5,57±0,04 c	13,00±1,00 b	3,85±0,06 a	1,45±0,05 b	4,58±0,78 a
Pn-3,5diglc	4	12.1	625;463,301	7,86±0,90 a	2,44±0,02 b	3,17±0,24 b	1,45±0,49 a	0,87±0,00 a	1,53±0,11 a
Mv-3,5diglc	5	14.0	655;493,331	37,78±1,39 a	6,97±0,32 c	17,68±0,30 b	11,06±0,11 b	2,75±0,01 c	11,52±0,04 a
Dp-3acglc-5glc	6	14.1	669;507,303	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Cy-3acglc-5glc	7	16.3	653;491,287	7,04±0,30 a	2,79±0,00 b	3,40±0,04 b	ND	ND	ND
<i>cis</i> -Dp-3cmglc-5glc	8	19.2	773;611,465,303	8,23±0,16 a	3,59±0,01 c	6,23±0,01 b	8,43±0,03 a	1,82±0,00 c	4,66±0,02 b
<i>trans</i> -Dp-3cmglc-5glc	11	23.6	773;611,465,303	138,23±0,41 a	11,09±0,04 c	53,98±0,76 b	76,93±0,49 b	10,29±0,00 c	79,81±0,58 a
Cy-3cmglc-5glc	12	25.8	757;595,449,287	30,08±0,48 a	8,09±0,04 c	13,07±0,16 b	7,81±0,23 b	3,12±0,00 c	8,49±0,04 a
Pt-3cmglc-5glc	14	27.2	787;625,479,317	7,36±1,51 a	2,89±0,01 b	5,29±0,13 ab	4,48±0,15 a	1,51±0,00 b	4,75±0,01 a
Pn-3cmglc-5glc	17	29.6	771;609,463,301	1,38±0,00 a	1,20±0,00 b	1,04±0,03 c	1,14±0,01	ND	0,88±0,01
Mv-3cmglc-5glc	18	30.5	801;639,493,331	1,36±0,01 a	1,05±0,02 b	1,08±0,00 b	NQ	ND	0,95±0,00
Dp-3acglc	9	20.3	507;303	0,21±0,01	NQ	NQ	0,08±0,00	NQ	0,18±0,00
Dp-3cmglc	15	27.7	611;303	ND	ND	ND	NQ	ND	NQ
<i>Piranoantocianinas (mg.L⁻¹)</i>				50,32±0,12 a	43,11±0,76 b	41,40±1,44 b	26,82±0,01 a	12,10±0,02 c	25,53±0,14 b
10carboxi-pyrpy-3cmglc	10	21.9	663;355	4,84±0,62 a	2,54±0,08 b	4,47±0,01 a	4,01±0,02 a	2,00±0,00 c	3,12±0,00 b
10DHP-pyrpy-3glc	13	26.7	597;435	NQ	NQ	ND	2,56±0,06 a	2,53±0,00 a	2,50±0,01 a
10DHP-pyrpy-3glc	16	28.9	581;419	3,25±0,00 a	2,12±0,00 c	2,69±0,02 b	2,07±0,06	NQ	2,26±0,00
10DHP-pyrpy-3cmglc	19	31.2	743;435	2,43±0,00	NQ	ND	1,93±0,00	ND	2,03±0,00
10HP-pyrpy-3acglc	20	31.3	623;419	4,21±0,01	ND	NQ	4,28±0,01	ND	4,12±0,00

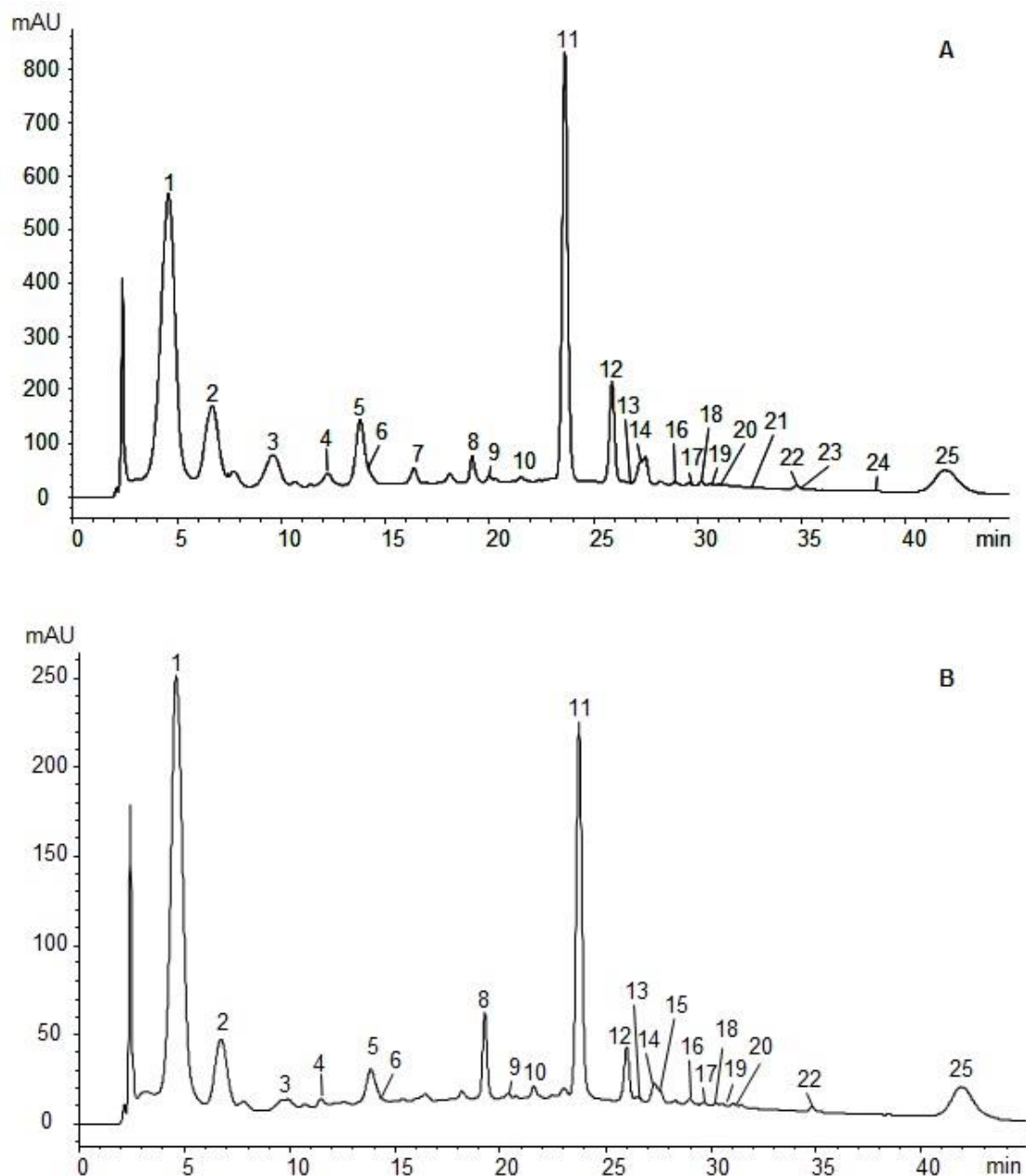
Tabela 13. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Rúbea e BRS Cora (continuação).

<i>Antocianidinas e piranoantocianinas</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produtos (m/z)	RUBT	RUBPD	RUBSC	CORAT	CORAPD	CORASC
10HP-pyrcy-3glc	21	32.8	565;403	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10HP-pyrdp-3cmglc	22	35.1	727;419	5,14±0,01 a	4,17±0,01 c	4,46±0,07 b	4,22±0,00	ND	4,15±0,00
10HP-pyrcy-3acglc	23	35.5	607;403	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10HP-pyrcy-3cmglc	24	38.6	711;403	NQ	NQ	NQ	ND	ND	ND
10HP-pyrpn-3cmglc and 10HP-pyrmv-3cmglc (coeluição)	25	41.9	725;417/755;447	30,43±0,46 b	34,27±0,69 a	29,77±1,32 b	7,73±0,15 a	7,55±0,02 a	7,32±0,14 a

Abreviaturas: Dp, delfinidina; Cy, cianidina; Pt, petunidina; Pn, peonidina; Mv, malvidina; 3,5-diglc, 3,5-diglucosídeo; 3-acglc-5-glc, 3-(6"-acetil)-glucosídeo-5-glucosídeo; 3-cmglc-5-glc, 3-(6"-p-cumaroil)-glucosídeo-5-glucosídeo; 3-glc, 3-glucosídeo; 3-acglc, 3-(6"-acetil)-glucosídeo; 3-cmglc, 3-(6"-p-cumaroil)-glucosídeo; 10-HP, 10-(3"-hidroxifenil); 10-DHP, 10-(3",4"-dihidroxifenil); pyrdp: piranodelfinidina; pyrcy: piranocianidina; pyrpt: piranopetunidina; pyrpn: piranopeonidina; pyrmv: piranomalvidina; RUBT, BRS Rúbea tradicional; RUBPD, BRS Rúbea pré-secagem; RUBSC, BRS Rúbea chapéu submerso; CORAT, BRS Cora tradicional; CORAPD, BRS Cora pré-secagem; CORASC, BRS Cora chapéu submerso; ND, não detectável; NQ, não quantificável. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc Tukey, $\alpha=0,05$).

Figura 16. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 520 nm para antocianinas) dos vinhos tintos BRS Rúbea (A) e BRS Cora (B).

Para descrição dos picos, ver Tabela 14. Pico nº 15 não foi detectado para o vinho BRS Rúbea. Picos nº 7, 21, 23 e 24 não foram detectados para os vinhos BRS Cora.



A ausência do íon produto m/z 271 indicou a ausência de formas de antocianina do tipo pelargonidina (WANG; RACE; SHRIKHANDE, 2003). As formas 3-(6"-*p*-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo (3-cmglc-5-glc) das cinco antocianidinas foram detectadas. Essas formas resultaram em diferentes sinais de fragmentação no espectro MS^2 , correspondente a diferentes combinações de perdas independentes dos radicais glicose e 6"-cumaroil-glicose - $[M-glc]^+$, $[M-$

cmglc]⁺ e [M-glc-cmglc]⁺. Devido a esse fato, assumiu-se que o radical glicose estava ligado à posição C-5 e o radical 6''-cumaroil-glicose ligado à posição C-3, como previamente reportado por Mazzuca et al. (2005). Foi possível detectar as formas cis (19,2 min) e trans (23,6 min) de delphinidina 3-(6''-*p*-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo (dp-3cmglc-5glc) tanto nos vinhos BRS Rúbea como nos vinhos BRS Cora, sendo a forma trans a que apresentou maior concentração, corroborando os resultados encontrados por Nixdorf; Hermosín-Gutiérrez (2010). Esse estudo mencionado reportou, pela primeira vez, a detecção do isômero cis da delphinidina 3-(6''-*p*-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo, mostrando que ambas as formas, cis e trans, apresentaram o mesmo espectro de fragmentação no MS², apresentando leve diferença nos espectros de absorção nos comprimentos de onda 310 a 314 nm na região do UV-visível. O mesmo estudo informou que a forma cis eluiu antes do seu correspondente isômero trans.

Não foi possível observar a detecção de antocianinas 3-glicosídeo em ambos os vinhos avaliados e as únicas formas aciladas encontradas foram referentes à delphinidina acetilada (dp-3acglc) e cumaroilada (dp-3cmglc) e quando detectadas foram consideradas compostos minoritários, visto que não foi possível de serem quantificadas em alguns casos. Esse resultado pode ser explicado devido à formação de piranoantocianinas que, por sua vez, podem ser formadas somente pelas antocianinas 3-glicosídeo. As antocianinas presentes nas uvas, quando transferidas para o vinho durante a maceração, podem reagir com metabólitos das leveduras como o ácido pirúvico e o acetaldeído, promovendo a formação de novos pigmentos como as vitisinas do tipo A e B, respectivamente. Adicionalmente, as antocianinas podem reagir com os ácidos hidroxicinâmicos ou com os produtos da descarboxilação desses compostos mediados pela ação das leveduras durante a fermentação alcoólica, permitindo a formação de hidroxifenil-piranoantocianinas (BLANCO-VEGA et al., 2011).

Esses pigmentos mencionados, comumente encontrados em vinhos tintos, são formados por reações entre os compostos mencionados acima e as antocianinas via hidroxila substituinte na posição C-5, formando um anel pirano nessa posição, caracterizando, por exemplo, a formação de uma hidroxifenil-piranoantocianina. Já que as principais antocianinas encontradas nos vinhos elaborados por uvas americanas são diglicosiladas (3,5-diglicosídeos), as reações de formação dos pigmentos do tipo vitisina A, B e hidroxifenil-

piranoantocianinas são bloqueadas pelo fato de a posição C-5 já estar ocupada por um radical glicose. Desse modo, esse fato pode explicar a discreta concentração de piranoantocianinas encontrada nos vinhos elaborados por uvas *Vitis labrusca L.* e seus híbridos, como previamente reportado por Lago-Vanzela et al. (2013) e Nixdorf; Hermosín-Gutiérrez (2010).

Apesar disso, 11 diferentes piranoantocianinas foram encontradas, sendo elas derivadas da delphinidina, cianidina, peonidina e malvidina, sendo detectadas pelos seus respectivos espectros de fragmentação iônica (MS2) e espectros de absorção na região do UV-visível, sendo a maioria desses compostos derivados da delphinidina e cianidina nas formas glicosiladas, acetil-glicosiladas e cumaroil-glicosiladas (BLANCO-VEGA et al., 2011).

Apesar do similar perfil de antocianinas em ambos os vinhos avaliados, o número total de antocianinas e piranoantocianinas variou de acordo com os processos de vinificação empregados, sendo algumas não detectadas nos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem. Tanto nos vinhos BRS Rúbea como nos vinhos BRS Cora, o processo de pré-secagem promoveu a diminuição no conteúdo de antocianinas e piranoantocianinas, provavelmente devido à degradação térmica provocada pelo uso do calor. Tem-se sugerido que reações de escurecimento não enzimático (reação de Maillard) ocorreu de forma relevante em relação ao escurecimento enzimático, já que o processo de secagem das uvas se deu a 60°C, temperatura superior à temperatura de 50 °C que, por sua vez, promove a desnaturação da polifenoloxidase (PPO), principal enzima responsável pela oxidação enzimática (PATRAS et al., 2010).

A oxidação das antocianinas ainda pode ter ocorrido por meio de oxidação química, clivagem de ligações covalentes ou por reações de deglicosilação de antocianinas 3-glicosídeo, resultando na formação de diferentes compostos como floroglucinaldeído e ácido 4-hidroxibenzoico através da cianidina 3-glicosídeo (PATRAS et al., 2010). Além disso, o produto obtido após a secagem depende de fatores como o tamanho da baga da uva, o conteúdo de sólidos solúveis inicial, o grau de maturidade da uva e a espessura da película, sendo esses fatores primordiais para o sucesso da secagem da uva e para promover a concentração dos sólidos solúveis.

O processo de secagem pode aumentar a intensidade de cor dos vinhos submetidos a esse processo através da extração ou produção de compostos de

coloração marrom resultantes por reações de oxidação enzimática ou não enzimática (MARQUEZ et al., 2013). Já que a secagem promove um dano irreversível à película da uva permitindo a difusão dos compostos coloridos para a polpa, o calor pode causar o decréscimo na concentração de antocianinas e, por outro lado, aumentar a concentração de compostos de coloração marrom, determinando um balanço de ganhos e perdas de compostos coloridos (MARQUEZ et al., 2012; PATRAS et al., 2010).

Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso apresentaram diferenças significativas quando comparados aos vinhos produzidos pelo tratamento tradicional no que se refere à concentração de algumas antocianinas, principalmente nos vinhos elaborados pela uva BRS Rúbea e, na maioria dos casos, esses vinhos assumiram concentrações intermediárias, isto é, entre as concentrações encontradas para os vinhos do tratamento tradicional (maiores concentrações) e aquelas encontradas para o tratamento de pré-secagem (menores concentrações). Esse resultado corrobora os resultados encontrados para vinhos tintos elaborados pela uva Barbera, já que a extração dos compostos fenólicos durante a maceração, usando a técnica de chapéu submerso, foi inferior à observada para os vinhos elaborados pelo tratamento tradicional, sugerindo que a técnica de chapéu submerso não aumenta a concentração dos compostos fenólicos no vinho devido ao efeito limitado do mosto que não é bombeado pela remontagem durante a fermentação alcoólica (BOSSO et al., 2011).

4.3.3. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)

As formas 3-glicosídeo das seis agliconas, quercetina, miricetina, laricitrina, siringetina, isoramnetina e caempferol, foram detectadas e quantificadas em ambos os vinhos BRS Rúbea e BRS Cora (Tabela 14, Figura 17). Além disso, as formas 3-glucorônido (3-glcU) de miricetina e quercetina; 3-galactosídeo (3-gal) de miricetina, quercetina e caempferol; e as formas livres de miricetina, quercetina e laricitrina foram detectadas.

Tabela 14. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Rúbea e BRS Cora.

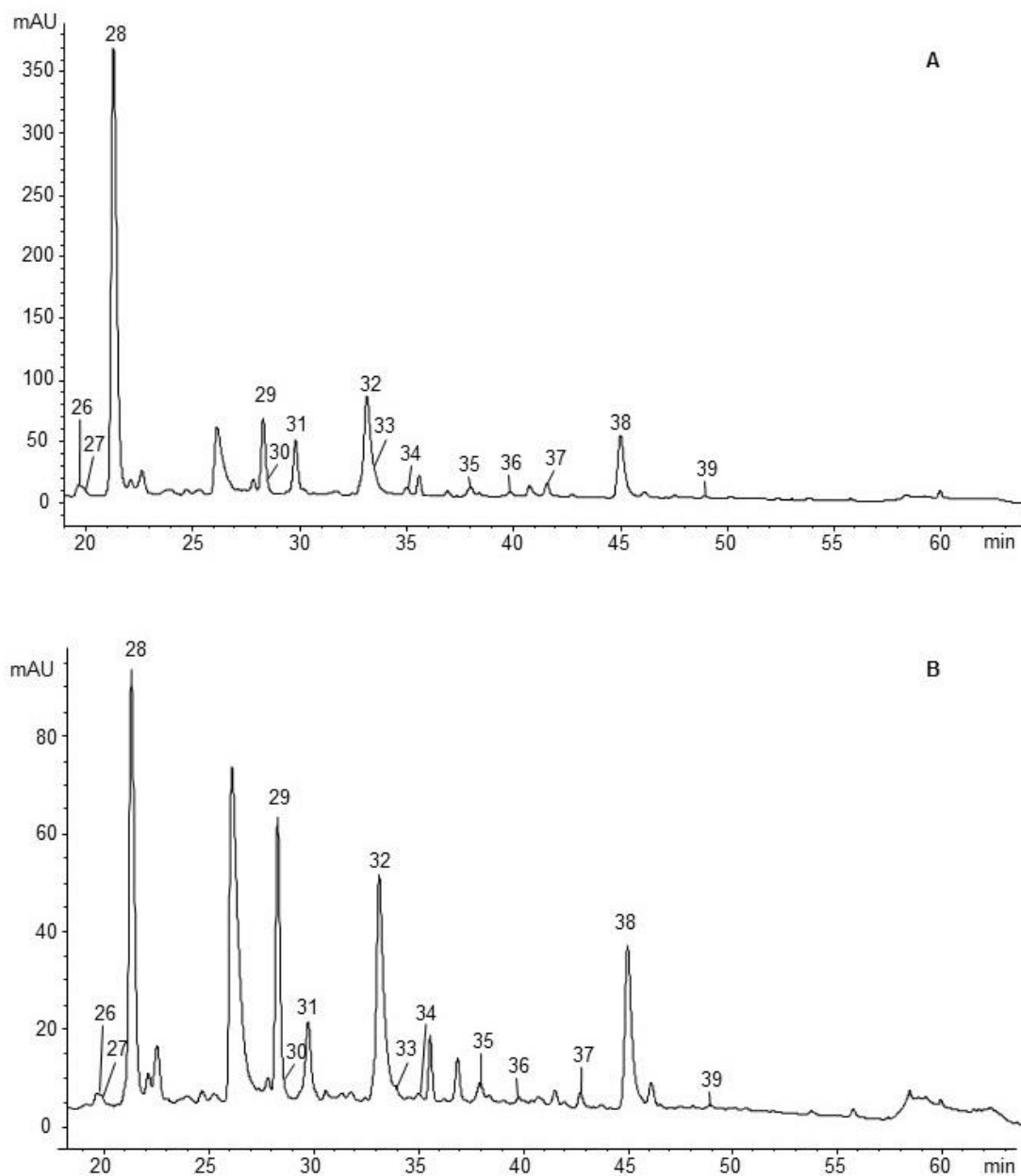
<i>Flavonóis e HCAD</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	RUBT	RUBPD	RUBSC	CORAT	CORAPD	CORASC
<i>Flavonóis (mg.L⁻¹)</i>				103,69±33,40 a	62,91±10,2 a	88,90±6,99 a	55,62±3,05 a	38,73±6,79 a	50,73±5,67 a
M-3-glcU	26	20.0	493;317	2,16±0,50 a	1,62±0,26 a	2,22±0,56 a	1,01±0,18 a	0,55±0,20 a	0,85±0,21 a
M-3-gal	27	20.4	479;317	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
M-3-glc	28	21.5	479;317	54,30±19,50 a	31,44±6,48 a	51,58±3,04 a	17,36±0,48 a	3,95±0,99 b	17,08±1,96 a
Q-3-gal	29	28.2	463;301	8,87±0,86 ab	14,06±1,97 a	8,04±0,18 b	9,51±0,60 b	22,28±2,82 a	10,61±1,83 b
Q-3-glcU	30	28.6	477;301	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Q-3-glc	31	29.9	463;301	6,20±3,48 a	6,55±0,56 a	6,54±1,00 a	3,53±0,05 a	2,70±0,47 a	3,25±0,13 a
L-3-glc	32	33.0	493;331	19,69±4,40 a	2,22±1,54 b	10,96±3,70 ab	11,38±1,61 a	2,71±1,18 b	7,53±2,57 ab
M livre	33	33.2	317	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
K-3-gal	34	34.0	447;285	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
K-3-glc	35	37.0	447;285	0,76±0,03 a	0,70±0,21 a	1,01±0,16 a	1,40±0,04 a	0,66±0,14 b	1,54±0,06 a
I-3-glc	36	40.1	477;315	0,62±0,11 a	0,76±0,51 a	1,29±0,18 a	0,74±0,42 a	0,44±0,12 a	0,58±0,04 a
S-3-glc	37	41.6	507;345	1,26±0,47 a	1,66±0,44 a	0,44±0,00 a	0,70±0,22 a	0,44±0,01 a	0,52±0,12 a
Q livre	38	45.0	301	9,48±4,00 a	3,66±3,25 a	6,60±0,92 a	9,97±2,64 a	4,98±1,28 a	8,72±1,49 a
L livre	39	48.7	331	0,39±0,18 a	0,20±0,03 a	0,19±0,01 a	NQ	NQ	NQ

Tabela 14. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Rúbea e BRS Cora (continuação).

Flavonóis e HCAD	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	RUBT	RUBPD	RUBSC	CORAT	CORAPD	CORASC
<i>Ácidos hidroxicinâmicos e derivados (HCAD) (mg.L⁻¹)</i>				265,27±60,9 ab	135,63±4,33 b	306,26±8,53 a	259,56±113,8 a	90,91±26,20 a	245,96±112,0 a
Ácido caftárico	40	4.1	311;179,149,135	126,80±134,80 a	1,46±0,51 a	220,92±7,09 a	105,00±145,00 a	16,70±19,20 a	92,30±129,20 a
Ácido trans-cutárico	41	6.1	295;163,149,119	8,65±9,07	NQ	16,52±0,72	8,16±10,32 a	1,60±0,00 a	14,75±0,00 a
Ácido cis-cutárico	42	6.5	295;163,149,119	1,69±1,97 a	3,00±0,31 a	3,44±0,11 a	3,42±0,00 a	0,60±0,14 a	1,12±1,37 a
Ácido cafeico	43	7.8	179;135	58,80±69,90 a	62,70±3,70 a	8,34±0,55 a	87,50±39,00 a	36,67±5,49 a	85,10±26,10 a
<i>p</i> -coumaroil-glicose-1	44	9.0	325;163,145	21,43±2,38 a	30,89±9,09 a	19,96±1,25 a	9,24±1,40 ab	4,62±0,76 b	12,79±2,30 a
<i>p</i> -coumaroil-glicose-2	45	11.6	325;163,145	7,85±1,68 a	10,43±1,87 a	8,20±0,11 a	3,80±0,14 b	1,76±0,48 c	5,63±0,08 a
Ácido <i>p</i> -cumárico	46	14.4	163;119	38,20±18,30 a	26,02±2,71 a	27,39±1,65 a	40,72±3,19 a	29,24±0,68 b	38,27±0,14 a
Cafeato de etila	47	46.1	207;179,135	0,36±0,00 a	0,28±0,21 a	0,07±0,00 a	0,32±0,01	NQ	0,29±0,13
Cumarato de etila	48	55.8	191;163,119	1,68±0,50 a	0,85±0,23 a	1,42±0,18 a	2,62±0,22 a	0,46±0,04 b	3,11±0,43 a

Abreviaturas: M, miricetina; Q, quercetina; L, laricitrina; K, caempferol; S, siringetina; I, isoramnetina; glcU, glucorônido; gal, galactosídeo; glc, glucosídeo; RUBT, BRS Rúbea tradicional; RUBPD, BRS Rúbea pré-secagem; RUBSC, BRS Rúbea chapéu submerso; CORAT, BRS Cora tradicional; CORAPD, BRS Cora pré-secagem; CORASC, BRS Cora chapéu submerso; NQ, não quantificável. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

Figura 17. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 360 nm para flavonóis) dos vinhos tintos BRS Rúbea (A) e BRS Cora (B).



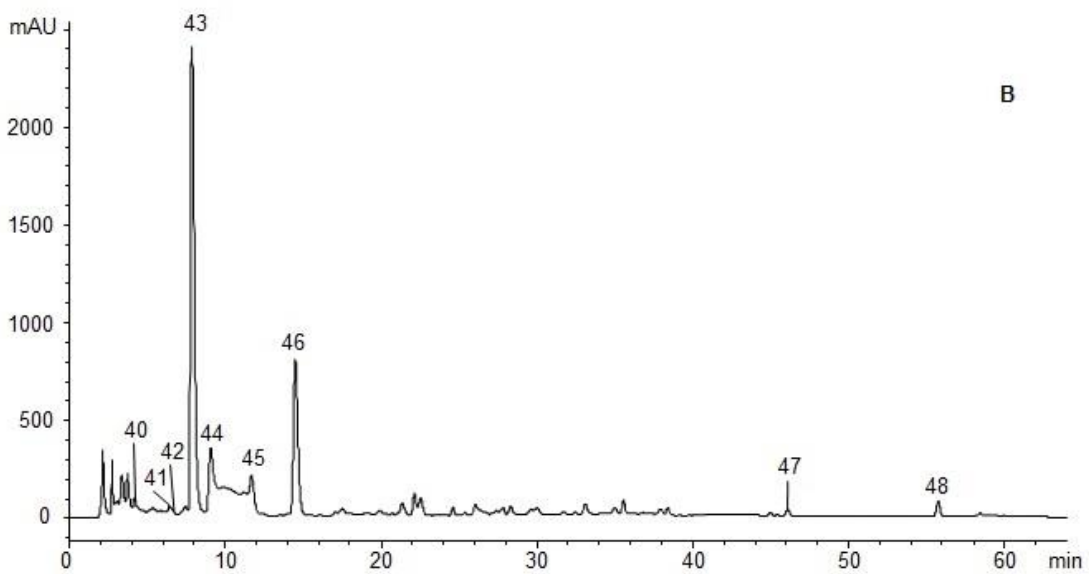
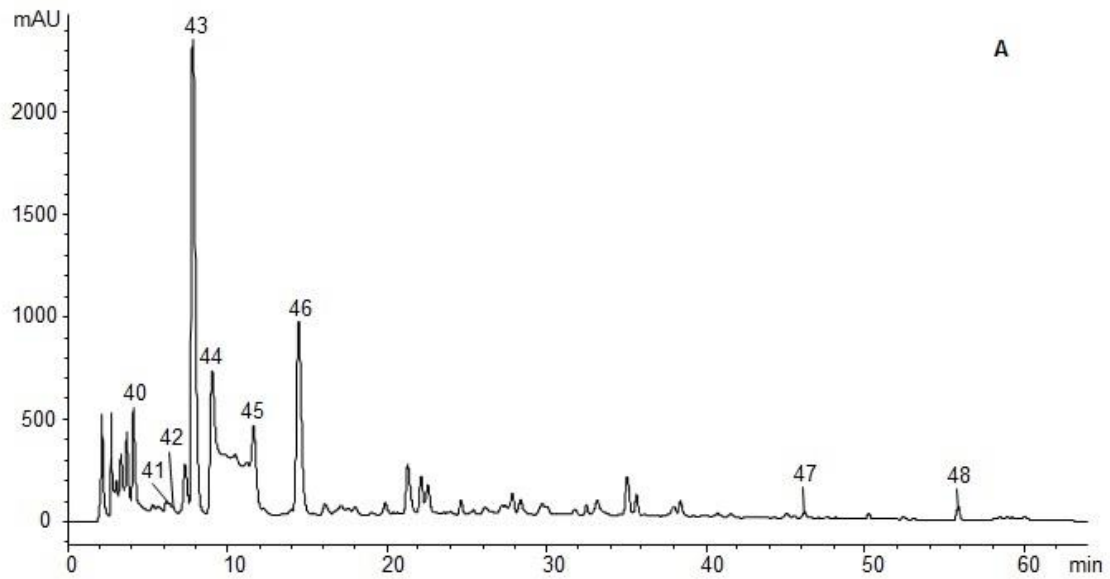
As formas glicosiladas (3-glc) de miricetina, laricitrina e quercetina e a forma livre de quercetina apresentaram as maiores concentrações em ambos os vinhos avaliados. Esse resultado diferiu dos resultados reportados por outros estudos que avaliaram o perfil fenólico dos vinhos produzidos pela uva Isabel (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010), BRS Violeta (LAGO-VANZELA et al., 2013) e do perfil fenólico da uva Bordô (LAGO-VANZELA et al., 2011), que relataram maior concentração das formas derivadas de miricetina e quercetina.

Nos vinhos BRS Rúbea e BRS Cora, miricetina 3-glicosídeo (M-3glc) foi considerado o mais importante flavonol, seguido de laricitrina 3-glicosídeo (L-3glc), sendo esse último o flavonol que não apresentou concentrações relevantes nos estudos acima mencionados. Quando os diferentes tratamentos de vinificação foram comparados, foi possível observar diferenças significativas para as concentrações de quercetina 3-galactosídeo (Q-3gal) e laricitrina 3-glicosídeo (L-3glc) para os vinhos BRS Rúbea; e miricetina 3-glicosídeo (M-3glc), quercetina 3-galactosídeo (Q-3gal), laricitrina 3-glicosídeo (L-3glc) e caempferol 3-glicosídeo (K-3glc) para os vinhos BRS Cora. O tratamento de pré-secagem apresentou concentrações reduzidas para os flavonóis acima mencionados, exceto para Q-3gal que, por sua vez, apresentou concentração superior quando comparado ao tratamento de chapéu submerso para o vinho BRS Rúbea e comparado aos outros dois tratamentos (tradicional e chapéu submerso) para o vinho BRS Cora.

Em relação aos ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD), altas concentrações de ácido caftárico, cafeico e ácido *p*-cumárico foram observadas para ambos os vinhos (Tabela 14, Figura 18). Uma relevante informação pode ser retirada desses dados: os tratamentos tradicional e chapéu submerso, independentemente da uva, apresentaram elevadas concentrações de ácido caftárico, mas quase a totalidade desse ácido foi degradada nos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem, resultando em elevadas concentrações de ácido cafeico que, por sua vez, não foi degradado pela ação do calor. Esse resultado corrobora os resultados obtidos por Barcia et al. (2014) que reportaram a redução do ácido caftárico quando os subprodutos da vinificação das uvas BRS Lorena e BRS Violeta foram submetidos à secagem a 50 °C. Além disso, os mesmos autores descreveram que o processo de secagem aparentemente não afetou a concentração de ácido cafeico e seus derivados.

Não foi observada diferença significativa na comparação da concentração de flavonóis e HCAD quando os vinhos BRS Rúbea foram comparados em relação aos diferentes tratamentos; no entanto, para os vinhos BRS Cora, os vinhos submetidos à pré-secagem apresentaram menores concentrações de *p*-cumaroil-glicose-1 e *p*-cumaroil-glicose-2, ácido *p*-cumárico, e cumarato de etila, indicando que o uso do calor promoveu reações de oxidação química e degradação térmica (PATRAS et al., 2010).

Figura 18. Cromatograma HPLC-DAD (detecção a 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos) dos vinhos tintos BRS Rúbea (A) e BRS Cora (B).



Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso apresentaram o mesmo comportamento observado para os resultados obtidos para as antocianinas, ou seja, assumiram valores intermediários ao processo tradicional (maiores concentrações) e ao processo de pré-secagem (menores concentrações).

4.3.4. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos

Catequina (C), epicatequina (EC), galato de epicatequina (ECG), proantocianidina B1 (PB1), proantocianidina B2 (PB2) e proantocianidina B4 (PB4) foram detectados em ambos os vinhos avaliados, sendo as maiores concentrações desses compostos observadas para os vinhos BRS Rúbea (Tabela 15). Um comportamento interessante foi possível de ser observado no perfil de flavan-3-óis quando os tratamentos de vinificação foram comparados: os vinhos submetidos ao processo de pré-secagem apresentaram as maiores concentrações referentes a todos os flavan-3-óis e proantocianidinas detectadas quando comparadas às concentrações observadas para os vinhos elaborados pelo tratamento tradicional e de chapéu submerso.

Sugere-se que as uvas perdem a sua integridade fisiológica quando desidratadas, favorecendo a difusão de flavan-3-óis e outros compostos fenólicos da película para a polpa (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013); no entanto, esse fenômeno também pode promover reações entre antocianinas e flavan-3-óis, resultando em pigmentos poliméricos que levam a um decréscimo da concentração de flavan-3-óis. Nesse contexto, esse fenômeno não foi possível de ser observado devido a essa reação ser bloqueada no caso dos vinhos elaborados por uvas híbridas, já que as mesmas apresentam antocianinas diglicosiladas (3,5-diglicosídeo).

Flavan-3-óis podem sofrer degradação por meio de reações de escurecimento não enzimático e reações de oxidação mediadas por enzimas como a polifenoloxidase (PPO) e a peroxidase que, por sua vez, podem ocasionar o decréscimo da concentração desses compostos (MACHEIX; SAPIS; FLEURIET, 1991). Adicionalmente, flavan-3-óis de alto peso molecular podem sofrer reações de despolimerização e resultar na formação de flavan-3-óis de baixo peso molecular, promovendo um aumento na concentração de flavan-3-óis em vinhos tintos (DALLAS; RICARDO-DA-SILVA; LAUREANO, 1995).

Tabela 15. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e capacidade antioxidante determinada por radical DPPH (média \pm desvio padrão) para os vinhos BRS Rúbea e BRS Cora.

<i>Flavan-3-óis e estilbenos</i>	RUBT	RUBPD	RUBSC	CORAT	CORAPD	CORASC
<i>Monômeros e dímeros de flavan-3-óis (mg.L⁻¹)</i>	104,74 \pm 101,0 a	127,45 \pm 74,20 a	45,59 \pm 6,60 a	60,78 \pm 4,82 b	233,42 \pm 20,50 a	65,51 \pm 0,62 b
C	36,30 \pm 28,90 a	43,40 \pm 21,80 a	21,56 \pm 2,90 a	24,45 \pm 0,27 b	85,74 \pm 2,90 a	26,18 \pm 2,18 b
EC	13,55 \pm 12,19 a	14,14 \pm 6,84 a	7,72 \pm 1,02 a	17,39 \pm 3,72 b	60,71 \pm 1,82 a	19,12 \pm 0,00 b
ECG	0,76 \pm 0,58 a	1,41 \pm 0,08 a	0,22 \pm 0,19 a	0,04 \pm 0,06 a	0,00 \pm 0,00 a	0,07 \pm 0,10 a
PB1	27,70 \pm 30,20 a	36,20 \pm 23,70 a	7,83 \pm 1,28 a	7,33 \pm 0,10 b	27,56 \pm 8,03 a	7,74 \pm 1,12 b
PB2	23,00 \pm 25,40 a	28,20 \pm 18,70 a	7,38 \pm 1,23 a	9,30 \pm 0,68 b	43,07 \pm 11,39 a	9,30 \pm 1,45 b
PB4	3,39 \pm 3,68 a	4,10 \pm 3,22 a	0,86 \pm 0,04 a	2,25 \pm 0,64 b	16,35 \pm 2,15 a	3,08 \pm 0,12 b
<i>Caracterização estrutural das proantocianidinas</i>						
mDP	1,18 \pm 0,08 a	1,16 \pm 0,03 a	1,12 \pm 0,00 a	1,48 \pm 0,00 a	1,65 \pm 0,18 a	1,44 \pm 0,07 a
% galoilação	8,57 \pm 1,51 ab	13,11 \pm 1,49 a	3,87 \pm 2,67 b	4,49 \pm 0,28 a	3,05 \pm 2,63 a	3,76 \pm 0,88 a
% prodelfinidinas	3,85 \pm 1,79 a	1,10 \pm 0,27 a	2,44 \pm 0,41 a	1,61 \pm 0,35 a	0,65 \pm 0,03 b	1,46 \pm 0,14 ab
<i>Estilbenos (mg.L⁻¹)</i>	2,35 \pm 0,21 a	1,66 \pm 0,07 b	2,67 \pm 0,08 a	3,11 \pm 0,34 a	1,35 \pm 0,63 a	2,70 \pm 0,81 a
<i>cis-resveratrol</i>	0,14 \pm 0,04 a	0,05 \pm 0,05 a	0,13 \pm 0,03 a	0,42 \pm 0,18 a	0,14 \pm 0,01 a	0,37 \pm 0,02 a
<i>cis-piceido</i>	1,27 \pm 0,24 a	1,13 \pm 0,11 a	1,62 \pm 0,07 a	2,32 \pm 0,72 a	0,95 \pm 0,44 a	1,74 \pm 0,49 a
<i>trans-piceido</i>	0,93 \pm 0,02 a	0,48 \pm 0,02 b	0,91 \pm 0,02 a	0,36 \pm 0,20 a	0,26 \pm 0,18 a	0,58 \pm 0,34 a
<i>Capacidade antioxidante (mmol.L⁻¹ de Trolox)</i>	7,68 \pm 1,09 a	8,35 \pm 1,09 a	6,85 \pm 1,04 a	5,40 \pm 0,54 a	4,34 \pm 0,17 b	4,86 \pm 0,08 ab

Abreviaturas: C, catequina; EC, epicatequina; ECG, galato de epicatequina; PB1, proantocianidina B1; PB2, proantocianidina B2; PB4, proantocianidina B4; mDP, grau médio de polimerização; RUBT, BRS Rúbea tradicional; RUBPD, BRS Rúbea pré-secagem; RUBSC, BRS Rúbea chapéu submerso; CORAT, BRS Cora tradicional; CORAPD, BRS Cora pré-secagem; CORASC, BRS Cora chapéu submerso; ND, não detectável. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

Além disso, a condensação de catequina/proantocianidinas e antocianinas monoméricas também pode resultar na formação de pigmentos poliméricos (BUDIC-LETO et al., 2006) e, baseado nisso, a evolução dos flavan-3-óis durante o processo de secagem das uvas pode resultar em um balanço entre reações que aumentam a concentração desses compostos e, ao mesmo tempo, promovam a diminuição da concentração dos mesmos (MARQUEZ et al., 2012).

Proantocianidinas B2, B2 e B4 apresentaram as maiores concentrações para os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem e, no caso dos vinhos BRS Cora, tais concentrações foram significativamente diferentes quando comparadas aos demais tratamentos. Esse resultado corrobora os resultados encontrados por Dallas; Ricardo-da-Silva; Laureano (1995) que reportaram elevada estabilidade e baixa reatividade dos flavan-3-óis, sugerindo que esses compostos não são afetados pela degradação térmica provocada pela secagem.

Em relação aos estilbenos, cis-resveratrol, trans-piceido e cis-piceido foram detectados, sendo cis-piceido o que apresentou as maiores concentrações em ambos os vinhos avaliados. Os resultados sugeriram que o uso do calor promoveu a total ou quase total degradação dos estilbenos, corroborando os resultados obtidos por Barcia et al. (2014) que detectaram e quantificaram esses compostos na película das uvas e, após a secagem, deixaram de ser detectados.

Os resultados concernentes à atividade antioxidante (AA) mostraram que os vinhos BRS Rúbea apresentaram AA superior quando comparados aos vinhos BRS Cora, embora não houve diferenças significativas na AA dos vinhos BRS Rúbea quando os diferentes processos de vinificação foram comparados. Para os vinhos BRS Cora, a AA dos vinhos elaborados pelo tratamento tradicional foi superior à AA dos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem, evidenciando que o processo de secagem influenciou de forma significativa no decréscimo da AA para os vinhos BRS Cora. No entanto, resultado oposto foi observado para os vinhos BRS Rúbea, ou seja, a AA dos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem foi superior aos demais tratamentos avaliados.

Essa diferença observada no resultado da atividade antioxidante se deve ao fato de haver um balanço nas reações que produzem compostos com maior atividade antioxidante e, ao mesmo tempo, produzem perdas na atividade

antioxidante devido à degradação de compostos fenólicos, isto é, enquanto a secagem pode promover a degradação de compostos fenólicos, sendo essa degradação correlacionada com a diminuição da AA (MAKRIS; KALLITHRAKA; KEFALAS, 2006), também pode ser responsável pela formação de novos compostos que apresentem elevada AA, como as melanoidinas, resultantes da reação de escurecimento não enzimático (reação de Maillard) (DELGADO-ANDRADE; MORALES, 2005).

Considerando que a secagem promova a transferência de compostos fenólicos da película à polpa, resultando em um aumento da concentração desses compostos devido à consequente evaporação da água, há necessidade em avaliar o balanço entre a otimização da extração desses compostos promovida pelo uso do calor e a ocorrência de reações de oxidação química. Provavelmente, os resultados obtidos mostraram que o balanço mencionado foi mais efetivo para a oxidação química, já que tanto as antocianinas quanto os flavonóis sofreram decréscimo em suas respectivas concentrações pelo uso do calor promovido pelo processo de secagem.

4.3.5. Análise sensorial

4.3.5.1. Análise sensorial descritiva

Como pode ser observado na Tabela 16, a comparação entre os diferentes tratamentos de vinificação promoveu diferenças significativas em relação à intensidade de cor, matiz violeta e nota de foxado para ambos os vinhos BRS Rúbea e BRS Cora e as diferenças para doçura e persistência foram significativas para o vinho BRS Cora. Os vinhos BRS Rúbea elaborados pelo processo de pré-secagem mostraram elevada intensidade de cor quando comparados aos vinhos elaborados pelo tratamento tradicional e chapéu submerso e, para os demais descritores sensoriais mencionados, os vinhos elaborados pelos processos tradicional e chapéu submerso diferiram de forma significativa dos vinhos elaborados pelo processo de secagem para ambos os vinhos avaliados.

Tabela 16. Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos BRS Rúbea e BRS Cora.

Atributos sensoriais	Vinhos					
	RUBT	RUBPD	RUBSC	CORAT	CORAPD	CORASC
<i>Aparência</i>						
Intensidade de cor	7,25±0,76 ab	7,77±0,96 a	6,95±0,97 b	4,95±1,15 a	4,12±0,87 b	4,91±1,29 a
Matiz violeta	6,70±1,03 a	5,41±2,06 b	6,48±1,06 a	3,87±1,63 a	0,60±1,18 b	4,56±1,61 a
<i>Aroma</i>						
Intensidade de frutado	6,16±0,97 a	5,79±1,87 a	6,00±1,00 a	4,35±1,55 a	2,66±1,59 b	4,77±1,83 a
Nota de foxado	5,14±1,71 a	5,14±1,78 b	5,83±1,61 a	4,23±1,39 a	2,60±1,65 b	4,27±1,40 a
Intensidade de vegetal	1,87±1,26 a	2,75±1,94 a	2,37±1,81 a	3,50±1,98 a	2,60±1,90 a	2,64±1,84 a
Nota de geleia/compota	2,70±1,55 a	2,54±1,40 a	2,25±1,78 a	1,56±1,33 a	2,29±1,69 a	1,85±1,65 a
<i>Sabor</i>						
Doçura	1,87±1,15 a	1,98±1,39 a	2,16±1,42 a	1,75±1,42 a	0,85±0,71 b	1,75±1,09 a
Acidez	5,79±1,17 a	5,83±1,26 a	5,85±1,39 a	6,70±1,17 a	6,89±1,83 a	6,60±1,01 a
Amargor	2,41±2,17 a	2,58±1,65 a	2,52±1,65 a	2,62±1,76 a	2,89±2,14 a	2,48±1,70 a
Corpo	5,64±0,86 a	5,50±1,25 a	5,29±1,56 a	3,97±1,55 a	3,50±1,33 a	4,23±1,56 a
Estrutura	4,02±1,57 a	4,12±0,97 a	3,75±1,68 a	2,70±1,21 a	2,18±1,10 a	2,95±1,73 a
Sabor herbáceo	2,58±1,21 a	2,31±0,97 a	2,27±1,12 a	3,43±2,07 a	2,70±1,49 a	2,77±1,28 a
Adstringência	2,58±1,44 a	2,45±1,21 a	2,04±0,99 a	2,35±1,20 a	2,23±1,58 a	2,25±1,48 a
Pungência	5,06±1,07 a	4,91±1,12 a	4,75±1,18 a	4,23±1,33 a	3,66±1,30 a	4,43±1,27 a
Persistência	5,79±0,86 a	5,56±0,94 a	5,56±1,10 a	4,70±1,04 a	3,25±1,50 b	4,60±1,26 a

Abreviaturas: RUBT, BRS Rúbea tradicional; RUBPD, BRS Rúbea pré-secagem; RUBSC, BRS Rúbea chapéu submerso; CORAT, BRS Cora tradicional; CORAPD, BRS Cora pré-secagem; CORASC, BRS Cora chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

Comparando os dois vinhos, as amostras de BRS Rúbea mostraram elevados escores para a intensidade de cor, matiz violeta, intensidade de frutado, nota de foxado, corpo, estrutura e persistência, enquanto os vinhos BRS Cora mostraram elevado escore para acidez. Os demais descritores sensoriais apresentaram resultados semelhantes para ambos os vinhos.

4.3.5.2. Análise sensorial de aceitação

A análise sensorial de aceitação dos vinhos Bordô e BRS Carmem foi realizada com 100 consumidores (58 mulheres – 58,00%) com idade média de 25,9 anos e desvio padrão de 8,74 anos (idade mínima de 18,0 anos e máxima de 65,0 anos). Do total de consumidores participantes da análise sensorial de aceitação, 20 (20,00%) relataram consumir muito pouco vinho, 22 (22,00%) relataram consumir pouca quantidade de vinho, 29 (29,00%) relataram consumir ocasionalmente, 16 (16,00%) relataram consumo moderado e 13 (13,00%) relataram consumir muito vinho.

De acordo com os resultados da Tabela 17, foi possível observar ausência de diferenças significativas em todos os atributos sensoriais de aceitação para os vinhos BRS Rúbea quando os diferentes tratamentos de vinificação foram comparados ($P > 0,05$). Em relação aos vinhos BRS Cora, a comparação dos processos de vinificação mostrou diferenças significativas nos escores da aceitação da aparência, aroma, aceitação global e intenção de compra.

Tabela 17. Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação.

Vinhos*	Atributos sensoriais de aceitação**					
	Aparência	Aroma	Corpo	Sabor	Aceitação global	Intenção de compra
RUBT	7,64±1,19 a	6,84±1,46 a	6,17±1,62 a	5,03±1,90 a	5,82±1,69 a	2,74±1,11 a
RUBPD	7,76±1,17 a	7,02±1,30 a	6,35±1,76 a	5,62±1,99 a	6,19±1,72 a	3,09±0,99 a
RUBSC	7,89±1,11 a	6,77±1,42 a	6,39±1,63 a	5,34±1,89 a	5,98±1,68 a	2,86±1,12 a
CORAT	6,13±1,57 a	5,63±1,81 ab	5,43±1,89 a	4,45±2,11 a	4,97±1,93 a	3,50±1,13 b
CORAPD	4,06±1,93 b	5,11±1,92 b	4,86±1,93 a	3,86±2,10 a	4,21±1,83 b	3,57±1,10 b
CORASC	6,32±1,65 a	6,08±1,66 a	5,40±1,70 a	4,53±1,96 a	5,07±1,77 a	4,01±0,96 a

*RUBT: BRS Rúbea tradicional, RUBPD: BRS Rúbea pré-secagem, RUBSC: BRS Rúbea chapéu submerso, CORAT: BRS Cora tradicional, CORAPD: BRS Cora pré-secagem, CORA: BRS Cora chapéu submerso. **Letras diferentes na mesma coluna, restringindo os tratamentos para a mesma uva, indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$). Os atributos de aparência, aroma, corpo, sabor e aceitação global foram avaliados utilizando escala de 1 a 9. A intenção de compra foi avaliada utilizando escala de 1 a 5.

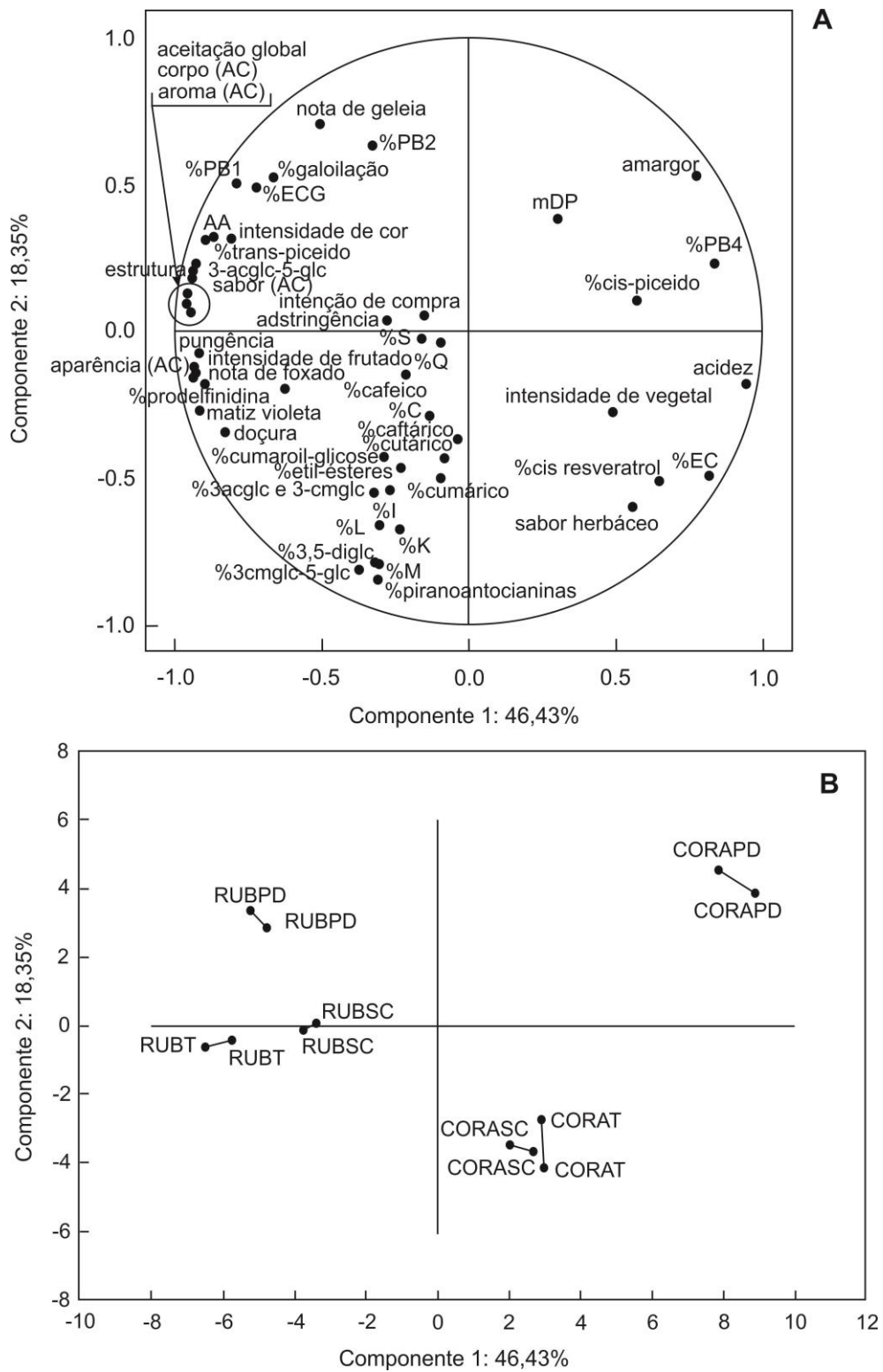
4.3.6. Análise quimiométrica

De acordo com os resultados da Análise de Componentes Principais (Figura 19), 64,78% da variação total dos dados foi explicada, sendo a componente 1 explicada por 46,43% e a componente 2 explicada por 18,35%. A componente 1 permitiu observar a diferenciação entre as uvas BRS Rúbea e BRS Cora e a componente 2 permitiu observar a diferença existente entre os processos de vinificação, sendo o processo de pré-secagem o que apresentou diferença significativa entre os processos tradicional e de chapéu submerso.

A componente 1 foi explicada por dois grupos de variáveis. O primeiro grupo foi composto pelas seguintes variáveis: 3-acglc-5-glc, ECG, PB1, trans-piceido, atividade antioxidante (AA) e os descritores intensidade de cor, matiz violeta, intensidade de frutado, nota de foxado, doçura, corpo, estrutura, pungência, persistência e os cinco atributos sensoriais de aceitação. Os vinhos elaborados pela uva BRS Rúbea foram os representantes dessas variáveis. Os descritores sensoriais corpo, estrutura, pungência e persistência estão diretamente relacionados à presença de flavan-3-óis como o galato de epicatequina que, por sua vez, é um flavan-3-ol galoilado e às proantocianidinas, representada, nesse caso, pela PB1.

Outro resultado interessante mostrou a relação da atividade antioxidante desses vinhos com os estilbenos, principalmente do tipo piceido, ou seja, o tipo glicosilado de resveratrol. Além disso, reafirma-se a pressuposição de que a atividade antioxidante não é dependente de um determinado composto químico, mas da relevante variedade de compostos fenólicos e outros compostos resultantes do processo de vinificação que apresentam, como característica intrínseca, a propriedade antioxidante (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; FERNÁNDEZ-PACHÓN et al., 2004; VILLAÑO et al., 2007).

Figura 19. Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos BRS Rúbea e BRS Cora (B), em duas repetições, utilizando Análise de Componentes Principais.



Alguns autores tem mostrado que a atividade antioxidante dos vinhos pode ser determinada, de uma maneira geral, pelos compostos fenólicos, principalmente pelas frações de antocianinas (MAKRIS; KALLITHRAKA; KEFALAS, 2006; RIVERO-PÉREZ; PÉREZ-MAGARIÑO; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, 2007) e, em um estudo mais recente foi mostrada forte relação da AA com flavan-3-óis galoilados (DE CASTILHOS et al., 2015b). Adicionalmente, de acordo com a localização da variável AA, os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (RUBPD) foram os que apresentaram maior AA, reiterando o fato de que as melanoidinas formadas pelo processo de secagem, devido a reações de escurecimento não enzimático, podem ter sido responsáveis pelo aumento dessa propriedade nos vinhos mencionados (MARQUEZ et al., 2012).

O segundo grupo de variáveis que explicou a componente 1 foi composto por epicatequina (EC), proantocianidina B4 (PB4), cis-resveratrol e os descritores sensoriais de acidez e amargor. Os vinhos representantes desse grupo são os elaborados pela uva BRS Cora. De uma maneira geral, observando a posição das amostras no gráfico bidimensional (Figura 19B), essas variáveis se relacionaram de forma mais significativa com os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (CORAPD). Sendo assim, é possível pressupor a relação entre o amargor com a existência de flavan-3-óis, previamente reportado por Chira et al. (2011).

A componente 2 também foi explicada por dois grupos de variáveis, sendo o primeiro deles compostos pelas antocianinas diglicosiladas (3,5-diglc), cumaroiladas (3-cmglc-5-glc), piranoantocianinas, e três flavonóis: miricetina (M), laricitrina (L) e caempferol (C). Os vinhos elaborados pelo processo tradicional e de chapéu submerso foram os representantes desse grupo. De uma maneira geral, os processos de vinificação tradicional e de chapéu submerso mostraram destaque no que se refere à concentração de antocianinas, visto que esse resultado também foi observado para os vinhos elaborados pelas uvas Bordô e BRS Carmem.

De acordo com a localização dos vetores concernentes a essas determinações químicas, os vinhos RUBT e RUBSC foram os que apresentaram maiores concentrações das antocianinas mencionadas, assim como de flavonóis que, por sua vez, podem ter influenciado nos atributos sensoriais descritos na componente 1, no qual esses vinhos apresentaram destaque, principalmente na

intensidade de cor e na matiz violeta. No caso dos vinhos Rúbea, a intensidade de cor e a intensidade de matiz violeta foram explicadas basicamente por um tipo específico de antocianina: as que assumiram a forma diglicosilada com radical acetilado (3-acglc-5-glc). No entanto, analisando a componente 2 é possível observar que os descritores de aparência também apresentaram certa influência das demais classes de antocianinas, tanto diglicosiladas, cumaroiladas e piranoantocianinas (DE CASTILHOS et al., 2015b).

A componente 2 também foi explicada pela nota de geleia, apresentando os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem como os principais representantes. Esse resultado também foi observado para os vinhos Bordô e BRS Carmem, sendo que esse descritor deve estar vinculado, principalmente, a algum composto volátil da classe das cetonas, por exemplo, como a hexenona, responsável por determinar o aroma de fruta em compota (ROBERTS; ACREE, 1996).

De uma maneira geral, para a análise dos vinhos elaborados pelas uvas BRS Rúbea e BRS Cora, as características inerentes às uvas foram mais expressivas quando comparadas às características vinculadas aos processos alternativos de vinificação. Nesse contexto, os vinhos elaborados pelos processos tradicional e de chapéu submerso apresentaram elevada concentração de antocianinas que, por sua vez, respondeu de forma positiva na intensidade de cor e na matiz violeta, sendo tal influência mais acentuada nos vinhos BRS Rúbea. No caso do processo de secagem, o aroma de geleia foi a característica sensorial mais preponderante, além desses vinhos apresentarem elevado amargor devido à presença significativa de alguns flavan-3-óis. Vale ressaltar que a atividade antioxidante foi influenciada pela variedade de compostos fenólicos, não sendo característica pontual de um determinado composto químico. Além disso, a aceitação sensorial dos vinhos BRS Rúbea foi superior em relação aos vinhos elaborados pela uva BRS Cora em todos os atributos avaliados.

4.4. Vinhos BRS Violeta

4.4.1. Parâmetros enológicos clássicos

Os parâmetros enológicos clássicos referentes aos vinhos BRS Violeta estão expostos na Tabela 18. De acordo com os resultados obtidos, os vinhos BRS Violeta apresentaram diferenças significativas para todos os parâmetros enológicos clássicos, exceto para o teor de fenólicos totais ($P > 0,05$), sugerindo que os processos alternativos de vinificação não afetaram de forma significativa os compostos fenólicos (DE CASTILHOS et al., 2016). Esperava-se que o conteúdo de fenólicos totais dos vinhos elaborados pelos processos de pré-secagem (VIOPD) e chapéu submerso (VIOSC) resultasse inferior aos vinhos elaborados pelo processo tradicional (VIOT), devido à possível degradação desses compostos pelo calor, no tratamento de pré-secagem das uvas, e à possível limitação do contato entre o bagaço e o mosto proporcionado pela ausência da etapa de remontagem no tratamento de chapéu submerso. No entanto, as diferenças observadas não foram significativas.

Tabela 18. Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos dos vinhos BRS Violeta.

Parâmetro enológico	Vinhos		
	VIOT	VIOPD	VIOSC
Acidez total (g/L)	6,31±0,59 b	5,72±0,29 b	7,50±1,03 a
Acidez volátil (g/L)	0,51±0,03 b	0,51±0,03 b	0,78±0,08 a
pH	3,39±0,01 a	3,41±0,00 a	3,36±0,03 b
Teor alcoólico (% v/v)	13,91±0,85 b	14,80±0,26 a	13,40±0,29 b
Extrato seco (g/L)	47,28±6,13 a	47,89±1,41 a	41,02±1,77 b
Açúcares redutores (g/L)	4,28±0,52 a	3,71±0,23 b	2,92±0,30 c
Fenólicos totais (mg/L)	1702,7±15,9 a	1677,2±71,5 a	1670,4±24,0 a

Abreviaturas: VIOT, BRS Violeta tradicional; VIOPD, BRS Violeta pré-secagem; VIOSC, BRS Violeta chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Adicionalmente, o tratamento de pré-secagem influenciou de forma positiva no extrato seco dos vinhos, sendo considerados encorpados, pois

apresentaram extrato seco superior a 30 g/L (JACKSON, 2008). Todos os vinhos avaliados apresentaram acidez e pH dentro dos limites desejáveis, ou seja, pH entre 3,2 e 3,4 para vinhos tintos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Os vinhos, independentemente do tratamento realizado, foram considerados do tipo seco, pois apresentaram teor de açúcares redutores inferior a 5 g/L (BRASIL, 2004).

4.4.2. Perfil de antocianinas e piranoantocianinas

As formas 3,5-diglicosídeo das antocianinas encontradas em vinhos tintos (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina) foram identificadas e quantificadas pelos espectros na região do UV-visível a 520 nm e pelo padrão de fragmentação dos íons moleculares determinada pela aplicação da técnica de espectrometria de massas (MS/MS) (LAGO-VANZELA et al., 2011; NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; BLANCO-VEGA et al., 2011) sendo as diferentes formas da malvidina a principal antocianidina observada nos vinhos BRS Violeta, seguida das formas de delfinidina e petunidina. (Tabela 19, Figura 20a). As formas monoglicosiladas, 3-glicosídeo, 3-(6"-acetil)-glicosídeo e 3-(6"-cumaroil)-glicosídeo não foram encontradas nos vinhos elaborados por essa uva. Esse resultado pode ser explicado pela formação de compostos do tipo hidroxifenil-piranoantocianinas, que são resultantes de reações entre as antocianinas monoglicosiladas e os ácidos hidroxicinâmicos, sendo derivadas do ácido *p*-cumárico (10-HP; 10-3"-hidroxifenil) ou do ácido cafeico (10-DHP; 10-3"-dihidroxifenil).

Esses pigmentos somente podem ser formados pela reação dos ácidos hidroxicinâmicos com as antocianinas monoglicosiladas e já que a maioria das antocianinas encontradas nos vinhos elaborados por uvas americanas são diglicosiladas (3,5-diglc), as reações acima mencionadas são estericamente impedidas de serem realizadas pela existência da glicose na posição 5 (C-5). Sendo assim, tal fato pode explicar a presença relevante de piranoantocianinas nos vinhos BRS Violeta, assim como a inexistência de antocianinas monoglicosiladas, pressupondo que essas participaram de forma considerável na formação desses pigmentos complexos.

Tabela 19. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Violeta.

Antocianidinas e piranoantocianinas	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produtos (m/z)	VIOT	VIOPD	VIOSC
<i>Antocianinas (mg.L⁻¹)</i>				818,24±8,17 a	123,72±13,06 c	335,69±0,91 b
Dp-3,5diglc	1	4.5	627;465,303	164,30±4,94 a	16,46±2,88 c	46,41±0,02 b
Cy-3,5diglc	2	6.5	611;449,287	56,37±1,44 a	5,43±0,65 c	27,43±0,56 b
Pt-3,5diglc	3	9.5	641;479,317	130,84±1,62 a	25,29±4,62 c	60,73±0,05 b
Pn-3,5diglc	4	12.1	625;463,301	72,83±0,69 a	9,52±2,28 c	34,97±0,05 b
Mv-3,5diglc	5	14.0	655;493,331	194,18±0,73 a	38,95±2,07 c	103,23±0,31 b
Cy-3acglc-5glc	6	16.5	463;301	3,59±0,17 a	1,95±0,25 b	2,63±0,18 b
Pt-3acglc-5glc	7	18.2	683;521,479,317	7,50±0,06 a	2,31±0,23 c	4,25±0,23 b
Mv-3acglc-5glc	8	21.7	697;535,493,331	1,50±0,04 b	1,29±0,02 b	2,10±0,10 a
Dp-3cmglc-5glc	10	23.9	773;611,465,303	76,22±1,58 a	4,47±0,27 c	12,04±0,09 b
Cy-3cmglc-5glc	11	25.8	757;595,449,287	20,33±0,57 a	1,87±0,00 c	7,26±0,21 b
Pt-3cmglc-5glc	12	27.4	801;639,493,331	44,56±0,14 a	5,70±0,12 c	13,70±0,15 b
Pn-3cmglc-5glc	15	29.8	771;609,463,301	8,92±0,12 a	1,98±0,23 c	3,50±0,03 b
Mv-3cmglc-5glc	16	30.5	801;639,493,331	33,56±0,38 a	6,84±0,25 c	15,15±0,03 b
<i>Piranoantocianinas (mg.L⁻¹)</i>				46,75±0,49 a	40,75±1,48 b	40,60±1,13 b
10-carboxi-pyrpt-3cmglc	9	23.3	503;341	NQ	NQ	NQ
10-carboxi-pymv-3cmglc (cm-vitisina A)	13	28.1	707;399	5,51±0,01	NQ	4,52±0,11
10HP-pyrdp-3glc	14	28.9	581;419	6,26±0,31 a	5,98±0,17 a	5,73±0,00 a
10DHP-pyrpt-3glc	17	31.9	611;449	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrpy-3glc	18	32.8	565;403	4,27±0,01 a	4,02±0,05 a	4,40±0,18 a
10HP-pyrpt-3glc	19	34.6	595;433	8,14±0,22 a	8,05±0,00 a	6,45±0,09 b
10HP-pyrdp-3cmglc	20	34.8	727;419	NQ	NQ	NQ
10DHP-pyrpt-3cmglc	21	36.2	757;449	2,26±0,35 a	2,24±0,05 a	2,06±0,09 a
10DPH-pyrmv-3glc	22	36.7	625;463	4,17±0,95 a	3,80±0,17 a	3,00±0,87 a

Tabela 19. Perfis de antocianinas e piranoantocianinas determinados por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Violeta (continuação).

Antocianidinas e piranoantocianinas	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produtos (m/z)	VIOT	VIOPD	VIOSC
10HP-pyrpt-3acglc	23	37.2	637;433	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrpn-3glc	24	38.2	579;417	5,04±0,00 a	4,68±0,51 a	4,53±0,18 a
10HP-pyrpy-3cmglc	25	38.6	711;403	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrmv-3glc	26	39.6	609;447	4,61±0,21 a	4,85±0,36 a	4,24±0,01 a
10HP-pyrpt-3cmglc	27	40.3	741;433	4,71±0,38 a	5,16±0,27 a	4,55±0,00 a
10DHP-pyrmv-3cmglc	28	41.6	771;463	0,69±0,15 a	0,62±0,00 a	0,31±0,07 a
10HP-pyrpn-3cmglc	29	42.1	725;417	0,32±0,00 a	0,32±0,00 a	0,20±0,02 b
10HP-pyrmv-3cmglc	30	42.3	755;447	0,76±0,03 ab	0,97±0,00 a	0,56±0,11 b

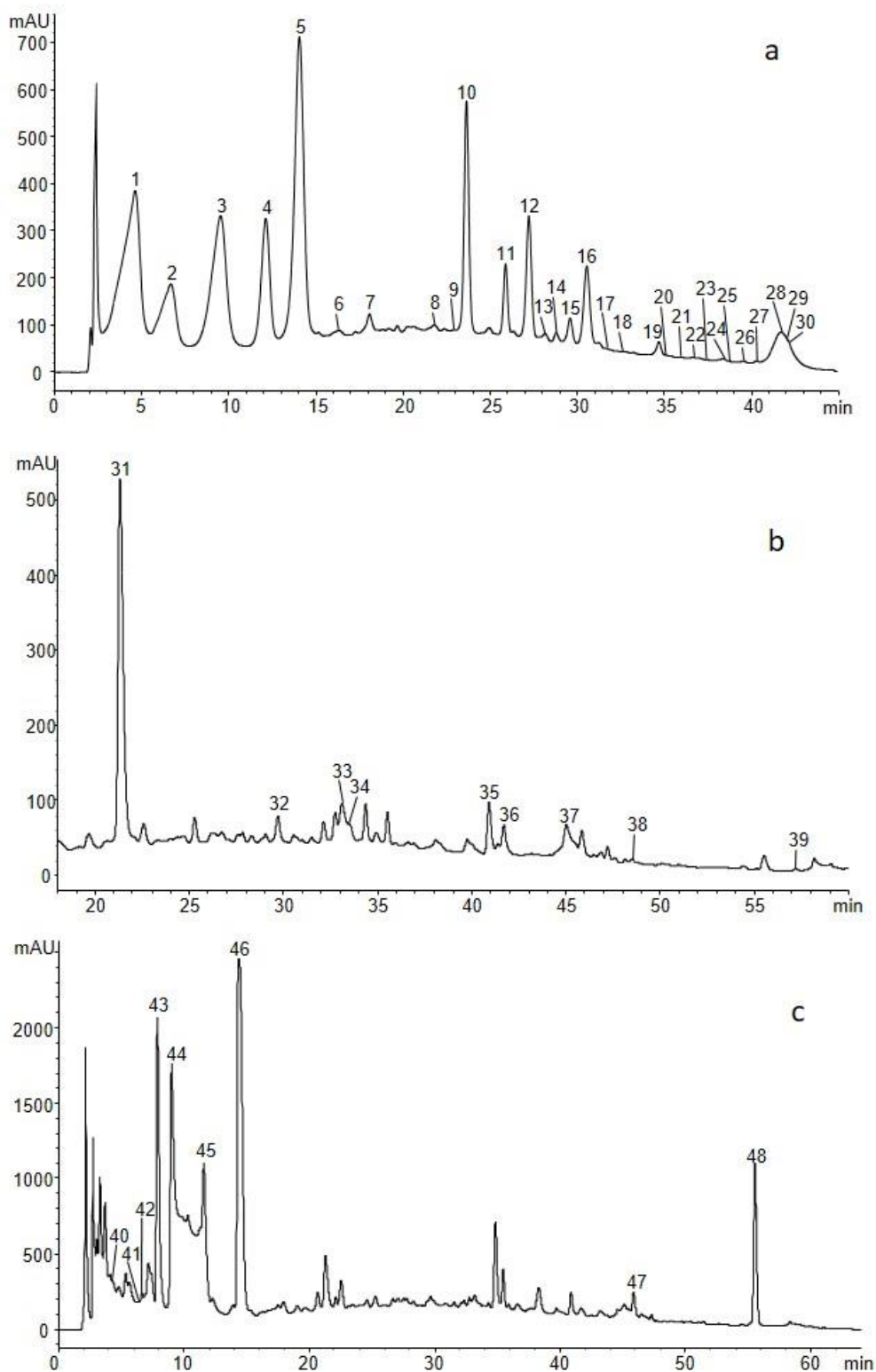
Abreviaturas: Dp, delphinidina; Cy, cianidina; Pt, petunidina; Pn, peonidina; Mv, malvidina; 3,5-diglc, 3,5-diglicosídeo; 3-acglc-5-glc, 3-(6"-acetil)-glicosídeo-5-glicosídeo; 3-cmglc-5-glc, 3-(6"-*p*-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo; 3-glc, 3-glicosídeo; 3-acglc, 3-(6"-acetil)-glicosídeo; 3-cmglc, 3-(6"-*p*-cumaroil)-glicosídeo; 10-HP, 10-*p*-hidroxifenil; 10-DHP, 10-*p*-dihidroxifenil; VIOT, BRS Violeta tradicional; VIOPD, BRS Violeta pré-secagem; VIOSC, BRS Violeta chapéu submerso; ND, não detectável; NQ, não quantificável. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Foi possível detectar 17 diferentes tipos de piranoantocianinas derivadas das cinco antocianidinas através dos espectros de fragmentação de massa (MS e MS/MS) e espectros de absorção na região do UV-visível, sendo a maioria delas determinada pelas formas 10-(4''-hidroxifenil) (10-HP) e 10-(3'', 4'', dihidroxifenil) (10-DHP) das cinco possíveis piranoantocianidinas nas suas diferentes formas não aciladas, acetiladas e *p*-cumaroiladas (BLANCO-VEGA et al., 2011). A forma cumaroilada da vitisina A, 10-carboxi-piranomalvidina-3-*p*-cumaroilglicosídeo, e a sua forma similar pertencente à petunidina foram detectadas em todas as amostras dos vinhos BRS Violeta, independentemente do processo de vinificação empregado. No entanto, somente a forma *p*-cumaroilada da vitisina A foi possível de ser quantificada nos vinhos elaborados pelos processos tradicional e de chapéu submerso. A formação do tipo vitisina A é resultado da reação entre as antocianidinas monoglicosiladas (3-glicosídeo) e ácido pirúvico, um metabólito secundário das leveduras. O ácido pirúvico é transformado em uma forma química enólica, seguida de uma reação de descarboxilação, permitindo a formação desses pigmentos de estrutura complexa (BLANCO-VEGA et al., 2011).

As formas 3-(6''-cumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo das cinco antocianidinas foram detectadas. Os vinhos elaborados pelo processo tradicional apresentaram elevada concentração para todas as antocianidinas cumaroiladas (3-cmglc-5-glc), seguidos pelos vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso e pré-secagem. As formas 3-(6''-acetil)-glicosídeo-5-glicosídeo (3-acglc-5-glc) de todas as antocianidinas, exceto delphinidina e peonidina foram quantificadas como compostos minoritários, ou seja, apresentando concentrações inferiores às demais antocianidinas. Esses resultados concordaram com Lago-Vanzela et al. (2013) que reportaram concentrações relevantes de malvidina-3,5-diglicosídeo (mv-3,5-diglc) e delphinidina 3-cumaroil-5-glicosídeo (dp-3-cmglc-5-glc) para os vinhos elaborados pela uva BRS Violeta de diferentes safras. Os mesmos autores reportaram a detecção da forma 3-(6''-acetil)-glicosídeo-5-glicosídeo de delphinidina e peonidina, contrastando os resultados obtidos nesse estudo, já que não foi possível detectar esses compostos nos vinhos BRS Violeta.

Figura 20. Cromatograma HPLC-DAD, detecção a 520 nm para antocianinas (a), 360 nm para flavonóis (b) e 320 nm para ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (c) dos vinhos tintos BRS Violeta.

Para descrição dos picos, ver Tabelas 20 e 21.



Em todas as antocianinas quantificadas, quando as diferenças estatísticas foram significativas ($P < 0,05$; Tabela 20), o vinho tradicional (VIOT) apresentou elevadas concentrações desses compostos quando comparados aos vinhos VIOSC e VIOPD. Uma possível explicação para a baixa concentração desses compostos nos vinhos submetidos ao processo de pré-secagem está relacionada à degradação causada pelo calor. Adicionalmente, esperava-se que o vinho VIOSC apresentasse maior concentração de antocianinas quando comparado ao vinho VIOT devido ao constante contato entre o bagaço e o mosto durante a fermentação alcoólica promovendo maior dissolução dos compostos fenólicos; no entanto, o constante contato entre a parte sólida e líquida não foi suficiente para promover o aumento significativo da concentração das antocianinas.

Além disso, no caso das piranoantocianinas, a concentração não foi afetada de forma significativa quando o vinho VIOPD foi comparado ao vinho VIOT, apresentando ausência de diferenças significativas nas concentrações desses compostos. Esse resultado pode estar vinculado à elevada estabilidade das piranoantocianinas frente às antocianinas, ou seja, a complexidade de suas estruturas químicas permitiu a não degradação desses compostos pelo calor.

Os processos de vinificação influenciaram o conteúdo total de antocianinas e piranoantocianinas, sendo que a concentração desses compostos foi inferior nos vinhos VIOPD, $123,72 \pm 13,06$ mg/L e $40,75 \pm 1,48$ mg/L, respectivamente. O processo de pré-secagem diminuiu a concentração desses compostos devido à degradação térmica causada pela clivagem das ligações covalentes ou pelo deglicosilação das antocianinas 3-glicosídeo. Em contrapartida, os vinhos VIOPD apresentaram elevada concentração de piranoantocianinas, especialmente as formas hidroxifenil-piranoantocianinas 10-HP (média de 34,03 mg/L) e 10-DHP (média de 6,66 mg/L).

Esse resultado não pode ser explicado simplesmente pela decorrência da concentração desses compostos pelo uso do calor e consequente evaporação da água. Além disso, os resultados pareceram sugerir a formação das formas hidroxifenil-piranoantocianinas nas primeiras etapas do tratamento de pré-secagem das uvas, anterior ao efeito da degradação térmica. O aumento da temperatura pode acelerar a hidrólise dos ácidos caftárico (ácido cafeico + tartárico) e cutárico (ácido cumárico + tartárico), liberando, assim, os ácidos

cafeico e *p*-cumárico que, por sua vez, reagiram com as antocianinas formando as hidroxifenil-piranoantocianinas (RENTZSCH; SCHWARZ; WINTERHALTER, 2007). O calor empregado no processo de pré-secagem pode modificar a permeabilidade da membrana celular das películas das uvas, permitindo o contato prévio entre as antocianinas e os ácidos cafeico e *p*-cumárico.

Em paralelo, o calor pode ter degradado os taninos que, por sua vez, são reconhecidos como fortes competidores dos ácidos cafeico e *p*-cumárico pela reação com as antocianinas, a fim de formar compostos de copigmentação (RENTZSCH et al., 2010; BLANCO-VEGA et al., 2011). Essa hipótese mencionada pode ser consolidada pela maior estabilidade das hidroxifenil-piranoantocianinas frente às antocianinas 3-glicosídeo no que se refere à degradação térmica. Até ao momento não foi encontrado nenhum estudo que mostrasse resultados científicos sobre a estabilidade térmica das piranoantocianinas.

4.4.3. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)

As formas 3-glicosídeo das cinco agliconas, quercetina (Q), miricetina (M), laricitrina (L), siringetina (S) e isoramnetina (I), foram detectadas e quantificadas nos vinhos BRS Violeta (Tabela 20, Figura 20b). Além disso, as formas 3-glucorônido (3-glcU) não foram detectadas nesses vinhos e formas livres de quatro agliconas foram detectadas e quantificadas, sendo elas: miricetina, quercetina, laricitrina e siringetina. A forma 3-glicosídeo de miricetina apresentou maior concentração nos vinhos BRS Violeta, seguida das formas 3-glicosídeo de laricitrina, isoramnetina e siringetina, assim como relevante concentração da forma livre de quercetina. Esse resultado corroborou os achados de Lago-Vanzela et al. (2013) que reportaram alta concentração de miricetina 3-glicosídeo (M-3glc) em vinhos Violeta; no entanto, está em desacordo com outros achados desses mesmos autores que reportaram elevadas concentrações de L-3glc e Q livre.

Tabela 20. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média ± desvio padrão) para os vinhos tintos BRS Violeta.

<i>Flavonóis e HCAD</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	VIOT	VIOPD	VIOSC
<i>Flavonóis (mg.L⁻¹)</i>				170,48±30,60 a	100,74±4,22 a	108,12±26,10 a
M-3-glc	31	21.5	479;317	110,60±19,60 a	72,19±4,84 a	73,30±15,20 a
Q-3-glc	32	29.9	463;301	5,86±0,37 a	5,15±1,48 a	2,33±0,14 a
L-3-glc	33	33.0	493;331	17,40±15,20 a	4,27±1,32 a	11,77±9,80 a
M livre ¹	34	33.2	317	4,68±3,54 a	2,53±0,83 a	3,64±0,17 a
I-3-glc	35	40.1	477;315	8,99±5,29 a	4,50±2,86 a	5,85±1,38 a
S-3-glc	36	41.6	507;345	8,51±2,68 a	4,96±2,70 a	2,77±0,59 a
Q livre	37	45.0	301	10,72±0,41 a	4,34±1,41 b	4,73±1,78 b
L livre	38	48.7	331	2,78±0,39 a	2,11±0,74 a	2,41±0,72 a
S livre	39	57.6	345	0,86±0,45 a	0,67±0,64 a	1,33±0,82 a
<i>Ácidos hidroxicinâmicos e derivados (HCAD) (mg.L⁻¹)</i>				400,67±25,60 a	502,03±58,10 a	374,13±16,50 a
Ácido caftárico	40	4.1	311;179,149,135	1,29±1,11 a	0,92±0,08 a	1,11±0,38 a
Ácido <i>trans</i> -cutárico ¹	41	6.1	295;163,149,119	9,89±0,03 ab	12,49±0,32 a	7,98±0,52 b
Ácido <i>cis</i> -cutárico	42	6.5	295;163,149,119	4,33±1,21 a	2,47±0,51 a	3,01±0,35 a
Ácido cafeico	43	7.8	179;135	78,81±3,71 a	69,82±2,61 ab	53,43±6,04 b
<i>p</i> -coumaroil-glicose-1	44	9.0	325;163,145	44,82±3,23 b	66,32±2,25 a	51,37±4,73 b
<i>p</i> -coumaroil-glicose-2	45	11.6	325;163,145	21,76±0,46 ab	27,49±1,54 a	17,21±1,87 b
Ácido <i>p</i> -cumárico	46	14.4	163;119	196,50±11,60 a	294,40±59,70 a	184,35±12,74 a
Cafeato de etila ¹	47	46.1	207;179,135	3,78±0,96 a	3,48±1,14 a	1,11±0,01 a
Cumarato de etila	48	55.8	191;163,119	39,48±12,97 a	24,63±1,55 a	54,50±17,70 a

Abreviaturas: M, miricetina; Q, quercetina; L, laricitrina; K, caempferol; S, siringetina; I, isoramnetina; glcU, glucorônido; gal, galactosídeo; glc, glucosídeo; VIOT, BRS Violeta tradicional; VIOPD, BRS Violeta pré-secagem; VIOSC, BRS Violeta chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey e teste post-hoc de Games Howell¹ quando as variâncias foram consideradas significativamente diferentes, $\alpha = 0,05$).

O vinho tradicional apresentou alta concentração de quercetina livre e o vinho elaborado pelo processo de pré-secagem (VIOPD) não diferiu de forma significativa do vinho produzido pelo processo de chapéu submerso (VIOSC) no que se refere às concentrações de flavonóis. De uma forma geral, para todos os flavonóis encontrados, exceto para a forma livre de quercetina, a falta de diferenças significativas na comparação dos diferentes processos de vinificação sugere a fraca influência do processo de pré-secagem e do chapéu submerso no conteúdo desses compostos, isto é, a secagem não influenciou de forma significativa na degradação desses compostos.

Em relação aos ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) foi observada alta concentração de ácidos *p*-cumárico e cafeico (Tabela 20, Figura 20c). Esse resultado indica forte hidrólise dos ácidos precursores desses ácidos mencionados, cutárico e caftárico, respectivamente, que, por sua vez, apresentaram concentrações mínimas, sendo considerados compostos minoritários nesses vinhos. As elevadas concentrações de ácido cafeico e *p*-cumárico nos vinhos BRS Violeta também explicam a alta concentração de seus respectivos ésteres de etila, cafeato de etila e cumarato de etila, respectivamente. Os dados referentes aos HCAD mostraram que em quase todas as comparações realizadas entre os processos de vinificação, quando as diferenças foram significativas ($P < 0,05$), a concentração dos ácidos hidroxicinâmicos e de seus derivados foi superior nos vinhos VIOPD em relação aos vinhos VIOT e VIOSC.

Esse resultado corrobora os achados de Marquez et al. (2012) que reportaram que o conteúdo de HCAD em vinhos Tempranillo e Merlot submetidos à secagem em câmara a 40 °C apresentaram diferenças significativas quando a comparação do conteúdo desses compostos foi comparada antes e após a secagem e, em quase todos os compostos detectados pertencentes a essa classe química, a concentração foi superior nos vinhos submetidos à secagem. Esses autores também mencionaram que a evaporação da água promovida pela secagem pode ter influenciado na concentração desses compostos nos vinhos submetidos a esse processo.

A concentração de ácido caftárico, *cis*-cutárico, *p*-cumárico e etil ésteres não apresentaram diferenças significativas quando os diferentes processos de vinificação foram comparados ($P > 0,05$) e, em quase todos os compostos

detectados, os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso apresentaram comportamento semelhante aos vinhos elaborados pelo tratamento tradicional.

4.4.4. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos

Catequina (C), epicatequina (EC), galato de epicatequina (ECG), proantocianidina B1 (PB1) e proantocianidina B2 (PB2) foram detectados e quantificados nos vinhos BRS Violeta, exceto a proantocianidina B4 (PB4) que não foi quantificada em todos os tratamentos avaliados e ECG que não foi encontrado nos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (Tabela 21). A ausência do galato de epicatequina nos vinhos VIOPD pode ser causada pela possível hidrólise causada pelo calor empregado no processo de pré-secagem da uva, similarmente como ocorreu com as antocianinas monoglicosiladas por reações de deglicosilação ou clivagem de ligações covalentes, previamente discutido. Não foram encontradas diferenças significativas no conteúdo de flavan-3-óis quando os processos de vinificação foram comparados e esse resultado sugere que ambos os procedimentos alternativos de vinificação não influenciaram na concentração desses compostos.

Uma possível explicação para esse resultado mencionado está no fato de existir um balanço entre ganhos e perdas. De um lado, as uvas perdem a sua integridade fisiológica durante a desidratação, o que favorece a difusão de compostos fenólicos, inclusive, flavan-3-óis, da película da uva para a polpa que, por sua vez, podem ser transferidos para o vinho durante a fermentação alcoólica, aumentando a sua concentração (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013). De outro lado, esse resultado de elevada concentração de flavan-3-óis no vinho VIOPD pode ter sido contrastado pela degradação térmica desses compostos fenólicos, o que poderia ter provocado a diminuição da concentração desses compostos.

Tabela 21. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e capacidade antioxidante determinada por radical DPPH (média \pm desvio padrão) para os vinhos BRS Violeta.

<i>Flavan-3-óis e estilbenos</i>	VIOT	VIOPD	VIOSC
<i>Monômeros e dímeros de flavan-3-óis (mg.L⁻¹)</i>	42.44 \pm 30.20 a	29.54 \pm 13.54 a	6.98 \pm 2.32 a
C	13.98 \pm 7.58 a	12.40 \pm 4.59 a	3.38 \pm 1.16 a
EC	2.02 \pm 0.77 a	2.02 \pm 0.51 a	0.56 \pm 0.08 a
ECG	0.03 \pm 0.05	NQ	0.16 \pm 0.23
PB1 ¹	19.70 \pm 16.30 a	10.17 \pm 5.71 a	2.16 \pm 0.75 a
PB2 ¹	6.75 \pm 5.59 a	4.78 \pm 2.50 a	0.87 \pm 0.31 a
PB4	NQ	NQ	NQ
<i>Caracterização estrutural das proantocianidinas</i>			
mDP	2.51 \pm 0.11 a	1.99 \pm 0.13 ab	1.63 \pm 0.19 b
% galoilação	5.90 \pm 0.64 ab	7.97 \pm 0.19 a	2.66 \pm 1.17 b
% prodelfinidina	7.53 \pm 0.93 a	4.90 \pm 0.49 a	4.57 \pm 3.19 a
<i>Estilbenos (mg.L⁻¹)</i>	0.97 \pm 0.70 a	0.66 \pm 0.18 a	0.20 \pm 0.01 a
<i>cis-resveratrol</i>	0.24 \pm 0.20 a	0.08 \pm 0.06 a	0.13 \pm 0.02 a
<i>cis-piceido</i>	0.47 \pm 0.66 a	0.43 \pm 0.11 a	0.006 \pm 0.00 a
<i>trans-piceido</i>	0.26 \pm 0.24 a	0.14 \pm 0.01 a	0.05 \pm 0.01 a
<i>Capacidade antioxidante (mmol.L⁻¹ de Trolox)</i>	21.96 \pm 1.33 a	18.51 \pm 1.90 a	15.65 \pm 1.81 a

Abreviaturas: C, catequina; EC, epicatequina; ECG, galato de epicatequina; PB1, proantocianidina B1; PB2, proantocianidina B2; PB4, proantocianidina B4; mDP, grau médio de polimerização; VIOT, BRS Violeta tradicional; VIOPD, BRS Violeta pré-secagem; VIOSC, BRS Violeta chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey e teste post-hoc de Games Howell¹ quando as variâncias resultaram significativamente diferentes, $\alpha = 0,05$). NQ: não quantificável.

O aparente balanço entre esses dois efeitos opostos podem explicar a ausência de diferenças significativas no conteúdo de flavan-3-óis nos vinhos VIOPD, quando esses foram comparados aos vinhos VIOSC e VIOT. Adicionalmente, de acordo com Ribéreau-Gayon et al. (2006), a configuração dos flavan-3-óis afeta a sua reatividade e esse fato pode estar interligado à alta estabilidade desses compostos ao calor, sendo essa uma explicação adicional para o resultado obtido.

Apesar da ausência de diferenças significativas entre os diferentes tratamentos, a concentração de flavan-3-óis do vinhos VIOSC foi inferior ao VIOT e VIOPD. Esse resultado pode ser explicado pelo limitado efeito mecânico do tratamento de chapéu submerso pela ausência de remontagem do mosto durante a fermentação alcoólica, influenciando de forma negativa na extração dos flavan-3-óis presentes nas sementes e nas películas das uvas (BOSSO et al., 2011) e esse fato também pode explicar a concentração inferior de proantocianidinas desse vinho em comparação com os vinhos tradicional e elaborado pelo processo de pré-secagem. Apesar da concentração de proantocianidinas apresentar valores inferiores aos encontrados para vinhos elaborados por uvas viníferas, esses resultados estão de acordo com os reportados por Rebello et al. (2013).

Em relação aos estilbenos, cis-resveratrol, trans-piceido e cis-piceido foram detectados e quantificados em todos os vinhos BRS Violeta, independentemente do processo de vinificação empregado. Em todos eles, a concentração total e individual desses compostos foi considerada baixa e confirmou prévios trabalhos que reportaram o déficit de produção de resveratrol da uva BRS Violeta (REBELLO et al., 2013). O conteúdo de resveratrol e suas formas glicosiladas (piceidos) tem sido correlacionados com a atividade antioxidante das uvas e dos vinhos. No entanto, vinhos que apresentam alta concentração de estilbenos ou relevante conteúdo global de compostos fenólicos nem sempre apresentam elevada capacidade antioxidante, já que tal propriedade depende do tipo de compostos fenólicos que promovem tal característica (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010).

Em uma comparação entre dois vinhos elaborados por diferentes uvas é possível observar maior capacidade antioxidante para determinado vinho que apresente menor conteúdo global de compostos fenólicos, pois quantidades

mínimas de determinados compostos podem resultar em elevada capacidade antioxidante para as amostras em questão (RIVERO-PÉREZ; MUÑIZ; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, 2007).

Os valores encontrados para a capacidade antioxidante não diferiram de forma significativa quando os processos de vinificação foram comparados ($P > 0,05$). O processo de secagem das uvas foi realizado a 60 °C e tal temperatura favoreceu as reações de escurecimento não enzimático (reação de Maillard), induzindo a formação de melanoidinas que, por sua vez, apresentam elevada capacidade antioxidante (TAGLIAZUCCHI; VERZELLONI; CONTE, 2008) e esse fator pode ser responsável pela ausência de diferenças significativas entre os tratamentos quando a atividade antioxidante dos vinhos foi comparada. O menor valor de atividade antioxidante foi observado nos vinhos VIOSC e a limitação mecânica durante a fermentação alcoólica pode ter sido responsável pela diminuição dessa propriedade, já que a ausência de remontagem pode ter influenciado negativamente na extração dos compostos fenólicos responsáveis por tal propriedade. Entretanto, os valores de atividade antioxidante dos vinhos VIOSC não diferiram de forma significativa dos demais vinhos (VIOT e VIOPD).

4.4.5. Análise sensorial

4.4.5.1. Análise sensorial descritiva

Como pode ser observado na Tabela 22, a comparação entre as diferentes tecnologias de vinificação somente promoveu diferenças significativas nos descritores matiz violeta e doçura. O vinho elaborado pelo processo de pré-secagem apresentou escores intermediários para ambos os descritores mencionados, o vinho tradicional apresentou os maiores escores para doçura e o vinho elaborado pelo processo de chapéu submerso os maiores escores para matiz violeta. Os demais descritores avaliados apresentaram semelhantes resultados. Infelizmente, a abordagem univariada mostrou inconsistente informação sobre o perfil descritivo dos vinhos e sobre a influência das diferentes tecnologias de vinificação na descrição sensorial dos vinhos BRS Violeta.

Tabela 22. Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos BRS Violeta.

Atributos sensoriais	VIOT	VIOPD	VIOSC
<i>Aparência</i>			
Intensidade de cor	8,40±0,59 a	8,41±0,60 a	8,05±0,75 a
Matiz violeta	5,26±2,85 b	6,33±2,15 ab	6,76±1,73 a
<i>Aroma</i>			
Intensidade de frutado	4,50±1,94 a	4,75±1,68 a	4,90±1,86 a
Nota de foxado	3,80±2,46 a	4,30±2,18 a	4,51±2,26 a
Intensidade de vegetal	3,50±1,65 a	3,43±2,05 a	3,66±2,17 a
Nota de geleia	4,70±2,33 a	4,88±1,94 a	5,10±1,72 a
<i>Sabor</i>			
Doçura	4,63±1,57 a	3,78±1,84 ab	3,30±1,54 b
Acidez	3,70±1,12 a	3,86±1,63 a	4,13±1,39 a
Amargor	2,51±1,98 a	3,30±2,50 a	2,95±2,04 a
Corpo	5,70±1,47 a	6,00±1,21 a	5,78±1,05 a
Estrutura	5,56±1,90 a	5,90±1,44 a	5,26±1,57 a
Sabor herbáceo	2,58±1,56 a	3,35±1,62 a	3,43±1,85 a
Adstringência	3,06±1,84 a	2,95±1,57 a	2,85±1,45 a
Pungência	5,86±1,58 a	5,95±1,16 a	5,73±1,25 a
Persistência	5,90±1,32 a	5,86±1,19 a	5,81±1,12 a

Abreviaturas: VIOT, BRS Violeta tradicional; VIOPD, BRS Violeta pré-secagem; VIOSC, BRS Violeta chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

4.4.5.2. Análise sensorial de aceitação

A análise sensorial de aceitação dos vinhos BRS Violeta foi realizada com 96 consumidores (61 mulheres - 63,54%) com idade média de 24,1 anos e desvio padrão de 6,03 anos (idade mínima de 18,0 anos e idade máxima de 56,0 anos). Do total de consumidores participantes da análise sensorial de aceitação, 18 (18,8%) alegaram consumir muito pouco vinho, 22 (22,9%) consomem pouca quantidade, 27 (28,1%) consomem ocasionalmente, 19 (19,8%) consomem moderadamente e 10 (10,4%) consomem elevada quantidade de vinho por mês.

De acordo com os resultados da Tabela 23, foi possível observar ausência de diferenças significativas em todos os atributos sensoriais de aceitação para os vinhos BRS Violeta quando os diferentes tratamentos de vinificação foram comparados ($P > 0,05$).

Tabela 23. Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação dos vinhos BRS Violeta.

Atributos sensoriais	Vinhos*		
	VIOT	VIOPD	VIOSC
Aparência	7,51±1,29 a	7,32±1,57 a	7,62±1,57 a
Aroma	5,35±1,69 a	5,08±1,90 a	5,60±1,91 a
Corpo	5,82±1,74 a	5,14±2,18 a	5,28±2,03 a
Sabor	3,42±1,95 a	3,35±2,02 a	4,00±2,11 a
Aceitação global	4,44±1,88 a	4,30±2,00 a	4,94±1,86 a
Intenção de compra	2,10±1,02 a	2,01±1,01 a	2,37±1,21 a

*VIOT: BRS Violeta tradicional, VIOPD: BRS Violeta pré-secagem, VIOSC: BRS Violeta chapéu submerso. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$). Os atributos de aparência, aroma, corpo, sabor e aceitação global foram avaliados utilizando escala de 1 a 9. A intenção de compra foi avaliada utilizando escala de 1 a 5.

De uma maneira geral, apesar da ausência de diferenças significativas, o vinho VIOSC destacou-se na aceitação de todos os atributos avaliados, exceto no atributo corpo, no qual o vinho VIOT apresentou score superior. O vinho VIOSC apresentou, também, maior intenção de compra quando comparado aos demais vinhos avaliados. Para todos os atributos sensoriais de aceitação, o vinho VIOPD apresentou escores inferiores em relação às demais amostras.

4.4.6. Análise quimiométrica

De acordo com os resultados da Análise de Componentes Principais (Figura 21), 97,02% da variação total dos dados foi explicada, sendo a componente 1 (PC1) representada por 67,61% e a componente 2 (PC2) representada por 29,41% da variação total dos dados. Os resultados da análise multivariada permitiram observar que os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (VIOPD) localizaram-se no quadrante 3 (Figura 21B) e essas amostras foram relacionadas com cumaroil-glicose e ácido *p*-cumárico, apresentando relação com os descritores de corpo, amargor e sabor herbáceo.

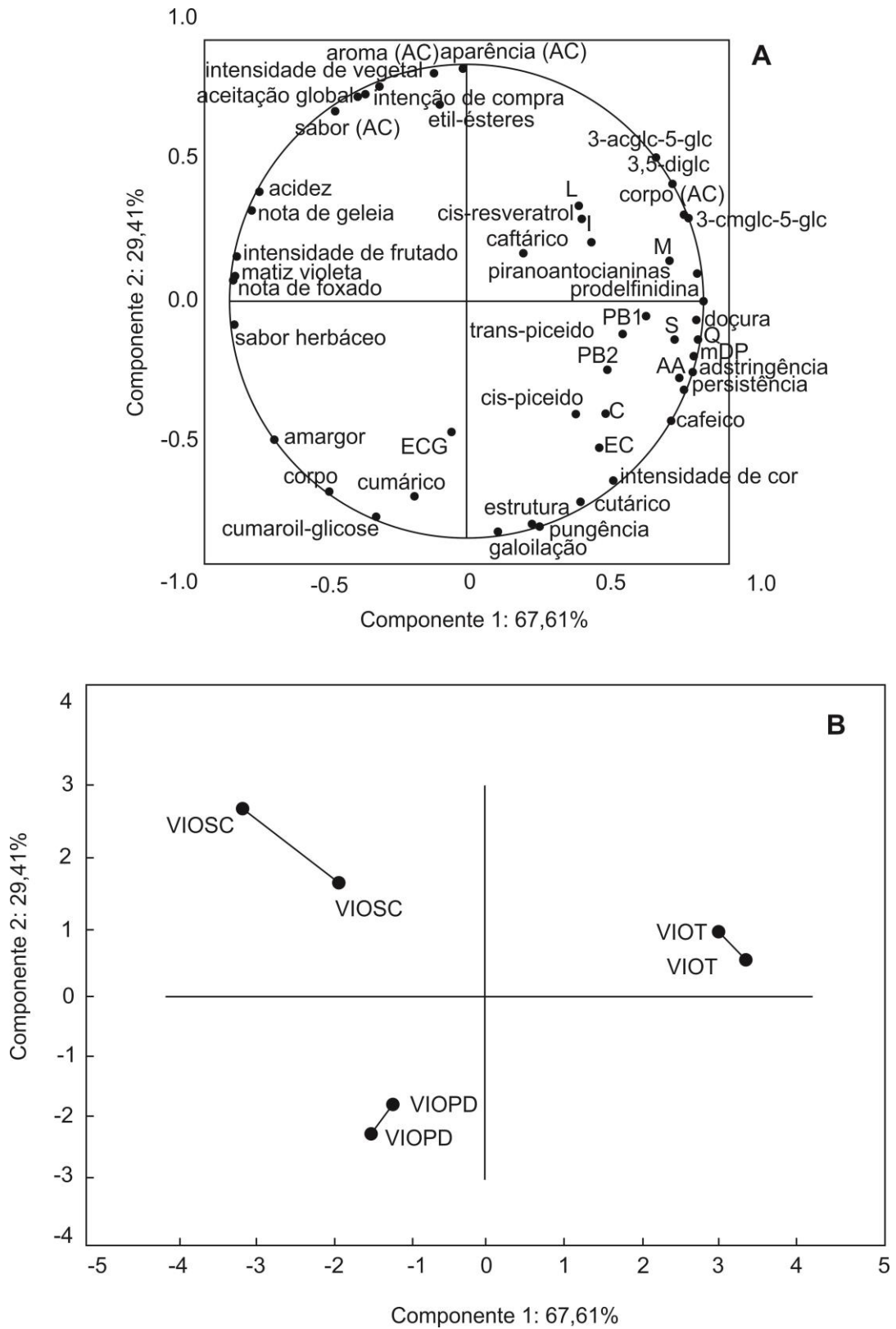
Como observado em resultados anteriores, os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem das uvas apresentam descritores sensoriais

vinculados ao amargor e ao corpo, sendo que esses descritores, normalmente, são relacionados à presença de flavan-3-óis monoméricos (CHIRA et al., 2011). No entanto, a sensação de amargor dos vinhos também pode ser ativada por ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (JACKSON, 2008), corroborando os resultados obtidos nesse estudo. O elevado escore do descritor corpo pode estar vinculado ao extrato seco do vinho VIOPD que apresentou valor superior aos demais vinhos elaborados, apesar de não apresentar diferenças significativas em relação ao vinho elaborado pelo processo tradicional.

O sabor herbáceo configura um defeito nos vinhos elaborados por uvas americanas e seus híbridos e há fortes indícios de que esse descritor esteja conectado à degradação térmica de compostos fenólicos devido à utilização de temperatura acima de 50 °C no processo de secagem das uvas. As reações de degradação térmica de compostos fenólicos são consideradas complexas e os mecanismos ainda não foram totalmente elucidados, no entanto, sabe-se que tais reações podem resultar na formação de compostos indesejáveis aos vinhos (PATRAS et al., 2010).

Os vinhos elaborados pelo processo tradicional (VIOT) localizaram-se nos quadrantes 1 e 4 e foram descritos com elevada intensidade de cor, doces, estruturados, adstringentes, pungentes e persistentes, apresentando elevada aceitação do atributo corpo. Esses vinhos apresentaram relevante relação com as antocianinas, piranoantocianinas, flavonóis quercetina, miricetina e siringetina, ácidos cutárico e cafeico, grau médio de polimerização de flavan-3-óis, percentual de galoilação, elevada concentração de prodelphinidinas e atividade antioxidante (AA). A intensidade de cor dessas amostras apresentou correlação significativa com as antocianinas e os descritores de estrutura, adstringência, pungência e persistência foram vinculados aos flavan-3-óis de elevado grau médio de polimerização (mDP) com alto percentual de galoilação, sendo esses, em sua maioria, prodelphinidinas.

Figura 21. Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos BRS Violeta (B), em duas repetições, utilizando Análise de Componentes Principais.



Esse resultado corrobora os resultados reportados por Chira et al. (2011) e Narukawa et al. (2011) que evidenciaram a participação efetiva de flavan-3-óis na sensação bucal de adstringência. Além disso, de acordo com Vidal et al. (2003), a pungência e a persistência também relacionam-se de forma efetiva com flavan-3-óis galoilados, sendo que esses compostos são responsáveis por aumentar a sensação de secura e aspereza do vinho na boca.

Adicionalmente, a elevada atividade antioxidante (AA) foi observada nos vinhos elaborados pelo processo tradicional e esse resultado corrobora os achados de Nixdorf; Herмосín-Gutiérrez (2010) que reportaram que a AA não é propriedade vinculada a somente um composto químico, mas a grande variedade de compostos fenólicos que o vinho apresenta (RIVERO-PÉREZ; MUÑIZ; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, 2007).

Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso (VIOSC) localizaram-se no quadrante 2 e foram descritos como vinhos aromáticos, apresentando elevados escores para intensidade de frutado, nota de foxado e nota de geleia, principalmente pela presença de etil ésteres derivados de ácidos hidroxicinâmicos e, de uma maneira mais relevante, de outros componentes voláteis responsáveis por determinar tais características aromáticas. Pressupõe-se que o elevado escore desses descritores foi responsável pela elevada aceitação desses vinhos no que se refere ao aroma, sabor, aceitação global e intenção de compra. Esses vinhos também apresentaram elevada aceitação da aparência, principalmente devido aos elevados escores do descritor de matiz violeta, sendo considerados vinhos atraentes aos consumidores.

4.5. Vinhos Isabel

4.5.1. Parâmetros enológicos clássicos

Os parâmetros enológicos clássicos referentes aos vinhos Isabel estão expostos na Tabela 24.

Tabela 24. Resultados (média±desvio padrão) dos parâmetros enológicos clássicos dos vinhos Isabel.

Parâmetro enológico	Vinhos		
	IT	IPD	ISC
Acidez total (g/L)	5,89±0,07 c	8,35±0,17 a	6,49±0,34 b
Acidez volátil (g/L)	0,46±0,04 b	0,55±0,07 a	0,56±0,03 a
pH	3,41±0,00 a	3,33±0,00 c	3,39±0,01 b
Teor alcoólico (% v/v)	13,26±0,42 a	12,36±0,19 b	13,08±0,29 a
Extrato seco (g/L)	20,95±0,73 b	29,16±2,05 a	21,01±0,60 b
Açúcares redutores (g/L)	2,67±0,26 b	3,94±0,38 a	3,73±0,08 a
Fenólicos totais (mg/L)	675,7±36,6 b	1191,2±80,1 a	666,7±37,7 b

Abreviaturas: IT, Isabel tradicional; IPD, Isabel pré-secagem; ISC, Isabel chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

De acordo com os resultados obtidos, todos os parâmetros enológicos clássicos apresentaram diferenças significativas quando os tratamentos de vinificação foram comparados ($P<0,05$). Os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (IPD) destacaram-se por apresentar acidez total, acidez volátil, extrato seco, açúcares redutores e teor de fenólicos total superior aos vinhos elaborados pelo processo tradicional, sendo que no caso da acidez volátil e do teor de açúcar redutor, os vinhos IPD não diferiram dos vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso (ISC). Esse resultado era esperado, visto que a secagem das uvas e a consequente evaporação da água pode ter resultado na concentração de ácidos existentes na uva e dos açúcares redutores, ocasionando o aumento significativo do extrato seco desse vinho.

O pH apresentou valores entre 3,3 e 3,4, considerados dentro dos limites desejáveis para vinhos tintos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). O extrato seco do vinho IPD pode ser considerado um valor para vinho considerado encorpado, visto que o extrato seco dos vinhos tradicional (IT) e de chapéu submerso (ISC) foram aproximadamente em torno de 20 g/L, sendo considerados leve ao paladar (JACKSON, 2008). Adicionalmente, o teor de fenólicos totais apresentou quase o dobro da concentração no vinho IPD, quando comparado aos vinhos IT e ISC e esse resultado pode ser explicado pela formação de compostos fenólicos mais estáveis e complexos à degradação térmica.

4.5.2. Perfil de antocianinas e piranoantocianinas

Em comparação aos demais vinhos estudados, os vinhos Isabel apresentaram quantidade inferior de detecção e quantificação de antocianinas, sendo detectadas somente cinco formas: peonidina e malvidina diglicosiladas, cianidina monoglicosilada e malvidina cumaroilada e cumaroilada ligada a uma glicose na posição C-5 (Tabela 25, Figura 22A).

Foram detectadas 16 diferentes tipos de piranoantocianinas, derivadas das cinco antocianidinas (cianidina, peonidina, petunidina, delphinidina e malvidina) através dos espectros de fragmentação de massa (MS e MS/MS) e espectros de absorção na região do UV-visível, sendo a maioria delas determinada pelas formas 10-(4"-hidroxifenil) (10-HP) e 10-(3", 4", dihidroxifenil) (10-DHP) (BLANCO-VEGA et al., 2011). Além dessas formas, foram observadas algumas formas derivadas da vitisina (carboxi-piranoantocianinas) com radicais não fenólicos e formas que apresentaram somente um átomo de hidrogênio ligado ao carbono C-10.

Algumas antocianinas e piranoantocianinas não foram detectadas nos vinhos produzidos pelo processo de pré-secagem (IPD) e esse resultado pode ser explicado pela degradação térmica que esses compostos podem ter sofrido ao longo do processo de secagem, já que esses compostos fenólicos apresentam certa instabilidade e são degradados com o calor (MARQUEZ et al., 2012).

As piranoantocianinas somente podem ser formadas pela reação dos ácidos hidroxicinâmicos, ou metabólitos das leveduras como o ácido pirúvico e o acetaldeído, com as antocianinas monoglicosiladas via reação de cicloadição nucleofílica com a antocianina na sua forma de cátion flavilium no carbono 4 (C-4) e a hidroxila substituinte no carbono 5 (C-5), resultando em um novo anel pirano (BLANCO-VEGA et al., 2011). Esse resultado pode explicar a não existência de antocianinas monoglicosiladas nos vinhos Isabel, sendo que elas reagiram, em sua totalidade, ao longo do processo de vinificação para formar piranoantocianinas.

Tabela 25. Perfil de antocianinas e piranoantocianinas por HPLC/MS/MS (média \pm desvio padrão) para os vinhos Isabel.

Antocianidinas e piranoantocianinas	Pico	R _t (min)	Íon molecular; íons produto (m/z)	IT	IPD	ISC
<i>Antocianinas (mg.L⁻¹)</i>				3,12 \pm 0,27	NQ	2,43 \pm 0,01
Pn-3,5diglc	1	12,6	625;463,301	1,15 \pm 0,08	NQ	1,02 \pm 0,08
Mv-3,5diglc	2	14,4	655;493,331	1,97 \pm 0,18	NQ	1,41 \pm 0,00
Cy-3glc	5	26,2	449;287	NQ	NQ	NQ
Mv-3cmglc-5glc	10	30,9	801;639,493,331	NQ	ND	NQ
Mv-3cmglc	14	36,2	639;331	NQ	ND	ND
<i>Piranoantocianinas (mg.L⁻¹)</i>				31,34 \pm 1,25 a	14,21 \pm 0,15 c	22,39 \pm 0,02 b
10-H-pyrmv-3glc	3	22,1	517;355	2,18 \pm 0,22	ND	NQ
10-carboxi-pyrpn-3glc	4	25,6	531;369	1,92 \pm 0,07	NQ	NQ
10-H-pyrpt-3glc	6	26,9	503;341	NQ	NQ	NQ
10-carboxi-pymv-3cmglc (cm-vitisina A)	7	27,9	707;399	NQ	ND	NQ
10-carboxi-pyrdp-3glc	8	28,3	533;371	1,87 \pm 0,00	ND	NQ
10DHP-pyrcy-3glc	9	29,1	581;419	NQ	NQ	NQ
10-HP-pyrcy-3glc	11	32,9	565;403	NQ	ND	NQ
10-carboxi-pyrpn-3cmglc	12	34,1	677;369	2,55 \pm 0,03 a	2,57 \pm 0,02 a	1,93 \pm 0,01 b
10DPH-pyrpn-3glc	13	34,7	595;433	2,41 \pm 0,00	NQ	1,91 \pm 0,03
10HP-pyrpn-3cfiglc	15	36,6	741;417	NQ	ND	NQ
10DHP-pyrmv-3glc	16	37,0	625;463	2,03 \pm 0,07 a	2,19 \pm 0,00 a	1,78 \pm 0,03 b
10HP-pyrpn-3glc	17	38,3	579;417	NQ	NQ	NQ
10HP-pyrmv-3glc	18	39,8	609;447	7,69 \pm 0,37 a	5,43 \pm 0,12 b	6,20 \pm 0,00 b
10DHP-pyrmv-3cmglc	19	41,5	771;463	1,89 \pm 0,08	NQ	1,80 \pm 0,00
10HP-pyrpn-3cmglc	20	42,2	725;417	5,29 \pm 0,03 a	4,01 \pm 0,04 c	4,66 \pm 0,08 b
10HP-pyrmv-3cmglc	21	42,4	755;447	4,40 \pm 0,02	NQ	4,07 \pm 0,02

Abreviaturas: Cy, cianidina; Pt, petunidina; Pn, peonidina; Mv, malvidina; 3,5-diglc, 3,5-diglucosídeo; 3-cmglc-5-glc, 3-(6"-*p*-coumaroil)-glicosídeo-5-glicosídeo; 3-glc, 3-glicosídeo; 3-cmglc, 3-(6"-*p*-coumaroil)-glicosídeo; 10-HP, 10-*p*-hidroxifenil; 10-DHP, 10-*p*-dihidroxifenil; IT, Isabel tradicional; IPD, Isabel pré-secagem; ISC, Isabel chapéu submerso; ND, não detectável; NQ, não quantificável. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

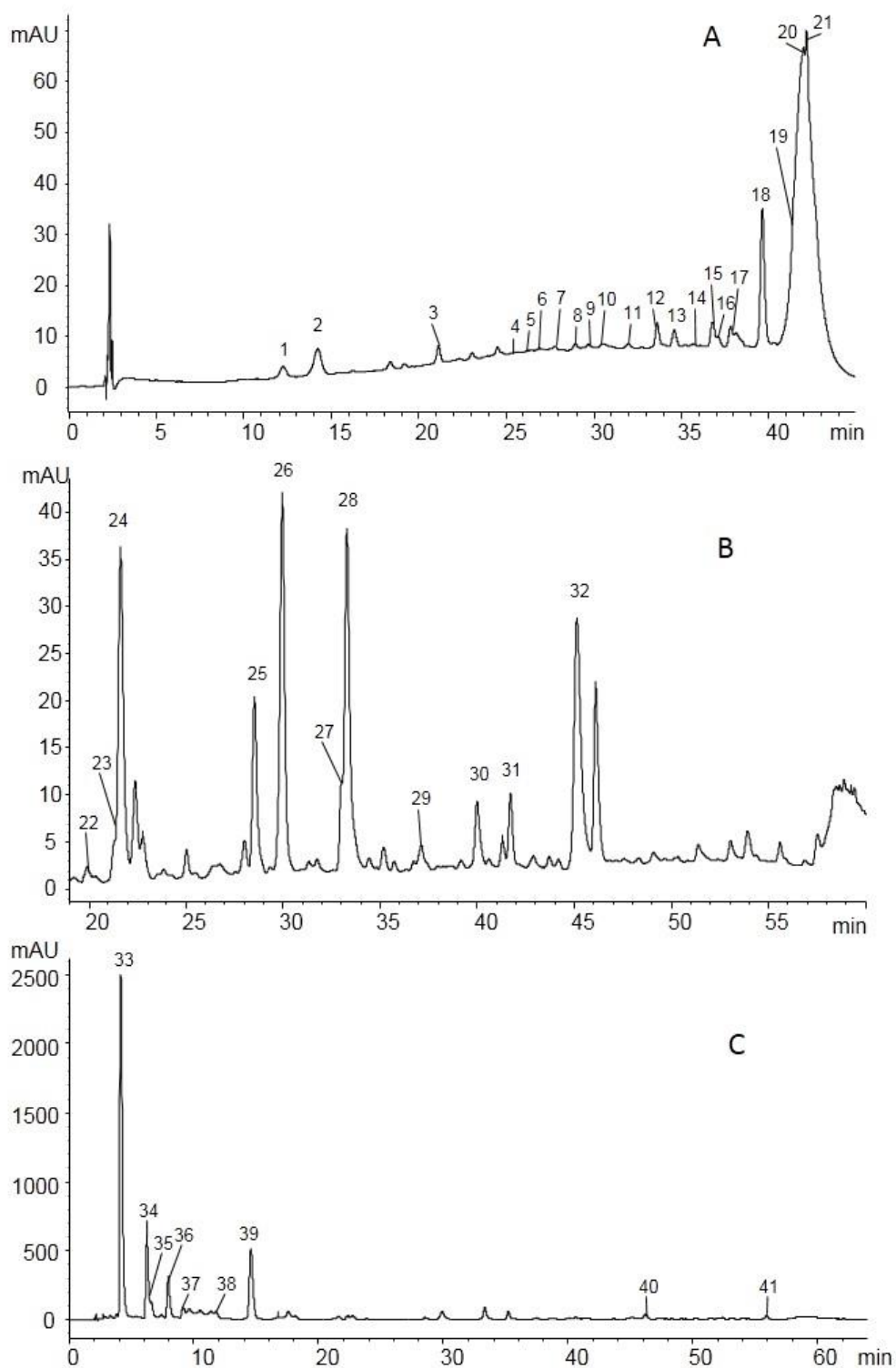
A existência de antocianinas diglicosiladas está relacionado com o fato de que tais estruturas não podem reagir com os ácidos hidroxicinâmicos ou com os metabólitos formados pelas leveduras, já que tal reação é estericamente impedida pela existência da glicose na posição 5 (C-5). Sendo assim, tal fato pode explicar a presença relevante de piranoantocianinas nos vinhos Isabel, assim como a inexistência de antocianinas monoglicosiladas, pressupondo que essas participaram de forma considerável na formação desses pigmentos complexos. Adicionalmente, é possível considerar os vinhos Isabel pobres em antocianinas, já que foram detectadas somente cinco formas, muitas delas não quantificadas.

A malvidina foi a principal antocianidina encontrada no vinho Isabel, sendo encontrada nas formas diglicosilada (mv-3,5diglc), cumaroilada (mv-3cmglc) e cumaroil-glicosilada (mv-3-cmglc-5-glc). Os vinhos elaborados pelo processo tradicional apresentaram elevada concentração para todas as antocianidinas e piranoantocianinas que foram identificadas e o processo de chapéu submerso apresentou as menores concentrações para tais compostos químicos. Uma possível explicação para esse resultado está vinculada à limitação mecânica existente no período de maceração do vinho, ou seja, a ausência de remontagens foi responsável por limitar a extração dos compostos fenólicos existentes nas películas das uvas para o vinho (BOSSO et al., 2011).

Em todas as antocianinas e piranoantocianinas detectadas, os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (IPD) apresentaram reduzida concentração quando comparadas às concentrações observadas nos vinhos tradicional (IT) e elaborados pelo processo de chapéu submerso (ISC). Em alguns casos, não foi possível quantificar e nem detectar esses compostos. Para os vinhos Isabel, o calor surtiu efeito consideravelmente negativo na concentração dos compostos fenólicos da classe das antocianinas e piranoantocianinas.

Figura 22. Cromatograma HPLC-DAD, detecção a 520 nm para antocianinas (A), 360 nm para flavonóis (B) e 320 nm para ácidos hidroxicínâmicos e seus derivados (C) dos vinhos tintos Isabel.

Para descrição dos picos, ver Tabelas 25 e 26.



A formação das formas hidroxifenil-piranoantocianinas (10-HP e 10-DHP) nas primeiras etapas do tratamento de pré-secagem das uvas, anterior ao efeito da degradação térmica pode ter explicado a ausência de antocianinas monoglicosiladas nos vinhos Isabel. O aumento da temperatura no processo de pré-secagem pode acelerar a hidrólise do ácido cutárico (ácido cumárico + tartárico), liberando, assim, ácido *p*-cumárico que, por sua vez, reagiu com as antocianinas formando as hidroxifenil-piranoantocianinas (RENTZSCH; SCHWARZ; WINTERHALTER, 2007).

4.5.3. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD)

As formas 3-glicosídeo das seis agliconas, quercetina (Q), miricetina (M), laricitrina (L), siringtonina (S), isoramnetina (I) e caempferol (K), foram detectadas nos vinhos Isabel (Tabela 26, Figura 22B). Foram detectadas as formas 3-glucorônido (3-glcU) de miricetina (M-3glcU) e quercetina (Q-3glcU), as formas galactosídeo (gal) de miricetina (M-3gal), quercetina (Q-3gal) e caempferol (K-3gal) e a forma livre de quercetina. A forma 3-glicosídeo de quercetina apresentou maior concentração nos vinhos Isabel, seguida das formas 3-glicosídeo de miricetina e quercetina livre. Esse resultado corroborou os achados de Nixdorf; Herмосín-Gutiérrez et al. (2010) que reportaram alta concentração de miricetina 3-glicosídeo (M-3glc) em vinhos Isabel. Os mesmos autores reportaram a inexistência de glicosídeo e galactosídeo de caempferol, sendo esse resultado discordante do observado na Tabela 26.

O fato de Nixdorf; Herмосín-Gutiérrez (2010) mencionarem a inexistência de formas glicosiladas de caempferol está determinada pela hidrólise que o vinho Isabel pode ter sofrido ao longo do processo de vinificação, já que esses mesmos autores detectaram a presença de caempferol na sua forma livre. Esse resultado não foi possível de ser visualizado no presente estudo, já que a forma livre de caempferol não foi detectada e somente as formas glicosilada e galactosilada foram detectadas.

Tabela 26. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média \pm desvio padrão) para os vinhos tintos Isabel.

<i>Flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	IT	IPD	ISC
<i>Flavonóis (mg.L⁻¹)</i>				27,94 \pm 4,31 a	5,37 \pm 1,51 b	17,21 \pm 0,58 a
M-3-glcU	22	20.0	493;317	0,47 \pm 0,04	NQ	NQ
M-3-gal	23	20.4	479;317	NQ	NQ	NQ
M-3-glc	24	21.5	479;317	5,88 \pm 0,13 a	0,51 \pm 0,00 b	1,29 \pm 0,41 b
Q-3-gal	25	28.2	463;301	0,50 \pm 0,00 b	2,14 \pm 0,11 a	0,30 \pm 0,06 b
Q-3-glcU	26	28.6	477;301	3,03 \pm 0,01	NQ	1,73 \pm 0,01
Q-3-glc	27	29.9	463;301	7,51 \pm 0,38 a	1,26 \pm 0,00 b	5,37 \pm 1,01 ab
L-3-glc	28	33.0	493;331	3,84 \pm 0,84 a	0,58 \pm 0,56 b	3,81 \pm 0,01 a
K-3-gal	29	33.2	447;285	NQ	NQ	0,27 \pm 0,08
K-3-glc	30	37.0	447;285	0,55 \pm 0,24	NQ	0,45 \pm 0,00
I-3-glc	31	40.1	477;315	1,27 \pm 0,22 a	0,64 \pm 0,17 a	0,87 \pm 0,28 a
S-3-glc	32	41.6	507;345	1,10 \pm 0,00 a	0,35 \pm 0,00 a	0,84 \pm 0,16 a
Q livre	33	45.0	301	4,30 \pm 2,71 a	0,67 \pm 0,10 a	2,23 \pm 0,47 a

Tabela 26. Perfil de flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) determinado por HPLC/MS/MS (média \pm desvio padrão) para os vinhos tintos Isabel (continuação).

<i>Flavonóis e ácidos hidroxicinâmicos</i>	Pico	R _t (min)	Íon molecular; Íons produto (m/z)	IT	IPD	ISC
<i>Ácidos hidroxicinâmicos e derivados (HCAD) (mg.L⁻¹)</i>				286,81 \pm 12,03 a	72,40 \pm 30,30 b	280,50 \pm 14,50 a
Ácido caftárico ¹	34	4.1	311;179,149,135	229,35 \pm 6,22 a	29,20 \pm 39,70 a	235,88 \pm 0,82 a
Ácido <i>trans</i> -cutárico	35	6.1	295;163,149,119	16,47 \pm 0,35	NQ	12,76 \pm 0,00
Ácido <i>cis</i> -cutárico	36	6.5	295;163,149,119	1,27 \pm 0,00	NQ	8,14 \pm 10,16
Ácido cafeico ¹	37	7.8	179;135	11,12 \pm 0,77 a	21,97 \pm 8,34 a	9,04 \pm 0,05 a
<i>p</i> -coumaroil-glicose-1	38	9.0	325;163,145	1,73 \pm 0,03 a	1,34 \pm 0,47 a	1,67 \pm 0,00 a
<i>p</i> -coumaroil-glicose-2	39	11.6	325;163,145	0,61 \pm 0,27 a	0,52 \pm 0,47 a	0,80 \pm 0,08 a
Ácido <i>p</i> -cumárico ¹	40	14.4	163;119	24,66 \pm 6,00 a	19,35 \pm 1,04 a	17,42 \pm 3,56 a
Cafeato de etila	41	46.1	207;179,135	0,66 \pm 0,70	NQ	0,01 \pm 0,00
Cumarato de etila	42	55.8	191;163,119	1,55 \pm 1,35	NQ	1,14 \pm 0,47

Abreviaturas: M, miricetina; Q, quercetina; L, laricitrina; K, caempferol; S, siringetina; I, isoramnetina; glcU, glucurônido; gal, galactosídeo; glc, glicosídeo; IT, Isabel tradicional; IPD, Isabel pré-secagem; ISC, Isabel chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey e teste post-hoc de Games Howell¹ quando as variâncias são diferentes; $\alpha = 0,05$).

Na maioria dos flavonóis encontrados nas amostras de vinho Isabel, quando as diferenças observadas foram significativas ($P < 0,05$), os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (IPD) apresentaram menor concentração e esse fato remete à ação de degradação pelo calor. As formas isoramnetina, siringetina e quercetina livre mostraram-se menos afetadas pela ação térmica, sendo que a concentração desses compostos mencionados não diferiu de forma significativa dos tratamentos tradicional e de chapéu submerso. Em todos os flavonóis detectados, a concentração observada para os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso não diferiu de forma significativa da concentração observada nos vinhos elaborados pelo processo tradicional.

Em relação aos ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados (HCAD) foi observada alta concentração de ácidos caftárico e *p*-cumárico (Tabela 26, Figura 22C). Esse resultado indica forte hidrólise do ácido cutárico, resultando em concentrações relevantes do seu produto, o ácido *p*-cumárico, que, por sua vez, foi responsável pela reação com antocianinas para formar as hidroxifenil-piranoantocianinas. Os dados referentes aos HCAD mostraram que os processos de vinificação não afetaram de forma significativa a concentração dos ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados, quando esses foram avaliados de forma pontual, no entanto, tal diferença aparece quando a concentração total desses compostos foi comparada, evidenciando menor concentração para os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem.

Esse resultado não corrobora com os resultados obtidos nos vinhos BRS Violeta que, por sua vez, apresentaram maior concentração de HCAD para os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem. Além disso, o resultado obtido nesse estudo também está em desacordo com os achados de Marquez et al. (2012) que reportaram que o conteúdo de HCAD em vinhos Tempranillo e Merlot submetidos à secagem em câmara a 40 °C apresentaram diferenças significativas e, em quase todos os ácidos hidroxicinâmicos e derivados, a concentração foi superior nos vinhos submetidos à secagem. A discordância desses resultados pode estar vinculada a alguma característica intrínseca à uva, principalmente no que se refere à espessura da película, já que tal espessura é maior nas uvas BRS Violeta quando comparada às uvas Isabel (CAMARGO; MAIA; NACHTIGAL, 2005). A maior espessura da película pode ter protegido os ácidos presentes na polpa da uva BRS Violeta durante a secagem, formando

uma barreira mecânica à degradação térmica, expondo-os de maneira menos relevante ao calor utilizado na secagem, evitando a degradação desses ácidos.

4.5.4. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos

Catequina (C), epicatequina (EC), galato de epicatequina (ECG), proantocianidina B1 (PB1), proantocianidina B2 (PB2) e proantocianidina B4 (PB4) foram detectados e quantificados nos vinhos Isabel (Tabela 27). Não foram encontradas diferenças significativas no conteúdo de flavan-3-óis quando os processos de vinificação foram comparados e esse resultado sugere que ambos os procedimentos alternativos de vinificação não influenciaram na concentração desses compostos. É possível observar que a concentração total de flavan-3-óis dos vinhos tradicional e pré-secagem foi consideravelmente superior à concentração total observada para os vinhos elaborados por chapéu submerso, no entanto, tal diferença não foi significativa ($P > 0,05$).

A falta de diferenças significativas nas concentrações da maioria dos flavan-3-óis, quando os tratamentos foram comparados, deve-se à existência de um balanço entre ganhos e perdas, ou seja, as uvas perdem a sua integridade fisiológica durante a desidratação, aumentando a difusão de flavan-3-óis, da película para a polpa, sendo esses transferidos para o vinho durante a fermentação alcoólica, aumentando a sua concentração (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GÁNDARA, 2013). De outro lado, a concentração de flavan-3-óis no vinho IPD pode ter sido influenciada pela degradação térmica desses compostos, pressupondo a diminuição da concentração desses compostos.

O aparente balanço entre esses dois efeitos opostos pode explicar a ausência de diferenças significativas no conteúdo de flavan-3-óis nos vinhos IPD, quando esses foram comparados aos vinhos ISC e IT. Adicionalmente, de acordo com Ribéreau-Gayon et al. (2006), a configuração dos flavan-3-óis afeta a sua reatividade e esse fato pode estar interligado à alta estabilidade desses compostos ao calor, sendo essa uma explicação adicional para o resultado obtido.

Tabela 27. Perfil de flavan-3-óis e estilbenos determinado por HPLC-ESI-MS/MS (MRM) e capacidade antioxidante determinada por radical DPPH (média ± desvio padrão) para os vinhos Isabel.

<i>Flavan-3-óis e estilbenos</i>	IT	IPD	ISC
<i>Monômeros e dímeros de flavan-3-óis (mg.L⁻¹)¹</i>	52,66±2,49 a	56,00±72,00 a	2,09±0,28 a
C ¹	37,70±1,23 a	39,90±51,20 a	1,54±0,20 a
EC ¹	7,79±0,44 a	9,05±11,79 a	0,36±0,10 a
ECG	0,30±0,17 a	0,71±0,72 a	0,02±0,02 a
PB1 ¹	4,40±0,65 a	4,04±5,38 a	0,10±0,06 a
PB2	2,07±0,03 a	1,87±2,39 a	0,05±0,00 a
PB4	0,37±0,02 a	0,37±0,53 a	0,00±0,00 a
<i>Conteúdo total de proantocianidinas (mg.L⁻¹)¹</i>	49,00±4,84 a	87,40±105,00 a	8,25±1,44 a
mDP	1,18±0,01 a	1,12±0,06 a	1,07±0,01 a
% galoilação	4,01±1,00 a	6,94±1,37 a	4,10±1,50 a
% prodelfinidina	0,69±0,21 a	0,06±0,09 b	0,00±0,00 b
<i>Estilbenos (mg.L⁻¹)¹</i>	2,06±0,73 a	3,18±2,42 a	0,87±0,05 a
<i>cis-resveratrol</i>	0,32±0,17 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a
<i>cis-piceido¹</i>	1,30±0,57 a	2,31±2,37 a	0,36±0,06 a
<i>trans-piceido</i>	0,43±0,02 b	0,86±0,04 a	0,51±0,01 b
<i>Capacidade antioxidante (mmol.L⁻¹ de Trolox)¹</i>	1,45±0,02 a	2,01±1,36 a	0,39±0,29 a

Abreviaturas: C, catequina; EC, epicatequina; ECG, galato de epicatequina; PB1, proantocianidina B1; PB2, proantocianidina B2; PB4, proantocianidina B4; mDP, grau médio de polimerização; IT, Isabel tradicional; IPD, Isabel pré-secagem; ISC, Isabel chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey e teste post-hoc de Games Howell¹ quando as variâncias são diferentes, $\alpha=0,05$).

Apesar da ausência de diferenças significativas entre os diferentes tratamentos, a concentração de flavan-3-óis dos vinhos ISC foi inferior ao IT e IPD. A reduzida concentração desses compostos dos vinhos ISC pode ser explicada pelo limitado efeito mecânico do tratamento de chapéu submerso, já que esse tratamento não possibilitou a remontagem do mosto durante a fermentação alcoólica, fato que poderia ter contribuído para a minimização da extração dos flavan-3-óis presentes nas sementes e nas películas das uvas (BOSSO et al., 2011).

Em relação aos estilbenos, cis-resveratrol, trans-piceido e cis-piceido foram detectados e quantificados em todos os vinhos Isabel, independentemente do processo de vinificação empregado. A detecção e quantificação desses compostos também foi encontrada em trabalho prévio de Yamamoto et al. (2015). Em todos esses compostos, a concentração total e individual foi considerada baixa, principalmente a concentração de cis-resveratrol (menor de 1 mg/L) e também confirmou os resultados reportados por Yamamoto et al. (2015), confirmando a pressuposição de que a uva Isabel apresenta déficit de produção de resveratrol.

O conteúdo de resveratrol e suas formas glicosiladas (piceidos) tem sido correlacionados com a atividade antioxidante das uvas e dos vinhos (YAMAMOTO et al., 2015). No entanto, não foram observadas diferenças significativas na atividade antioxidante quando os vinhos foram comparados em relação aos diferentes tratamentos. Esse resultado indica que a capacidade antioxidante de um vinho não está diretamente relacionada ao conteúdo de estilbenos, mas ao conteúdo global de compostos fenólicos que o vinho apresenta (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010). Essa pressuposição apresenta certa relevância, pois esperava-se que os vinhos submetidos à pré-secagem apresentassem menor capacidade antioxidante devido à ação do calor e à degradação térmica de inúmeros compostos fenólicos. No entanto, tal resultado não foi visualizado, pois o processo de secagem das uvas foi realizado a 60 °C e tal temperatura favoreceu as reações de escurecimento não enzimático (reação de Maillard), induzindo a formação de melanoidinas que, por sua vez, apresentam elevada capacidade antioxidante (TAGLIAZUCCHI; VERZELLONI; CONTE, 2008).

Apesar de não existir diferenças significativas na atividade antioxidante entre os tratamentos de vinificação, o menor valor foi observado nos vinhos ISC e a limitação mecânica durante a fermentação alcoólica pode ter sido responsável pela diminuição dessa propriedade (BOSSO et al., 2011).

4.5.5. Análise sensorial

4.5.5.1. Análise sensorial descritiva

Como pode ser observado na Tabela 28, a comparação entre as diferentes tecnologias de vinificação promoveram diferenças significativas nos descritores de aparência (intensidade de cor e matiz violeta) e em três descritores de sabor (doçura, acidez e amargor).

Tabela 28. Perfil sensorial descritivo (média±desvio padrão) para os vinhos Isabel.

Atributos sensoriais	IT	IPD	ISC
<i>Aparência</i>			
Intensidade de cor	4,65±0,90 a	3,33±1,23 b	4,28±0,93 a
Matiz violeta	2,61±1,66 a	1,31±1,80 b	2,26±1,81 ab
<i>Aroma</i>			
Intensidade de frutado	4,71±1,76 a	3,50±1,97 a	4,35±2,23 a
Nota de foxado	3,31±2,21 a	2,93±2,32 a	3,30±2,02 a
Intensidade de vegetal	1,45±1,44 a	1,81±1,74 a	1,53±1,31 a
Nota de geleia	3,56±2,00 a	3,55±2,14 a	3,96±2,32 a
<i>Sabor</i>			
Doçura	3,38±1,37 a	2,33±1,42 b	2,95±1,36 ab
Acidez	4,20±1,18 b	5,28±1,61 a	4,20±1,43 b
Amargor	1,35±1,49 b	2,80±2,20 a	1,08±1,28 b
Corpo	4,66±1,33 a	3,95±1,24 a	4,55±1,27 a
Estrutura	4,00±1,51 a	3,25±1,72 a	3,58±1,70 a
Sabor herbáceo	1,80±1,40 a	2,43±1,51 a	1,61±1,18 a
Adstringência	1,70±1,54 a	1,96±1,51 a	1,36±1,23 a
Pungência	5,01±1,35 a	4,50±1,39 a	5,08±1,03 a
Persistência	4,86±1,51 a	4,26±1,51 a	4,90±1,46 a

Abreviaturas: IT, Isabel tradicional; IPD, Isabel pré-secagem; ISC, Isabel chapéu submerso. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$).

Nos descritores de aparência e doçura, os vinhos IPD apresentaram menores escores quando comparados aos vinhos IT e ISC. No entanto, para os descritores de acidez e amargor, os vinhos submetidos à pré-secagem (IPD) apresentaram escores superiores às demais amostras. Para os outros atributos, os tratamentos diferenciados não influenciaram de forma significativa, não havendo diferenças relevantes entre os escores.

4.5.5.2. Análise sensorial de aceitação

A análise sensorial de aceitação dos vinhos Isabel foi realizada com 96 consumidores (61 mulheres - 63,54%) com idade média de 24,1 anos e desvio padrão de 6,03 anos (idade mínima de 18,0 anos e idade máxima de 56,0 anos). Do total de consumidores participantes da análise sensorial de aceitação, 18 (18,8%) alegaram consumir muito pouco vinho, 22 (22,9%) consomem pouca quantidade, 27 (28,1%) consomem ocasionalmente, 19 (19,8%) consomem moderadamente e 10 (10,4%) consomem elevada quantidade de vinho por mês.

De acordo com os resultados da Tabela 29, foi possível observar a presença de diferenças significativas em quatro atributos sensoriais de aceitação, sendo eles: aparência, aroma, sabor e aceitação global. Para todos esses atributos mencionados, os vinhos IPD foram os que apresentaram menores escores e esse resultado pode estar vinculado à descrição desses vinhos de acordo com a análise univariada (Tabela 28), ou seja, a elevada acidez e o elevado amargor dos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem (IPD) podem ter sido responsáveis por determinar a baixa aceitação nos atributos acima mencionados.

A aceitação de corpo e a intenção de compra não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) quando os diferentes tratamentos de vinificação foram comparados.

Tabela 29. Resultados (média±desvio padrão) da análise sensorial de aceitação dos vinhos Isabel utilizando escala com escores de 1 a 9.

Atributos sensoriais	Vinhos*		
	IT	IPD	ISC
Aparência	5,89±1,69 a	4,46±1,94 b	6,33±1,75 a
Aroma	6,01±1,82 a	5,16±1,81 b	6,39±1,71 a
Corpo	5,51±1,97 a	5,28±2,20 a	5,62±1,89 a
Sabor	4,96±2,01 a	3,92±2,21 b	5,12±2,35 a
Aceitação global	5,33±1,86 ab	4,48±2,00 b	5,53±2,08 a
Intenção de compra (escala 1-5)	2,69±1,12 a	2,25±1,13 a	2,69±1,27 a

*IT: Isabel tradicional, IPD: Isabel pré-secagem, ISC: Isabel chapéu submerso. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (ANOVA, teste post-hoc de Tukey, $\alpha=0,05$). Os atributos de aparência, aroma, corpo, sabor e aceitação global foram avaliados utilizando escala de 1 a 9. A intenção de compra foi avaliada utilizando escala de 1 a 5.

4.5.6. Análise quimiométrica

De acordo com os resultados da Análise de Componentes Principais (Figura 23), 87,24% da variação total dos dados foi explicada, sendo a componente 1 representada por 63,19% da totalidade da variação e a componente 2 representada por 24,05%. A componente 1 permitiu observar diferenças entre os vinhos elaborados pelos processos tradicional e chapéu submerso em comparação aos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem, e a componente 2 permitiu observar a diferença existente entre os processos tradicional e de chapéu submerso.

A avaliação quimiométrica dos vinhos Isabel permitiu analisar a relação entre os descritores e atributos sensoriais e os diferentes compostos químicos avaliados. Nesse caso, a relação entre as variáveis resultante da abordagem multivariada foi realizada por meio da análise por quadrantes. Desse modo, observou-se que as variáveis que apresentaram elevada significância e localizaram-se nos quadrantes 1 e 4 foram relacionadas de forma significativa com os vinhos elaborados pelos processo de pré-secagem (IPD). As variáveis localizadas no quadrante 2 apresentaram relevante associação com os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso (ISC) e as localizadas no

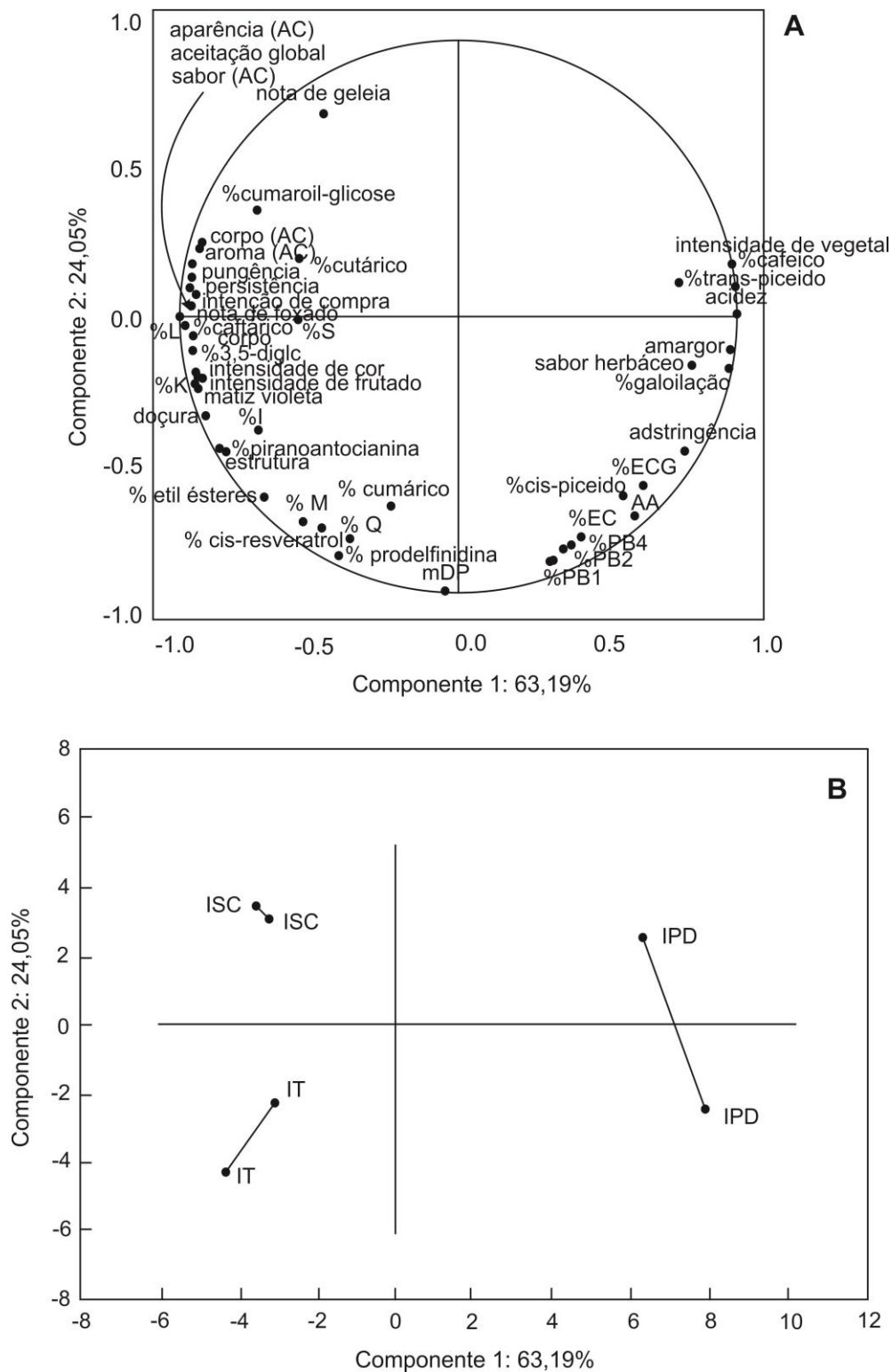
quadrante 3 apresentaram relação significativa com os vinhos elaborados pelo processo tradicional (IT).

Sendo assim, os vinhos IPD relacionaram-se de forma concreta com os seguintes compostos químicos: ácido cafeico, flavan-3-óis catequina, epicatequina, galato de epicatequina, proantocianidinas B1, B2 e B4, estilbenos glicosilados (piceidos), flavan-3-óis galoilados (%galoilação) e apresentaram elevada atividade antioxidante (AA). Adicionalmente, os vinhos IPD relacionaram-se com os descritores de acidez, intensidade de vegetal, amargor, sabor herbáceo e adstringência. De acordo com Chira et al. (2011), o amargor dos vinhos está diretamente relacionado com os flavan-3-óis monoméricos, ao passo que a adstringência está relacionada de forma mais significativa com os polímeros de flavan-3-óis. Tais relações foram possíveis de serem observadas nos vinhos IPD.

O amargor é considerado um gosto básico e, assim como a adstringência, é definido pelas interações dos receptores celulares da boca com os compostos fenólicos, principalmente flavan-3-óis. Os flavan-3-óis com radicais galoilados em sua estrutura contribuem de forma mais acentuada para o amargor do vinho do que para a adstringência (BROSSAUD; CHEYNIER; NOBLE, 2001; NARUKAWA et al., 2011). Assim, os resultados obtidos pela análise quimiométrica corroboram os resultados reportados por esses autores.

O sabor herbáceo, que constitui um defeito nos vinhos elaborados por uvas americanas e híbridas, pode estar vinculado a uma característica intrínseca da uva utilizada na vinificação (DE CASTILHOS et al., 2015a); no entanto, tal sensação pode ser explicada por mecanismos de degradação térmica de compostos fenólicos que utilizam temperaturas acima de 50 °C (PATRAS et al., 2010). Os mecanismos de degradação térmica de compostos fenólicos são considerados complexos o ponto de vista químico e ainda não foram explorados, entretanto, sabe-se que esses mecanismos podem resultar na formação de compostos que induzem a sensação de sabor e aroma vegetal e essas características influenciam negativamente na qualidade final do vinho.

Figura 23. Projeção do perfil fenólico e dos atributos sensoriais (A) e das amostras de vinhos Isabel (B), em duas repetições, utilizando Análise de Componentes Principais.



A atividade antioxidante (AA) apresentou-se no mesmo quadrante dos vinhos IPD e, além de estar vinculada aos estilbenos, apresentou forte relação com os monômeros e dímeros de flavan-3-óis, além de mostrar correlação significativa com os flavan-3-óis galoilados, como previamente reportado por De Castilhos et al. (2015a,b). Além disso, corrobora-se o exposto por Nixdorf; Hermosín-Gutiérrez (2010) que reportaram que a AA não é diretamente relacionada a um composto químico ou a uma classe fenólica isolada, mas é diretamente relacionada com a variedade de compostos fenólicos existente na amostra. De uma forma geral, como o processo de secagem das uvas foi realizado a uma temperatura de 60 °C, as reações de escurecimento não enzimático (Maillard) foram mais efetivas que as reações de oxidação enzimática, já que enzimas como a polifenoloxidase (PPO) são inativadas a 50 °C, possibilitando a formação de compostos complexos de coloração marrom chamados de melanoidinas. Esses compostos, além dos compostos químicos da classe fenólica, também apresentam atividade antioxidante, pressupondo a sua real contribuição para a elevada AA nos vinhos IPD (MARQUEZ et al., 2012; DE CASTILHOS et al., 2015a,b).

Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso (ISC) se correlacionaram de forma significativa com ácido cutárico e *p*-cumaroil-glicose, que são ésteres do ácido cutárico (ácido cumárico + ácido tartárico). Esses vinhos mostraram forte correlação com os descritores de nota de geleia, pungência e persistência, além de serem considerados os mais aceitos pelos consumidores em todos os atributos avaliados. A elevada aceitação desses vinhos pode ser observada principalmente pela elevada persistência e pungência desses vinhos, já que a correlação entre esses descritores e os atributos de aceitação foi elevada ($0,964 < r < 0,999$; $P < 0,001$).

De acordo com Jackson (2009), o antranilato de metila, um éster responsável pelo aroma frutado e foxado característico dos vinhos elaborados pelas uvas americanas e seus híbridos, apresenta forte relação direta com a pungência desses vinhos, ou seja, quanto maior a quantidade de antranilato de metila, maior será a pungência dos vinhos. A persistência desses vinhos pode estar vinculada à pungência, já que ambos os descritores apresentaram forte correlação ($r = 0,998$; $P < 0,001$). Gonzálo-Diago; Dizy; Fernández-Zurbano

(2014) reportaram que a persistência do vinho pode estar associada à presença de ácidos quando o vinho apresentar escores baixos de amargor e adstringência, sendo uma possível explicação para a associação entre a persistência e os HCAD, já que esses vinhos apresentaram escores baixos de amargor e adstringência.

Outro resultado importante referente ao vinho ISC está vinculado à relação inversa entre pungência e amargor (COMETTO-MUÑIZ et al., 1987), ou seja, vinhos com elevado amargor apresentam reduzida pungência. Esse resultado foi possível de ser observado, já que o descritor de amargor, relacionado aos vinhos IPD, localizou-se em quadrante contrário ao quadrante do descritor pungência, referente aos vinhos ISC, corroborando os resultados observados pelos autores mencionados.

Os vinhos elaborados pelo processo tradicional (IT) relacionaram-se de forma relevante com antocianinas 3,5-diglicosiladas, piranoantocianinas, flavonóis miricetina, quercetina, laricitrina, isoramnetina e caempferol, ácidos caftárico e *p*-cumárico, etil ésteres, cis-resveratrol, grau médio de polimerização (mDP), prodelfinidinas e os descritores de intensidade de cor, matiz violeta, doçura, corpo, estrutura, intensidade de frutado, nota de foxado e intenção de compra. A elevada intensidade de cor e matiz violeta foram relacionadas de forma relevante com as antocianinas diglicosiladas e, em menor instância, com as piranoantocianinas, já que essas apresentam coloração vermelho alaranjada (BLANCO-VEGA et al., 2011). Os resultados obtidos corroboram com os achados de Tecchio; Miele; Rizzon (2007) que reportaram a relação entre a intensidade de cor e a estrutura de vinhos elaborados pela uva Bordô.

Pressupõe-se que a sensação bucal de corpo relacionou-se diretamente com o conteúdo alcoólico, glicerol e açúcares redutores, mas também com compostos químicos da classe dos ácidos hidroxicinâmicos, como os ácidos caftárico e *p*-cumárico e compostos fenólicos da classe dos flavan-3-óis, sendo as prodelfinidinas as mais relevantes (JACKSON, 2008). Assim como o corpo, a estrutura dos vinhos também pode ser explicada por determinados tipos de flavan-3-óis e pelo grau médio de polimerização (mDP) desses compostos, sendo que quanto maior o mDP, mais estruturado será o vinho (CHIRA et al., 2011).

Pressupõe-se que os descritores de aroma, intensidade de frutado e nota de foxado, correlacionaram-se de forma direta com o descritor doçura, sendo esses aromas determinados principalmente por ésteres que contribuem para o aroma dos vinhos jovens. A influência desses ésteres é efêmera, já que esses compostos são hidrolisados em suas formas alcoólicas ou ácidas durante o armazenamento do vinho (JACKSON, 2009). De qualquer forma, supõe-se que a intensidade de aroma frutado e foxado e a doçura, além dos descritores de aparência, foram responsáveis pela elevada intenção de compra dessas amostras junto aos consumidores. Vale ressaltar que os vinhos IT apresentaram a maior concentração de cis-resveratrol quando comparado aos vinhos elaborados pelos tratamentos alternativos, no entanto, tal concentração não mostrou correlação significativa com a atividade antioxidante (AA), tornando forte a evidência de que tal propriedade está diretamente relacionada com determinados tipos de compostos fenólicos e com a variedade dos mesmos (NIXDORF; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2010; RIVERO-PÉREZ; MUÑIZ; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, 2007).

Os resultados da análise quimiométrica permitiram observar que os vinhos IPD foram descritos como ácidos, amargos, estruturados, adstringentes e com sabor herbáceo basicamente pela relação com os monômeros e dímeros de flavan-3-óis, mostrando forte relação adicional com flavan-3-óis galoilados. Além disso, essas amostras apresentaram elevada atividade antioxidante devido, principalmente, à elevada concentração de flavan-3-óis e estilbenos glicosilados (piceidos), além de promover relação com a atividade antioxidante das melanoidinas, produto das reações de escurecimento não enzimático. Os vinhos ISC apresentaram a maior aceitação junto aos consumidores e pressupõe-se que tal aprovação seja vinculada à nota de geleia desses vinhos, assim como a elevada pungência e persistência na boca. Vinhos IT apresentaram descrição de coloração intensa e aromáticos com notas frutadas, além de encorpados e estruturados e essas características foram vinculadas às antocianinas, ésteres derivados de álcoois e ácidos, e prodelfinidinas com elevado grau médio de polimerização (mDP), respectivamente.

5. Conclusões

A partir dos resultados obtidos nesse estudo foi possível descrever as principais conclusões:

- Foi possível detectar um possível novo composto da classe das antocianinas nos vinhos Bordô e BRS Carmem. A detecção por HPLC-ESI-MS/MS mostrou que se trata de uma possível malvidina 3,5-dicumaroilada, ou seja, com dois radicais cumaroilados ligados nas posições 3 e 5 da antocianidina. Esse composto deve ser estudado com cuidado, pois eluiu no final da coluna cromatográfica e coeluiu com outros compostos. A descoberta de um novo composto é interessante do ponto de vista científico e tecnológico, já que essa descoberta abre um novo leque de possibilidades no que concerne a sua pontual capacidade antioxidante e ao comportamento desse composto em determinadas matrizes alimentares.

- Foi possível pressupor que as antocianinas apresentaram menor estabilidade ao calor, apresentando, em todos os casos, menor concentração nos vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem, independentemente da uva analisada.

- Pressupõe-se que os flavan-3-óis foram menos afetados pelo calor, assim como as piranoantocianinas, por apresentarem estruturas mais complexas em relação às antocianinas. Os flavan-3-óis não foram afetados significativamente pelo calor devido ao balanço existente entre perdas e ganhos. Esse balanço está vinculado a perdas que ocorrem devido a participação desses compostos em reações de escurecimento enzimático, auto-oxidação e oxidação por enzimas como PPO e peroxidases. No entanto, ao mesmo tempo, alguns flavan-3-óis de elevado peso molecular podem sofrer hidrólise e formar compostos de baixo peso molecular, aumentando sua concentração final.

- Além disso, vincula-se as perdas de flavan-3-óis à participação desses compostos em reações de copigmentação com antocianinas para a formação de novos pigmentos, e os ganhos à otimização da extração desses compostos devido à ruptura da película e ao aumento da extração desses compostos para a polpa no momento da pré-secagem das uvas.

- De uma forma geral, os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso foram descritos com elevada matiz violeta com aroma frutado e com notas de foxado, características que garantiram, em alguns casos, maior aceitação desses vinhos pelos consumidores.

- Os vinhos elaborados pelo processo de pré-secagem, na maioria dos casos, foram descritos como amargos, adstringentes, encorpados, pungentes e persistentes. Tais características foram vinculadas à elevada concentração de flavan-3-óis desses vinhos (monômeros ou dímeros) e pelo elevado percentual de flavan-3-óis galoilados com alto grau médio de polimerização.

- A atividade antioxidante (AA) dos vinhos, em todos os casos, quando apresentou relação significativa, relacionou-se de forma consistente com a variedade de compostos fenólicos existente nas amostras, não se restringindo a uma classe pontual de compostos químicos como os estilbenos, por exemplo. Em alguns casos, a elevada AA foi vinculada, principalmente, à concentração de flavan-3-óis e ao elevado percentual de galoilação desses compostos.

- Os vinhos submetidos à pré-secagem não diferiram de forma significativa quando comparados aos vinhos tradicional e de chapéu submerso no que concerne à AA e esse fato foi explicado pela formação de melanoidinas, resultantes da reação de Maillard que, por sua vez, apresentam capacidade antioxidante.

- Os vinhos elaborados pelo processo de chapéu submerso, na maioria das uvas avaliadas, não diferiu de forma significativa do tratamento tradicional, sendo um processo de vinificação alternativo que poderia ser aplicado em larga escala, pois além de não haver tais diferenças, o rendimento de tal processo foi superior ao rendimento do processo tradicional.

- O processo de pré-secagem deve ser estudado com maior cautela para a sua aplicação em larga escala, pois gerou vinhos encorpados e com características pontuais como maior amargor, adstringência, pungência e persistência, características sensoriais nem sempre bem aceitas pelos consumidores em se tratando de vinhos produzidos por uvas americanas. Adicionalmente, o rendimento do processo de pré-secagem resultou inferior ao

rendimento do processo de vinificação tradicional. Uma possível aplicação desse processo seria para a elaboração de vinhos com características peculiares, ou seja, uma linha de produção alternativa de uma marca já consolidada no mercado para atender uma porção atípica do mercado consumidor.

6. Referências bibliográficas

- ÁLVAREZ, I.; ALEIXANDRE, J. L.; GARCÍA, M. J.; LIZAMA, V. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 563, n. 1-2, p. 109-115, 2006.
- AMARANTE, J. O. A. **Vinhos: do Brasil e do mundo, para conhecer e beber**. São Paulo: Summus Editorial, 1983. 157p.
- ANDERSEN, O. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. Florida: CRC Press, 2010. 1197p.
- ANDRADE NEVES, N.; PANTOJA, L. A.; DOS SANTOS, A. S. Thermovinification of grapes from the Cabernet Sauvignon and Pinot Noir varieties using immobilized yeasts. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 238, p. 79-84, 2014.
- AOAC - Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC International**. Washington, 2005, 1141p.
- ATANACKOVIĆ, M.; PETROVIĆ, A.; JOVIĆ, S.; GOJKOVIĆ-BUKARICA, L.; BURSAĆ, M.; CVEJIĆ, J. Influence of winemaking techniques on the resveratrol content, total phenolic content and antioxidant potential of red wines. **Food Chemistry**, London, v. 131, p. 513-18, 2012.
- AUW, J. M.; BLANCO, V.; O'KEEFE, S. F.; SIMS, C. A. Effect of processing on the phenolics and color of Cabernet Sauvignon: Chambourcin and Noble wines and juices. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 47, p. 279-286, 1996.
- BAHT, K. P. L.; KOSMEDER, J. W.; PEZZUTO, J. M. Biological effects of resveratrol. **Antioxidants and Redox Signaling**, New Rochelle, v. 3, n. 6, p. 1041-1064, 2001.

- BAJEC, M. R.; PICKERING, G. J. Astringency: mechanisms and perception. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 48, n. 1, p. 1-18, 2008.
- BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GODOY, H. T.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. **Food Chemistry**, London, v. 159, p. 95-105, 2014.
- 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.
- BARNABÉ, D.; VENTURINI FILHO, W. G.; BOLINI, H. M. A. Quantitative descriptive analysis of wines produced from Niágara Rosada and Bordô grapes. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 122-129, 2007.
- BATE-SMITH, E. C. Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. **Phytochemistry**, New York, v. 12, n. 4, p. 907-912, 1973.
- BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. **Nature reviews Drug Discovery**, London, v. 5, n. 6, p. 493-506, 2006.
- BECKETT, N. **1001 vinhos para beber antes de morrer**. Rio de Janeiro: Sextante, 2008. 960 p.
- BEHRENS, J. H.; SILVA, M. A. A. P. Perfil sensorial de vinhos brancos varietais brasileiros através de análise descritiva quantitativa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 60-67, 2000.
- BERTAGNOLLI, S. M. M.; ROSSATO, S. B.; SILVA, V. L.; CERVO, T.; SAUTTER, C. K.; HECKTHEUER, L. H.; PENNA, N. G. Influence of the carbonic maceration on the levels of *trans*-resveratrol in Cabernet Sauvignon wine. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, p. 71-77, 2007.
- 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**, Barking, v. 62, p. 456-466, 2014.
- BINDON, K.; VARELA, C.; KENNEDY, J.; HOLT, H.; HERDERICH, M. Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. **Food Chemistry**, London, v. 138, p. 1696-1705, 2013.
- BLANCO-VEGA, D.; LÓPEZ-BELLIDO, F. J.; ALÍA-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**, Easton, v. 59, p. 9523-9531, 2011.
- BORAZAN, A. A.; BOZAN, B. The influence of pectolytic enzyme addition and prefermentative mash heating during the winemaking process on the phenolic composition of Okuzgozu red wine. **Food Chemistry**, London, v. 138, p. 389-95, 2013.
- BORDIGA, M.; COÏSSON, J. D.; LOCATELLI, M.; ARLORIO, M.; TRAVAGLIA, F. Pyrogallol: An alternative trapping agent in proanthocyanidins analysis. **Food Analytical Methods**, New York, v. 6, p. 148-156, 2013.
- BORRELLI, R. C.; VISCONTI, A.; MENNELLA, C.; ANESE, M.; FOGLIANO, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 6527-6533, 2002.
- BOSSO, A.; PANERO, L.; PETROZZIELLO, M.; FOLLIS, R.; MOTTA, S.; GUAITA, M. Influence of submerged-cap vinification on polyphenolic composition and volatile compounds of Barbera wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 62, p. 503-511, 2011.
- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 52, n. 2, p. 67-87, 2001.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
- 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. **DOU**: Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2004.
- 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, 1986, seção 1, p. 18152-18173.
- BRAVO, A. E. Resveratrol in wine: contribution to potential cardiovascular protective activity. **Alimentaria**, Madrid, v. 269, p. 71-72, 1996.
- BROSSAUD, F.; CHEYNIER, V.; NOBLE, A. C. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 7, p. 33-39, 2001.
- BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: Markakis P. (ed.), **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982.
- BUDIC-LETO, I.; LOVRIĆ, T.; KLJUSURIC, J.G.; PEZO, I.; VRHOVSEK, U. Anthocyanin composition of the red wine Babić affected by maceration treatment. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 222, p. 397-402, 2006.
- BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 2001.
- BURIN, V. M.; FERREIRA-LIMA, N. E.; PANCRI, C. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 114, p. 155-163, 2014.
- BUSSE-VALVERDE, N.; GÓMEZ-PLAZA, E.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; GIL-MUÑOZ, R.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. I.; BAUTISTA-ORTÍN, A. B.; Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 11333-11339, 2010.
- CAILLÉ, S.; SAMSON, A.; WIRTH, J.; DIÉVAL, J-B; VIDAL, S.; CHEYNIER, V. Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to

- different oxygen exposures pre and post bottling. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 660, p. 35-42, 2010.
- CAMARGO, U. A.; DIAS, M. F. **BRS Rúbea**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1999. 4p.
- CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G. **BRS Cora**: nova cultivar de uva para suco adaptada a climas tropicais. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. 7p.
- CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; NACHTIGAL, J. C. **BRS Violeta**: nova cultivar de uva para suco e vinho de mesa. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 8p.
- CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. **BRS Carmem**: nova cultivar de uva tardia para suco. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008. 8p.
- CAMARGO, U.A. **Uvas do Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1996, 90 p.
- CARVALHO, E.; MATEUS, N.; PLET, B.; PIANET, I.; DUFOURC, E.; DE FREITAS, V. Influence of wine pectic polysaccharides on the interactions between condensed tannins and salivary proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 8936-8944, 2006.
- CASASSA, L. F.; BOLCATO, E. A.; SARI, S. E. Chemical, chromatic, and sensory attributes of 6 red wines produced with prefermentative cold soak. **Food Chemistry**, London, v. 174, p. 110-118, 2015.
- CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, F.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintonesa (*Vitis vinifera L.*) grapes and red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 7883-7891, 2009.
- CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 3, p. 992-1002, 2007.
- CASTILLO-SANCHEZ, J. J.; MEJUTO, J. Z.; GARRIDO, J.; GARCÍA-FALCÓN, S. Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of

- the anthocyanin content, color and general organoleptic quality of Vinhão wines. **Food Chemistry**, London, v. 97, p. 130-136, 2006.
- CATALUÑA, E. **As uvas e os vinhos**. Rio de Janeiro: Editora Globo, 1988. 207p.
- CERPA-CALDERON, F. K.; KENNEDY, J. A. Berry integrity and extraction of skin and seed proanthocyanidins during red wine fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 19, p. 9006-9014, 2008.
- CHAPTAL, J.A. **L'art de faire le vin**. Marseille: Jeanne Laffitte, 1981, 381p.
- CHEYNIER, V.; FULCRAND, H. Oxidación de los polifenoles en los mostos y los vinos. In: FLANZY, C. (Coord.). **Enología: fundamentos científicos y tecnológicos**. Madrid: AMV ediciones, 2000. p. 369-376.
- CHIRA, K.; PACELLA, N.; JOURDES, M.; TEISSEDE, P. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. **Food Chemistry**, London, v.126, p.1971-1977, 2011.
- COMETTO-MUÑIZ, J. E.; GARCÍA-MEDINA, M. R.; CALVIÑO, A. M.; NORIEGA, G. Interactions between CO₂ oral pungency and taste. **Perception**, London, v. 16, n. 5, p. 629-640, 1987.
- DALLAS, C.; RICARDO-DA-SILVA, J. M.; LAUREANO, O. Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation. **Vitis**, Siebeldingen, v. 34, p. 51-56, 1995.
- DE BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLOM, W. C. A.; MANLEY, M. Phenolic compounds: A review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Stellenbosch, v. 23, n. 2, p. 48-61, 2002.
- DE 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. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 54, n. 2, p. 360-366, 2013.
- DE 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.

- European Food Research and Technology**, Berlin, v. 235, p. 345-354, 2012.
- DE CASTILHOS, M. B. M.; CORRÊA, O. L. S.; ZANUS, M. C.; MAIA, J. D. G.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; DEL BIANCHI, V. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Pre-drying and submerged cap winemaking: effects on polyphenolic compounds and sensory descriptors. Part I: BRS Rúbea and BRS Cora. **Food Research International**, Barking, v. 75, p. 374-384, 2015a.
- DE CASTILHOS, M. B. M.; CORRÊA, O. L. S.; ZANUS, M. C.; MAIA, J. D. G.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; DEL BIANCHI, V. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Pre-drying and submerged cap winemaking: effects on polyphenolic compounds and sensory descriptors. Part II: BRS Carmem and Bordô (*Vitis labrusca L.*). **Food Research International**, Barking, v. 76, p. 697-708, 2015b.
- DE CASTILHOS, M. B. M.; MAIA, J. D. G.; GÓMEZ-ALONSO, S.; DEL BIANCHI, V. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Sensory acceptance drivers of pre-fermentation dehydration and submerged cap red wines produced from *Vitis labrusca* hybrid grapes. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 69, p. 82-90, 2016.
- DE LA LASTRA, C. A.; VILLEGAS, I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 35, p. 1156-1160, 2007.
- DE SANTIS, D.; FRANGIPANE, M. T. Effect of prefermentative cold maceration on the aroma and phenolic profiles of a Merlot red wine. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 22, n. 1, p. 47-53, 2010.
- DEL BARRIO-GALÁN, R.; ORTEGA-HERAS, M.; SÁNCHEZ-IGLESIAS, M.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Interactions of phenolic and volatile compounds with yeast lees, commercial yeast derivatives and non toasted chips in model solutions and young red wines. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 234, p. 231-244, 2012.
- DEL-BARRIO-GALÁN, R.; MEDEL-MARABOLÍ, M.; PEÑA-NEIRA, A. Effect of different aging techniques on the polysaccharide and phenolic composition

- and sensory characteristics of Syrah red wines fermented using different yeast strains. **Food Chemistry**, London, v. 179, p. 116-126, 2015.
- DEL-BARRIO-GALÁN, R.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; ORTEGA-HERAS, M. Techniques for improving or replacing ageing on lees of oak aged red wines: The effects on polysaccharides and the phenolic composition. **Food Chemistry**, London, v. 127, p. 528-540, 2011.
- DELGADO-ANDRADE, C.; MORALES, F. J. Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 1403-1407, 2005.
- DOOLEY, L.; THRELFALL, R. T.; MEULLENET, J. Optimization of blended wine quality through maximization of consumer liking. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 24, p. 40-47, 2012.
- DOYMAZ, I. Drying kinetics of black grapes treated with different solutions. **Journal of Food Engineering**, Essex, n.76, p.212-217, 2006.
- EL DARRA, N.; TURK, M. F.; DUCASSE, M-A.; GRIMI, N.; MAROUN, R. G.; LOUKA, N.; VOROBIEV, E. Changes in polyphenol profiles and color composition of freshly fermented model wine due to pulsed electric field, enzymes and thermovinification pretreatments. **Food Chemistry**, London, v. 194, p. 944-950, 2016.
- EMBRAPA. Banco Ativo de Germoplasma de Uva: Bordô. **Base de dados**, Bento Gonçalves, 1984. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/prodserv/germoplasma/?situacao=acesso&introducao=2148&index=171>>. Acesso em: 20 abr. 2015.
- EMBRAPA. Banco Ativo de Germoplasma de Uva: Isabel. **Base de dados**, Bento Gonçalves, 1988. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/prodserv/germoplasma/?situacao=acesso&introducao=2303&index=633>>. Acesso em: 20 abr. 2015.
- ESCOT, S.; FEUILLAT, M.; DULAU, L.; CHARPENTIER, C. Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 7, p. 153-159, 2001.
- ESCUADERO-GILETE, M. L.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Implications of blending wines on the relationships between the colour and

- the anthocyanic composition. **Food Research International**, Barking, v. 43, p. 745-752, 2010.
- ETAIO, I.; ELORTONDO, F. J. P.; ALBISU, M.; GASTON, E.; OJEDA, M.; SCHLICH P. Effect of winemaking process and addition of white grapes on the sensory and physicochemical characteristics of young red wines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 14, p. 211-222, 2008.
- FAVRE, G.; PEÑA-NEIRA, A.; BALDI, C.; HERNÁNDEZ, N.; TRAVERSO, S.; GIL, G.; GONZÁLEZ-NEVES, G. Low molecular-weight phenols in Tannat wines made by alternative winemaking procedures. **Food Chemistry**, London, v. 158, p. 504-512, 2014.
- FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; VILLAÑO, D.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 513, p. 113-118, 2004.
- FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Effects on colour and phenolic composition of sugar concentration processes in dried-on- and dried-off-vine grapes and their aged or not natural sweet wines. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 31, p. 36-54, 2013.
- FLANZY, C. Vinificación por maceración carbónica. In: Flanzzy, C. (Coord.). **Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos**. Madrid: Vicente and Mundi-Prensa, 2003. p. 478-484.
- GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols – A chemical perspective. **Food Research International**, Barking, v. 54, n. 2, p. 1844-1858, 2013.
- GEFFROY, O.; LOPEZ, R.; SERRANO, E.; DUFOURCQ, T.; GRACIA-MORENO, E.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Changes in analytical and volatile compositions of red wines induced by pre-fermentation heat treatment of grapes. **Food Chemistry**, London, v. 187, p. 243-253, 2015.
- GIL-MUÑOZ, R.; MORENO-PÉREZ, A.; VILA-LÓPEZ, R.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J.; MARTÍNEZ-CUTILLAS, A.; GÓMEZ-PLAZA, E. Influence of low temperature prefermentative techniques on chromatic and

- phenolic characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon wines. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 228, p. 777-788, 2009.
- GIOVANI, G.; CANUTI, V.; ROSI, I. Effect of yeast strain and fermentation conditions on the release of cell wall polysaccharides. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 137, p. 303-307, 2010.
- GIRARD, B.; YUKSEL, D.; CLIFF, M. A.; DELAQUIS, P.; REYNOLDS, A.G. Vinification effects on the sensory, colour and GC profiles of Pinot noir wines from British Columbia. **Food Research International**, Barking, v. 34, p. 483-499, 2001.
- GÓMEZ-PLAZA, E.; GIL-MUÑOZ, R.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; MARTÍNEZ-CUTILLAS, A.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. I. Phenolic compounds and color stability of red wines: Effect of skin maceration time. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 52, p. 266-270, 2001.
- GONZÁLEZ-NEVES, G.; GIL, G.; BARREIRO, L.; FAVRE, G. Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques. **Journal of Food and Composition Analysis**, Easton, v. 23, p. 447-54, 2010.
- GONZALO-DIAGO, A.; DIZY, M.; FERNÁNDEZ-ZURBANO, P. Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. **Food Chemistry**, London, v. 154, p. 187-198, 2014.
- GORDILLO, B.; LÓPEZ-INFANTE, M. I.; RAMÍREZ-PÉREZ, P.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; HEREDIA, F. J. Influence of prefermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic Tempranillo wines elaborated in a warm climate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 6797-6803, 2010.
- GRANATO, D.; MARGRAF, T.; BROTZAKIS, I.; CAPUANO, E.; VAN RUTH, S. M. Characterization of conventional, biodynamic, and organic purple grape juices by chemical markers, antioxidant capacity, and instrumental taste profile. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 80, n. 1, p. 55-65, 2015.
- GRIGOLETTI JR. A.; SÔNEGO, O. R. **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1983. 36p.

- GUADALUPE, Z.; MARTÍNEZ, L.; AYESTARÁN, B. Yeast mannoproteins in red winemaking: Effect on polysaccharide, polyphenolic, and color composition. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 61, p. 191-200, 2010.
- GUERRA, C. C. **Uvas americanas e híbridas para o processamento em clima temperado**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003.
- GUERRA, C. C. Vinho Tinto. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Ed.). **Bebidas Alcoólicas**. São Paulo: Edgar Blücher, 2010, p. 209-33.
- HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise Multivariada de Dados**. 6 ed. São Paulo: Bookman, 2009. 688p.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Anthocyanins and other flavonoids. **Natural Product Reports**, London, v. 12, p. 639-657, 1995.
- HATZAKIS, E.; ARCHAVLIS, E.; DAIS, P. Determination of glycerol in wines using ³¹P-NMR Spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists Society**, New York, v. 84, n. 7, p. 615-619, 2007.
- HE, J.; SILVA, A. M. S.; MATEUS, N.; DE FREITAS, V. Oxidative formation and structural characterisation of new R-pyranone (lactone) compounds of non-oxonium nature originated from fruit anthocyanins. **Food Chemistry**, London, v. 127, p. 984-992, 2011.
- JACKSON, R. S. **Wine science: principles and applications**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 2008. 751p.
- JACKSON, R. S. **Wine tasting: A professional handbook**. California: Academic Press, 2009.
- JORDÁN, M. J.; MARGARÍA, C. A.; SHAW, P. E.; GOODNER, K. L. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink guava fruit puree (*Psidium guajava L.*) by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 5, p. 1421-1426, 2003.
- KELEBEK, H.; CANBAS, A.; CABAROGLU, T.; SELLI, S. Improvement of anthocyanin content in the cv. Okuzgozu wines by using pectolytic enzymes. **Food Chemistry**, London, v. 105, p. 334-339, 2007.
- KIM, J. S.; LEE, Y. S. Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers

- and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction. **Food Chemistry**, London, v. 108, n. 2, p. 582-592, 2008.
- KOYAMA, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; HASHIZUME, K. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). **Journal of Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Oxford, v. 71, n. 4, p. 958-965, 2007.
- KUDO, M.; SODEYAMA, M. Weight distribution of red wine polyphenols affected by length of maceration. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 53, 2002.
- LAGO-VANZELA, E. S.; BAFFI, M. A.; DE CASTILHOS, M. B. M.; PINTO, M. R. M. R.; DEL BIANCHI, V. L.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; DA-SILVA, R. Phenolic compounds in grapes and wines: chemical and biochemical characteristics and technological quality. In: J.S. CÂMARA (ed.), **Grapes: Production, Phenolic Composition and Potential Biomedical Effects**. New York: Nova Science Publishers, pp. 47-105, 2014a.
- 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**, Easton, v. 59, p. 13136-13146, 2011.
- LAGO-VANZELA, E. S.; PROCÓPIO, D. P.; FONTES, E. A. F.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Aging of red wines made from hybrid grape cv. BRS Violeta: Effects of accelerated aging conditions on phenolic composition, color and antioxidant capacity. **Food Research International**, Barking, v. 56, p. 182-189, 2014b.
- LAGO-VANZELA, E. S.; REBELLO, L. P. G.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Chromatic characteristics and color-related phenolic composition of Brazilian young red wines made from the hybrid grape cultivar BRS Violeta (“BRS Rúbea” × “IAC 1398-21”). **Food Research International**, Barking, v. 54, n. 1, p. 33-43, 2013.

- LEE, S.J.; LEE, J.E.; KIM, H.W.; KIM, S.S.; KOH, K.H. Development of Korean red wines using *Vitis labrusca* varieties: instrumental and sensory characterization. **Food Chemistry**, London, v.94, p.385-393, 2006.
- LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **American Society for Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, p. 330S-335S, 2005.
- LLAUDY, M.; ZAMORA, F.; CANALS, R.; CANALS, J.; CABANILLAS, P. La maceración prefermentativa en frío: efectos sobre la extracción de color y los compuestos fenólicos e influencia del nivel de maduración de la uva. **ACE Revista de Enología**, 2005. Disponível em: <http://www.acenologia.com/ciencia72_2.htm>. Acesso em: 27 maio 2015.
- LÓPEZ, N.; PUÉRTOLAS, E.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v. 9, p. 477-482, 2008.
- LÓPEZ-VÉLEZ, M.; MARTINEZ-MARTINEZ, F.; DEL VALLE-RIBES, C. D. The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 43, n. 3, p. 233-244, 2003.
- LÖRINCZ, G.; VAS, G. Examination of volatile components in carbonic macerated red wines. **Viticulture and Enology Science**, Mainz, v. 53, p. 18-21, 1998.
- LUBBERS, S.; VERRET, C.; VOILLEY, A. The effect of glycerol on the perceived aroma of a model wine and a white wine. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 34, n. 4, p. 262-265, 2001.
- MACHEIX, J. J.; SAPIS, J. C.; FLEURIET, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 30, p. 441-448, 1991.
- MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Avaliação da cv. Isabel em três sistemas de condução e em dois porta-enxertos, para a produção de

- suco em região tropical. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Belém: SBF, 2002.
- MAKRIS, D. P.; KALLITHRAKA, S.; KEFALAS, P. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, p. 396-404, 2006.
- MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; LOPEZ-TOLEDANO, A.; MERIDA, J. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. **Food Chemistry**, London, v. 130, p. 111-20, 2012.
- MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; MERIDA, J. Anthocyanin evolution and color changes in red grapes during their chamber drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, p. 9908-9914, 2013.
- MATEUS, N.; OLIVEIRA, J.; SANTOS-BUELGA, C.; SILVA, A. M. S.; DE FREITAS, V. A. P. NMR structure characterization of a new vinylpyranoanthocyanin-catechin pigment. **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 45, p. 3455-3457, 2004.
- MATEUS, N.; SILVA, A. M. S.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C.; DE FREITAS, V. A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 1919-1923, 2003.
- MATTIVI, F.; GUZZON, R.; VRHOVSEK, U.; STEFANINI, M.; VELASCO, R. Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 7692-7702, 2006.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. Florida: CRC press, 1993, 362p.
- MAZZUCA, P., FERRANTI, P., PICARIELLO, G., CHIANESE, L., & ADDEO, F. Mass spectrometry in the study of anthocyanins and their derivatives: differentiation of *Vitis vinifera* and hybrid grapes by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, Chichester, v. 40, p. 83-90, 2005.

- MCRAE, J. M.; KENNEDY, J. A. Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: A review of current research. **Molecules**, Basel, v. 16, p. 2348-2364, 2011.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1999.
- MONAGAS, M.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J.; GÓMEZ-CRODOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. II. Colour and overall appreciation. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 40, p. 107-115, 2007.
- MORATA, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; SUBERVOLIA, J.; BARTOLOMÉ, B.; COLOMO, B.; SUAREZ, J. A. Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during fermentation of red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 4084-4088, 2003.
- NARUKAWA, M.; NOGA, C.; UENO, Y.; SATO, T.; MISAKA, T.; WATANABE, T. Evaluation of the bitterness of green tea catechins by a cell-based assay with the human bitter taste receptor hTAS2R39. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 405, p. 620-625, 2011.
- NIEUWOUDT, H.; PRIOR, B.; PRETORIUS, I.; BAUER, F. Glycerol and wine quality: fact and fiction. **Wynboer**, Stellenbosch, v. 9, p. 96-101, 2002.
- NIXDORF, S.L. HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar Isabel: Phenolic composition and antioxidant capacity. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.659, n.1-2, p. 208-215, 2010.
- NOBLE, A. C.; BURSICK, G. F. The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 35, n. 2, p. 110-112, 1984.
- OLIVEIRA, J.; AZEVEDO, J.; SILVA, A. M. S.; TEIXEIRA, N.; CRUZ, L.; MATEUS, N.; DE FREITAS, V. Pyranoanthocyanin dimers: A new family of turquoise blue anthocyanin-derived pigments found in port wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 5154-5159, 2010.

- ORTEGA-HERAS, M.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. Comparative study of the use of maceration enzymes and cold pre-fermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 48, p. 1-8, 2012.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 21, p. 3-11, 2010.
- PERIN, J. Compte rendu de quelques essais de réfrigération des vins. **Le Vigneron Chapeinois**, Epernay, v. 98, p. 97-101, 1977.
- PINELO, M.; ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 17, p. 579-590, 2006.
- PRICE, S. F.; BREEN, P. J.; VALLADAO, M.; WATSON, B. T. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 46, n. 2, p. 187-194, 1995.
- REBELLO, L. P. G.; LAGO-VANZELA, E. S.; BARCIA, M. T.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea x IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Food Research International**, Barking, v. 54, p. 354-366, 2013.
- RENTZSCH, M.; SCHWARZ, M.; WINTERHALTER, P. Pyranoanthocyanins: An overview on structures, occurrence and pathways of formation. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 18, p. 526-534, 2007.
- RENTZSCH, M.; SCHWARZ, M.; WINTERHALTER, P.; BLANCO-VEGA, D.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Survey on the content of vitisin A and hydroxyphenyl-pyranoanthocyanins in Tempranillo wines. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 4, p. 1426-1434, 2010.
- REYNOLDS, A.; CLIFF, M.; GIRARD, B.; KOPP, T. G. Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and

- Shiraz wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 52, n. 3, p. 235-240, 2001.
- RIBÉREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBÉREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P. **Traité d'oenologie**: sciences et techniques du vin. 2 ed. Paris: Dunod, 1982.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments**. 2 ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2006. 441 p.
- RIVERO-PÉREZ, M. D.; MUÑIZ, P.; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M. L. Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger capacity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, p. 5476-5483, 2007.
- RIVERO-PÉREZ, M. D.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M.L. Role of melanoidins in sweet wines. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 458, p. 169-175, 2002.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, 2000.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J.; ZANUS, M. C. Effect of three processes of vinification on chemical composition and quality of Cabernet Franc wine. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 1285-1293, 1999.
- RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; MANFREDINI, S. **Como elaborar vinho de qualidade na pequena propriedade**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 1994. 36 p.
- RIZZON, L.A.; MANFROI, L. **Sistema de produção de vinho tinto: Fermentação**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2006.
- ROBERTS, D. D.; ACREE, T. E. Effects of heating and cream addition on fresh raspberry aroma using a retronasal aroma simulator and gas chromatography olfactometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 44, p. 3919-3925, 1996.
- ROSIER, J.P. **Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas**. 2.ed. Florianópolis: EPAGRI, 1993. 72p.

- SACCHI, K. L.; BISSON, L. F.; ADAMS, D. O. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 56, n. 3, p. 197-206, 2005.
- SCHWARZ, M.; PICAZO-BACETE, J. J.; WINTERHALTER, P.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 21, p. 8372-8381, 2005.
- SHEPHERD, R.; GRIFFITHS, N. M.; SMITH, K. The relationship between consumer preferences and trained panel responses. **Journal of Sensory Studies**, Hoboken, v. 3, n. 1, p. 19-35, 2007.
- 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.
- SORRENTINO, F.; VOILLEY, A.; RICHON, D. Activity coefficients of aroma compounds in model food systems. **Alche Journal**, Hoboken, v.32, n.12, 1986.
- SOUSA, S. I. **Vinho: aprenda a degustar**. São Paulo: Market Press, 2000. 304p.
- SPRANGER, M. I.; CLÍMACO, M. C.; SUN, B.; EIRIZ, N.; FORTUNATO, C.; NUNES, A.; LEANDRO, M. C.; AVELAR, M. L.; BELCHIOR, A. P. Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 513, p. 151-161, 2004.
- SURIANO, S.; CECI, G.; TAMBORRA, T. Impact of different winemaking techniques on polyphenolic compounds of Nero Di Troia wine. **Italian Food & Beverage Technology**, Pinerolo, v. 70, p. 5-15, 2012.
- TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; CONTE, A. Antioxidant properties of traditional balsamic vinegar and boiled must model systems. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, p. 835-843, 2008.
- TECCHIO, F. M.; MIELE, A.; RIZZON, L. A. Características sensoriais do vinho Bordô. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 897-899, 2007.

- TERRIER, N.; PONCET-LEGRAND, C.; CHEYNIER, V. Flavanols, flavonols and dihydroflavonols. In: M. V. MORENO-ARRIBAS; C. POLO (Eds.), **Wine chemistry and biochemistry**. New York: Springer. pp. 463-507, 2009.
- TOALDO, I. M.; FOGOLARI, O.; PIMENTEL, G. C.; DE GOIS, J. S.; BORGES, D. L. G.; CALIARI, V.; BORDIGNON-LUIZ, M. Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca* L. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 53, p. 1-8, 2013.
- TORRES, C.; DÍAZ-MAROTO, M.C.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; PÉREZ-COELLO, M.S. Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, n. 660, p. 177-182, 2010.
- VERSINI, G.; TOMASI, T. Confronto tra i componenti volatili dei vini rossi ottenuti con macerazione tradizionale e macerazione carbonica. Importanza differenziante del cinnamato di etile. **L'enotecnico**, Milão, v. 9, p. 595-600, 1983.
- VIDAL, S.; WILLIAMS, P.; DOCO, T.; MOUTOUNET, M.; PELLERIN, P. The polysaccharides of red wine: Total fractionation and characterization. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 54, p. 439-447, 2003.
- VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; MOYA, M. L.; TRONCOSO, A. M.; GARCÍA-PARRILLA, M. C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, Amsterdam, v. 71, p. 230-235, 2007.
- WANG, H.; RACE, E. J.; SHRIKHANDE, A. J. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 1839-1844, 2003.
- YAMAMOTO, L. Y.; ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; BOVOLENTA, Y. R.; NIXDORF, S. L.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Application of abscisic acid (S-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) for color improvement: effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice. **Food Research International**, Barking, v. 77, p. 572-583, 2015.

- YANNIOTIS, S.; KOTSERIDIS, G.; ORFANIDOU, A.; PETRAKI, A. Effect of ethanol, dry extract and glycerol on the viscosity of wine. **Journal of Food Engineering**, Essex, v.81, p.399-403, 2007.
- ZANUS, M. C. **Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva**. 1991. 177f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1991.
- ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; NUNES, C. A.; SCHNITZLER, E.; VAN RUTH, S. M.; GRANATO, D. Chemical composition, sensory properties, provenance, and bioactivity of fruit juices as assessed by chemometrics: a critical review and guideline. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Hoboken, v. 13, p. 300-316, 2014.
- ZOECKLEIN, B. W., FUGELSANG, K. C., GUMP, B. H., NURY, F. S. **Wine analysis and production**. Chapman & Hall, New York, NY, USA, 1994.

7. Anexos

Figura A1. Foto da uva Bordô. Fonte: Embrapa Uva e Vinho.



Figura A2. Foto da uva Isabel. Fonte: Embrapa Uva e Vinho.



Figura A3. Foto da uva BRS Violeta. Fonte: Embrapa Uva e Vinho.



Figura A4. Foto da uva BRS Carmem. Fonte: Embrapa Uva e Vinho.



Figura A5. Foto da uva BRS Rúbea. Fonte: Embrapa Uva e Vinho.



Figura A6. Foto da uva BRS Cora. Fonte: Embrapa Uva e Vinho.



Tabela A1. Definições e referências para os descritores sensoriais dos vinhos avaliados no estudo.

Descritor	Definição	Referências
APARÊNCIA		
Intensidade de cor	Obstrução que a cor do vinho oferece para a reflexão da luz e possibilitar a visualização do fundo da taça	Fraco: suco de uva Bordô diluído 1:3 Forte: suco de uva Bordô puro
Intensidade de matiz violeta	Grandeza da percepção de matiz violeta no vinho tinto	Fraco: suco de uva Isabel puro Forte: suco de uva Bordô puro
AROMA		
Intensidade de frutado	Grandeza da percepção do odor frutado que lembra morango, ameixa, framboesa e amora	Fraco: 5mL (solução de 3,38g de suco em pó sabor morango + 1,63g de suco em pó sabor frutas vermelhas + 20mL de vinho Merlot) + 15mL (solução de 37,5g de morangos amassados + 20mL de vinho Merlot) + 20mL de vinho Merlot Forte: 5mL (solução de 3,38g de suco em pó sabor morango + 1,63g de suco em pó sabor frutas vermelhas + 20mL de vinho Merlot) + 15mL (solução de 37,5g de morangos amassados + 20mL de vinho Merlot)
Nota de foxado	Percepção olfativa da nota de foxado típico do antranilato de metila	Fraco: 10mL de vinho Bordô + 30mL de água filtrada Forte: 20mL de vinho Bordô

Intensidade de vegetal	Percepção olfativa da nota de vegetal lembrando herbáceo, ervilha verde, vagem e pimentão	<p>Fraco: 10mL (solução de 8g de ervilhas congeladas amassadas + 20mL de vinho Merlot) + 5mL (solução de 0,95g de pimentão verde + 20mL de vinho Merlot)</p> <p>Forte: 8mL (solução de 8g de ervilhas congeladas amassadas + 20mL de vinho Merlot) + 7mL (solução de 0,95g de pimentão verde + 20mL de vinho Merlot) + 5mL de vinho Merlot</p>
Nota de geleia	Grandeza da percepção do odor de geleia de compota de frutas vermelhas (morango, framboesa, amora)	<p>Fraco: 10mL (solução de 76,37g de geleia de framboesa Helios + 21,05g de geleia de morango Simon's + 40mL de vinho Merlot) + 20mL de vinho Merlot</p> <p>Forte: 20mL (solução de 76,37g de geleia de framboesa Helios + 21,05g de geleia de morango Simon's + 40mL de vinho Merlot) + 10mL de vinho Merlot</p>
SABOR		
Doçura	Grandeza da percepção do gosto doce no vinho tinto	<p>Fraco: 1 g de sacarose dissolvidos em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha</p> <p>Forte: 10 g de sacarose dissolvidos em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha</p>
Acidez	Grandeza da percepção do gosto ácido no vinho tinto	<p>Fraco: 0,5 g de ácido cítrico em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha</p> <p>Forte: 2,5 g de ácido cítrico em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha</p>

Amargor	Grandeza da percepção do gosto amargo no vinho tinto	Fraco: 0,2 g de cafeína anidra em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha. Forte: 2,0 g de cafeína anidra em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha.
Corpo	Grandeza da percepção do sabor típico do vinho tinto e de seu corpo, viscosidade	Fraco: vinho tinto Gammay da região da Serra Gaúcha Forte: vinho tinto Ancellotta da região da Serra Gaúcha
Estrutura	Grandeza da percepção dos taninos responsáveis por promover a sensação de “amarração” na boca	Fraco: vinho tinto Gammay da região da Serra Gaúcha Forte: vinho tinto Ancellotta da região da Serra Gaúcha
Sabor herbáceo	Grandeza da percepção do sabor vegetal ou herbáceo no vinho tinto	Fraco: vinho Cabernet Sauvignon da serra gaúcha safra 2013 diluído 1:1 Forte: vinho Cabernet Sauvignon da serra gaúcha safra 2013 sem diluições
Adstringência	Grandeza da percepção do sabor adstringente no vinho tinto	Fraco: 1,5 g de ácido tartárico em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha. ² Forte: 4,0 g de ácido tartárico em 1L de vinho Merlot da Serra Gaúcha. ²
Pungência	Percepção da intensidade do sabor alcoólico no vinho tinto	Fraco: Vinho amarone ¹ diluído 1:1 Forte: Vinho amarone sem diluições
Persistência	Tempo no qual as substâncias voláteis do vinho impressionam o sentido	Pouca: 1 a 2 segundos Muita: de 15 a 20 segundos

¹ Vinho amarone: corte de Cabernet Sauvignon com Merlot, sendo as uvas secas a 26 °Brix de forma natural e posteriormente vinificadas.

² A referência de ácido tartárico como padrão de adstringência foi previamente delimitada por alguns autores que estudaram o perfil sensorial descritivo de vinhos tintos (BARNABÉ; VENTURINI-FILHO; BOLINI, 2007) e vinhos brancos (BEHRENS; SILVA, 2000). Além disso, o ácido tartárico, assim como o ácido tânico e o sulfato de alumínio, é considerado um padrão de adstringência em alimentos e bebidas (BAJEC; PICKERING, 2008).