

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da
região da Campanha Gaúcha**

Wellynthon Machado da Cunha

Pelotas, 2020

Wellynthon Machado da Cunha

**Metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da
região da Campanha Gaúcha**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação: Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi
Dra. Tanize dos Santos Acunha
Prof. Dr. Marcos Gabbardo

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C972m Cunha, Wellynthon Machado da

Metoxipirazinas em vinhos cabernet sauvignon produzidos com uvas da região da campanha gaúcha / Wellynthon Machado da Cunha ; Cesar Valmor Rombaldi, orientador ; Tanize dos Santos Acunha, Marcos Gabbardo, coorientadores. — Pelotas, 2020.

71 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Enologia . 2. Vinhos - Brasil. 3. Análise sensorial. 4. GC-MS . I. Rombaldi, Cesar Valmor, orient. II. Acunha, Tanize dos Santos, coorient. III. Gabbardo, Marcos, coorient. IV. Título.

CDD : 663.223

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Wellynthon Machado da Cunha

Metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da região da Campanha Gaúcha

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 21 de fevereiro de 2020

Banca examinadora:

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi (Orientador)
Doutor em *Biologie Moléculaire Végétale* pela *Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse*, França

Prof. Dr.^a Adriana Dillenburg Meinhart
Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Marcos Gabbardo
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Dr.^a Tanize dos Santos Acunha
Doutora em *Biología y Ciencias de la Alimentación* pela *Universidad Autónoma de Madrid*, Espanha

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter chegado até aqui.

À minha família, minha base, meu principal suporte para alcançar todas as metas em minha vida. Muito obrigado por tudo, amo vocês!

Ao Prof. Cesar Rombaldi, pela orientação e ensinamentos transmitidos desde o início, sendo fundamental para que eu conseguisse alcançar este objetivo. Obrigado por ter aceitado esta proposta e por ter contribuído tanto para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Marcos Gabbardo, idealizador deste trabalho, grande amigo e entusiasta do vinho brasileiro. Obrigado pela confiança depositada em mim desde os tempos de graduação.

À Dra. Tanize Acunha, sempre competente e dedicada, fundamental para o meu desenvolvimento na pós-graduação e para a construção deste trabalho, sempre muito presente. Aprendi muito contigo.

A todos os produtores da região da Campanha que acreditaram na seriedade de nossa pesquisa: Batalha Vinhas e Vinhos, Estância Paraíso, Estância Sossego, Guatambu Estância do Vinho, Peruzzo Vinhas e Vinhos, Routhier & Darricarrere, Villa Don Basílio, Vinhedos Afonso Hamm, Vinhedos Adair Camponogara, Vinícola Almadén, Vinícola Campos de Cima e Vinícola Peruzzo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, sob registro 422632/2018-0.

À Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), meu local de trabalho, por ter permitido que eu cursasse a pós-graduação sem quaisquer prejuízos. É a minha segunda casa, onde eu aprendo diariamente e é responsável direta por muitas coisas boas que acontecem em minha vida. Vida longa ao ensino público, gratuito e de qualidade!

Aos alunos do Curso de Enologia da UNIPAMPA em Dom Pedrito, especialmente das disciplinas de Práticas Enológicas I de 2018 e 2019, que sempre estiveram disponíveis para me ajudar em meio à correria, foram muito importantes para a elaboração dos vinhos. Espero ter contribuído com o aprendizado de vocês ao longo deste trabalho.

Destaco a presença do Marcelo Giacomini, aluno de enologia e grande amizade que construí nesses últimos dois anos, estando incansavelmente presente durante a

elaboração dos vinhos, até mesmo nas datas de Carnaval e finais de semana, fizesse sol ou chuva. Muito obrigado, Marcelo!

É claro que eu não poderia deixar de agradecer aos amigos e colegas de DCTA, que de uma forma ou outra me ajudaram e me incentivaram ao longo da pós-graduação. Não foi fácil a trajetória, mas com a companhia de todos se tornou mais leve e agradável o caminho.

No DCTA, tive a oportunidade de conhecer a Paula Filoda, doutoranda muito competente, essencial para a realização deste trabalho. Sempre atenciosa e disposta, não mediu esforços para o bom desenvolvimento de nosso trabalho. Muito obrigado! Ao longo dessa trajetória, várias pessoas contribuíram, de modo que é bem provável que eu esqueça de alguém. Essas pessoas me ajudaram de um jeito ou de outro, e pode ser que nem saibam o quanto foram importantes: Diciane, Bárbara Marques, Bruna Corrêa, Daniel Pazzini, Esther, Graci, Iuri de Rosso, Jansen, Jéssica Hoffmann, Leandro dos Santos (Cowboy), Lorena (Dona Lô), Marcelo Rodrigues, Prof. Moacir Elias, Prof. Rafael Schumacher e família, Rafaela e Gabriela Giacomini, Prof. Rodrigo Lisboa, Sara Silva, Prof. Vagner (Vaguinho), Valeska, Washington, Willian Triches, entre outros... tenho muita gratidão a vocês. Independentemente de quais caminhos trilharão em suas vidas, saibam que têm meu reconhecimento e minha eterna gratidão.

Resumo

CUNHA, Wellynthon Machado da. **Metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da região da Campanha Gaúcha**. 2020. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Altas concentrações de metoxipirazinas (MPs) são indesejáveis em vinhos Cabernet Sauvignon devido aos seus aromas característicos (pimentão verde e outras notas vegetais). Dessa forma, neste estudo, avaliou-se a presença desses compostos em vinhos Cabernet Sauvignon elaborados com uvas de diferentes vinhedos da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil), uma região vitivinícola de recente destaque no Brasil. Foram elaborados 20 vinhos, em duas safras (2018 e 2019), seguindo a mesma metodologia de vinificação. Foram obtidas uvas dos municípios de Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Maçambará, Piratini, Rosário do Sul, Sant'ana do Livramento e Uruguaiana. As avaliações foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e análise sensorial descritiva quantitativa (ADQ). Os vinhos apresentaram baixos teores de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), abaixo de 15 ng L^{-1} , e não foram detectadas outras MPs. Observou-se uma tendência à obtenção de menores valores quanto mais avançado o ponto de colheita das uvas. Na análise sensorial, as intensidades dos aromas de pimentão verde e vegetal foram baixas, destacando-se notas de frutas vermelhas. A presença de MPs foi relativamente baixa nos vinhos produzidos com uvas da Região da Campanha, e os aromas característicos não foram perceptíveis na análise sensorial, exceto quando houve adição do composto. Pelos resultados observados neste estudo, a cultivar Cabernet Sauvignon pode ser incluída no rol de cultivares da região.

Palavras-chave: análise sensorial; enologia; GC-MS; vinhos brasileiros.

Abstract

CUNHA, Wellynthon Machado da. **Methoxyprazines in Cabernet Sauvignon wines produced with grapes from Campanha Gaúcha region.** 2020. 71 f. Dissertation (Master Degree in Food Science and Technology) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

High concentrations of methoxypyrazines (MPs) are undesirable in Cabernet Sauvignon wine due to their characteristic aromas (green pepper and other vegetable notes). For this reason, we evaluated the presence of these compounds in Cabernet Sauvignon wines made with grapes from different vineyards in Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, a new wine region of Brazil. Twenty wines were produced in two vintages (2018 and 2019), following the same winemaking methodology. Grapes were obtained from the municipalities of Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Maçambará, Piratini, Rosário do Sul, Sant'ana do Livramento, and Uruguaiana. Evaluations were performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and sensory analysis by Quantitative Descriptive Analysis (QDA). The wines had low levels of 3-isobutyl-2-methoxypyrazine (IBMP), below 15 ng L⁻¹, and no other methoxypyrazine was identified. There was a tendency to obtain lower values as the harvesting point for the grapes became more advanced. In the sensory analysis, intensities of green pepper and vegetable aromas were low, with notes of red fruits standing out. The presence of MPs was relatively low in wines produced with grapes from the Campanha region, and the characteristic aromas were not perceptible in sensory analysis, except when the compound was added. Based on the results obtained, Cabernet Sauvignon can be included in the list of cultivars in the Campanha region.

Keywords: Brazilian wines; enology; GC-MS; sensory evaluation.

Lista de figuras

Figura 1 – Região da Campanha Gaúcha: municípios e indicações de empreendimentos vitivinícolas	18
Figura 2 – Comparativo das condições climáticas das safras 2018 e 2019 na Campanha Gaúcha: insolação (expresso em horas), precipitação (em milímetros) e temperatura média (em graus Celsius).	21
Figura 3 – Folha de videira Cabernet Sauvignon (<i>Vitis vinifera</i> L.).....	22
Figura 4 – Cacho de uvas Cabernet Sauvignon (<i>Vitis vinifera</i> L.), imagem obtida a campo em vinhedo comercial em Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brasil.	22
Figura 5 – Estruturas químicas das metoxipirazinas encontradas na literatura para uvas e vinhos	24
Figura 6 – Microextração em fase sólida no modo “headspace” (HS-SPME) de amostras de vinhos Cabernet Sauvignon: preparo de amostra, condições de tempo e temperatura e itens necessários	26
Figura 7 – Cromatógrafo gasoso acoplado à espectrômetro de massas localizado no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LACEM) da UFPel.....	28

Lista de figuras do artigo

Figura 1. Localização geográfica dos vinhedos de ‘Cabernet Sauvignon’ estudados: Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil.	59
Figura 2. Cromatograma com pico de m/z 124 no RT 20.41 ± 0.19: representação de amostra com adição de 5 ng/L do padrão analítico de IBMP.	60
Figura 3. Análise sensorial olfativa dos vinhos Cabernet Sauvignon (Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil) elaborados nas safras 2018 (a) e 2019 (b): diferenças entre os atributos mais importantes (intensidade, qualidade, frutado, pimentão verde e vegetal).	61
Figura 4. Análise sensorial visual e gustativa dos vinhos Cabernet Sauvignon (Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil) elaborados nas safras 2018 (a) e 2019 (b): diferenças entre os atributos mais importantes (intensidade de cor, acidez, adstringência, corpo, equilíbrio e persistência).	62

Lista de tabelas

Tabela 1 – Dados da produção nacional de vinhos em milhões de hectolitros (mhL): demonstrativo de Rio Grande do Sul e Brasil nos anos de 2016, 2017 e 2018.	17
Tabela 2 – Produção de uvas na região da Campanha Gaúcha: subdivisão em microrregiões, municípios mais representativos, áreas com vinhedos, total produzido e variedades mais cultivadas	19

Lista de tabelas do artigo

Tabela 1. Quantificação do composto 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP) dos vinhos Cabernet Sauvignon elaborados nas safras 2018 e 2019 com uvas de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).	57
Tabela 2. Avaliação sensorial olfativa dos vinhos Cabernet Sauvignon elaborados nas safras 2018 e 2019 com uvas de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).....	58
Tabela S1. Caracterização físico-química dos mostos obtidos de uvas Cabernet Sauvignon colhidas nas safras 2018 e 2019 em diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil). Análises realizadas no equipamento WineScan SO ₂ (Foss Analytics, Hillerød, Dinamarca).....	63
Tabela S2. Caracterização físico-química dos vinhos Cabernet Sauvignon elaborados nas safras 2018 e 2019 com uvas de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).	64

Lista de abreviaturas e siglas

ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
CCM	Classificação Climática Multicritérios
EI	Electron Impact Ionization (ionização de impacto de elétrons)
FEPAGRO	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul
GC	<i>Gas chromatography</i> (cromatografia gasosa)
GC-MS	<i>Gas chromatography–Mass spectrometry</i> (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas)
GC-NPD	<i>Gas chromatography–Nitrogen Phosphorous Detector</i> (cromatografia gasosa com detector de Nitrogênio-Fósforo)
GC-O	<i>Gas chromatography–Olfactometry</i> (cromatografia gasosa–olfatometria)
HS	<i>Headspace</i>
HS-SPME	Microextração em fase sólida com uso de “ <i>headspace</i> ”
IBMP	3-isobutil-2-metoxipirazina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAVIN	Instituto Brasileiro do Vinho
INRA	Instituto Francês de Pesquisa Agrônômica
IPMP	3-isopropil-2-metoxipirazina
LACEM	Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas da UFPEL
LOD	Limite de detecção do método
LOQ	Limite de quantificação do método
MS	<i>Mass spectrometry</i> (espectrometria de massas)
mha	Milhões de hectares
mhL	Milhões de hectolitros
MPs	Metoxipirazinas
mt	Milhões de toneladas
OIV	Organização Internacional da Vinha e do Vinho
QDA	<i>Quantitative Descriptive Analysis</i>
SBMP	3-sec-butil-2-metoxipirazina
SIM	<i>Selected Ion Monitoring</i> (monitoramento de íons selecionados)
SPME	<i>Solid-phase microextraction</i> (microextração em fase sólida)
UNIPAMPA	Universidade Federal do Pampa

Sumário

1 Introdução.....	13
1.1 Problema.....	15
1.2 Hipótese.....	15
1.3 Objetivos.....	15
1.3.1 Objetivo geral.....	15
1.3.2 Objetivos específicos.....	15
2 Revisão de literatura.....	16
2.1 Produção mundial de uvas e vinhos.....	16
2.2 Produção nacional de uvas e vinhos.....	16
2.3 Região da Campanha Gaúcha.....	17
2.4 'Cabernet Sauvignon'.....	21
2.5 Metoxipirazinas (MPs).....	23
2.6 Análises de metoxipirazinas (MPs).....	25
3 ARTIGO – Presença de metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).....	30
Abstract.....	30
Introdução.....	31
Material e métodos.....	33
Localização geográfica dos vinhedos.....	33
Elaboração dos vinhos.....	34
Análises físico-químicas.....	36
Quantificação de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP).....	36
Análise sensorial.....	38
Desenho experimental e análise estatística.....	39
Resultados.....	39
Características gerais.....	39
Presença e quantificação de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP) em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha.....	39
Análise sensorial dos vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha.....	40
Discussão.....	42

Vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha Gaúcha apresentam baixos níveis de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP)	42
Vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha Gaúcha revelam baixa expressão sensorial dos aromas relacionados às metoxipirazinas	46
Conclusões.....	50
Agradecimentos	50
Referências	51
Tabelas	57
Figuras	59
Informações de apoio	63
4 Considerações finais	65
Referências	66
Anexos	71
Anexo 1 – Comprovante de submissão do artigo “Presence of methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon wines from the Campanha Gaúcha region (Rio Grande do Sul, Brazil)” para o periódico Australian Journal of Grape and Wine Research	71
Anexo 2 – Folha de rosto do artigo submetido ao Australian Journal of Grape and Wine Research.....	72

1 Introdução

O estado do Rio Grande do Sul é o mais representativo na produção de uvas no Brasil, participando de mais de 50% do total produzido e correspondendo a mais de 60% de áreas plantadas e colhidas (IBGE, 2019). No ano de 2018, o estado foi o responsável por mais de 80% da produção nacional de vinhos (IBRAVIN, 2019; OIV, 2019).

A maior parte da produção gaúcha e brasileira é destinada a uvas comuns, visando a elaboração de vinhos de mesa e sucos, e está concentrada na região da Serra Gaúcha (MELLO e MACHADO, 2017). Nas últimas décadas, entretanto, houve um aumento na demanda de vinhos finos e espumantes de qualidade, diversificando a produção na Serra e expandindo a vitivinicultura para outras regiões, seja dentro ou fora do estado (GIOVANNINI e MANFROI, 2009; HOFF et al, 2018). Nesse contexto, destaca-se a região da Campanha Gaúcha, a qual concentra-se na produção de uvas viníferas, especialmente uvas tintas internacionalmente conhecidas, como ‘Cabernet Sauvignon’, ‘Pinot Noir’, ‘Tannat’ e ‘Merlot’, além das brancas ‘Chardonnay’, ‘Gewurztraminer’ e ‘Sauvignon Blanc’ (MANFIO, 2018).

A região da Campanha Gaúcha recebe destaque por possuir um clima mais seco e de maior luminosidade na maioria das safras, possibilitando maior acúmulo de açúcar e compostos fenólicos nas uvas, incrementando a qualidade dos vinhos (PÖTTER et al, 2010). Essas condições são muito importantes quando se refere a elaboração de vinhos tintos principalmente, somando-se a elas a sanidade da matéria-prima e o perfil aromático do produto final, podendo este último ser considerado um importante fator de diferenciação entre regiões produtoras (FALCÃO et al, 2008; XIE et al, 2019).

Em algumas variedades de uvas, uma característica acentuada de “aromas verdes” pode colaborar para a complexidade aromática do vinho obtido. Essas notas encontradas sobretudo em vinhos ‘Cabernet Sauvignon’ estão associadas à presença de metoxipirazinas (MPs), compostos presentes em diferentes vegetais que contribuem significativamente no aroma dos vinhos (KOTSERIDIS et al, 2008; RYONA et al, 2009; PONS et al, 2018). Embora possa ser considerada uma característica típica, vinhos de Cabernet Sauvignon que apresentam esse caráter herbáceo (aroma verde) acentuado são preteridos pelos consumidores.

O Cabernet Sauvignon é um dos vinhos de maior destaque dentre as *Vitis vinifera* e um dos vinhos tintos mais reconhecidos e apreciados no mundo. Essa variedade tem um grande apelo de mercado, sendo a uva vinífera mais cultivada em nível mundial (OIV, 2017), e a mais importante uva tinta vinífera do Rio Grande do Sul em termos de área plantada (MELLO e MACHADO, 2017).

Diferentes estudos têm demonstrado que a concentração de MPs nos vinhos está relacionada com as condições edafoclimáticas da região onde são produzidas as uvas utilizadas para a sua elaboração (RAUHUT e KIENE, 2019). Em geral, uvas produzidas em regiões mais quentes, secas e com maior exposição solar no período da maturação apresentam menor concentração de MPs (PONS et al, 2018). Os teores também tendem a ser menores em vinhos provenientes de regiões de altitudes mais baixas (FALCÃO et al, 2008). Essas características acima citadas são compatíveis à região da Campanha Gaúcha, embora a mesma seja bastante ampla e apresente significativa diversidade de solos e relevos (PÖTTER et al, 2010).

Dentre as principais MPs encontradas em vinho, destacam-se a 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP) e 3-sec-butil-2-metoxipirazina (SBMP) (KOTSERIDIS et al, 2008). A IBMP é a principal metoxipirazina encontrada em uvas e vinhos, conferindo o aroma de pimentão verde (LEI et al, 2018). A IPMP é reconhecida por conferir notas de aspargos e também pode ocasionar um odor de terra, enquanto a SBMP remete a ervilhas verdes e é menos frequentemente detectada que as anteriores (SIDHU et al, 2015).

Para avaliar as MPs em vinhos, faz-se necessário o uso de técnicas analíticas de alta performance, e várias metodologias já foram descritas na literatura (SALA et al, 2000; 2002; 2004; FALCÃO et al, 2008; KOTSERIDIS et al, 2008; PICKERING et al, 2008; BOTEZATU et al, 2014; MARTIN et al, 2016). Dentre as técnicas relatadas, destaca-se a utilização de cromatografia gasosa aliada à espectrometria de massa (GC-MS) após a microextração em fase sólida dos compostos de interesse.

Além disso, deve ser considerada a análise sensorial, pois mesmo em baixas concentrações as MPs possuem uma intensidade aromática extremamente alta (BOTEZATU et al, 2014). A análise sensorial também se faz importante a fim de avaliar o perfil geral do vinho, compreendendo suas características visuais, olfativas e gustativas.

Diante do exposto, este trabalho objetiva avaliar a presença de metoxipirazinias em vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon elaborados com uvas provenientes

de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha através da técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) e análise sensorial.

1.1 Problema

A variedade Cabernet Sauvignon é a mais importante uva vinífera tinta cultivada no sul do Brasil e uma das mais plantadas no mundo. Contudo, vinhos dessa variedade tendem, em alguns casos, a apresentar aromas considerados indesejáveis pelos consumidores devido à presença de metoxipirazinas (MPs).

1.2 Hipótese

Os vinhos produzidos com uvas oriundas da Campanha Gaúcha apresentam um baixo teor de MPs, devido ao maior potencial de maturação das frutas proporcionado pelas condições climáticas da região.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

Avaliar a presença de MPs em vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon elaborados com uvas provenientes da Campanha Gaúcha.

1.3.2 Objetivos específicos

- Avaliar quantitativamente as MPs presentes em vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon produzidos com uvas oriundas da Campanha Gaúcha;
- avaliar, através da análise sensorial, se a concentração de metoxipirazinas em vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon produzidos na região são perceptíveis sensorialmente; e
- obter mais informações acerca do potencial da variedade Cabernet Sauvignon na região, gerando informação sobre o assunto.

2 Revisão de literatura

2.1 Produção mundial de uvas e vinhos

De acordo com dados divulgados pela Organização Internacional da Uva e do Vinho (OIV, 2019), foram produzidas 77,8 milhões de toneladas (mt) de uva em 7,4 milhões de hectares (mha) no mundo no ano de 2018. A China é a maior produtora de uvas no mundo, chegando a 11,7 mt, onde 84% da produção destina-se a uvas de mesa. Na sequência, estão situados como maiores produtores de uva: Itália (8,6 mt), Estados Unidos e Espanha (6,9 mt cada) e França (6,2 mt). Quando se trata de área de superfície de vinhedos, a Espanha lidera com 969.000 ha, seguida de China (875.000 ha), França (793.000 ha), Itália (705.000 ha) e Turquia (448.000 ha). Esses cinco países concentram, aproximadamente, 50% da área mundial de vinhedos.

Dentre as variedades de uva cultivadas no mundo, 'Kyoho' é a que possui maior área plantada, com cerca de 365.000 hectares (OIV, 2017). Essa variedade tinta destina-se à mesa e é a mais cultivada no continente asiático (VIVC, 2020). Dentre as mais cultivadas, 'Cabernet Sauvignon' apresenta-se como a segunda colocada no geral e é a variedade *Vitis vinifera L.* mais cultivada no mundo, possuindo 341.000 hectares (ha). No ranking, é seguida de 'Sultanina' (273.000 ha), 'Merlot' (266.000 ha), 'Tempranillo' (231.000 ha), 'Airen' (218.000 ha) e 'Chardonnay' (210.000 ha) (OIV, 2017).

Em relação à produção mundial de vinhos, segundo OIV (2019), em 2018 o total produzido foi de 292 milhões de hectolitros (mhl), 17% a mais do que a safra anterior. A Itália é a maior produtora de vinhos no mundo, tendo produzido 54,8 mhl, seguida por França (48,6 mhl), Espanha (44,4 mhl), Estados Unidos (23,9 mhl) e Argentina (14,5 mhl). A China, maior produtora de uvas, é a décima maior produtora de vinhos, com 9,1 mhl.

2.2 Produção nacional de uvas e vinhos

De acordo com o último levantamento global realizado (OIV, 2019), o Brasil foi o 15º maior produtor de uvas em nível mundial no ano de 2018, chegando a aproximadamente 1,6 milhão de toneladas (mt). Uma pesquisa nacional trouxe os dados da safra 2018, expressando que foram colhidos 1.592,2 mt de uva no país,

sendo 822.689 mt (51,66% do total nacional) oriundos do estado do Rio Grande do Sul (IBGE, 2019). Ainda de acordo com o mesmo estudo, a região Sul é a mais representativa na produção (58,9%), seguida de Nordeste (31,5%) e Sudeste (9,2%).

No ano de 2018, o Brasil foi o 15º no ranking de maiores produtores de vinho (OIV, 2019). O Rio Grande do Sul também é o mais importante estado na produção vinícola (Tabela 1), chegando a cerca de 2,5 milhões de hectolitros de vinho produzidos no ano de 2018 (incluindo comuns e finos), enquanto a produção nacional no mesmo ano foi de 3,1 mhL (IBRAVIN, 2019; OIV, 2019).

Tabela 1 – Dados da produção nacional de vinhos em milhões de hectolitros (mhL): demonstrativo de Rio Grande do Sul e Brasil nos anos de 2016, 2017 e 2018.

	Safra 2016	Safra 2017	Safra 2018
Vinhos finos produzidos no Rio Grande do Sul ^a	0,20	0,49	0,39
Vinhos comuns produzidos no Rio Grande do Sul ^a	0,86	2,54	2,18
Total de vinhos produzidos no Rio Grande do Sul ^a	1,06	3,03	2,57
Total de vinhos produzidos no Brasil ^b	1,30	3,60	3,10

Fonte: IBRAVIN, 2019^a; OIV, 2019^b.

Em relação às regiões produtoras de uvas e vinhos, a maior parte da produção nacional é oriunda da Serra Gaúcha, havendo a expansão nas últimas décadas para outras zonas (PÖTTER et al, 2010). Recebem destaque: Campanha Gaúcha, Serra do Sudeste e Campos de Cima da Serra (Rio Grande do Sul); Vale do Rio do Peixe e Serra Catarinense (Santa Catarina) e Vale do Rio São Francisco (Bahia e Pernambuco, principalmente) (GIOVANNINI e MANFROI, 2009). Afora essas regiões citadas, destaca-se também São Paulo, sobretudo com a região de São Roque (BARCIA et al, 2014); Minas Gerais, com a região de Caldas (REGINA et al, 2010); e a região centro-oeste, que soma cerca de 200 hectares de vinhedo (IBGE, 2020).

2.3 Região da Campanha Gaúcha

A Campanha Gaúcha é considerada uma região recente na produção de uvas e vinhos, tendo seus primeiros vinhedos comerciais iniciados no início da década de 1980 (GIOVANNINI e MANFROI, 2009). Apesar disso, há registros da vitivinicultura bem anteriores a esse período, com a família Marimon – imigrantes espanhóis vindos do Uruguai – se estabelecendo na região no final do século XIX (década de 1880),

cultivando uvas e produzindo seu vinho no antigo povoado do Seival, atualmente município de Candiota (MANFIO, 2018). Ainda de acordo com esse último trabalho, há indícios de que em Uruguaiana também haja registros do cultivo da videira desde o mesmo período (ano 1887).

A região é bastante ampla (Figura 1), compreendendo vários municípios e diferentes condições de clima e solo. Está localizada na mesorregião do Sudoeste Rio-Grandense e é subdividida em três microrregiões: Campanha Ocidental (Alegrete, Itaqui, Maçambará, Quaraí e Uruguaiana), Campanha Central (Rosário do Sul, Santana do Livramento e São Gabriel) e Campanha Meridional (Aceguá, Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Hulha Negra e Lavras do Sul) (IBGE, 2006).



Figura 1 – Região da Campanha Gaúcha: municípios e indicações de empreendimentos vitivinícolas
Fonte: Associação Vinhos da Campanha. Disponível em: <<http://vinhosdacampanha.com.br/>> Acesso em: 03 jul 2019.

A microrregião mais importante em termos de quantidade de uva produzida e área plantada de vinhedos é a Campanha Central (Tabela 2). Embora haja essa subdivisão geográfica, para obter o selo de Indicação de Procedência dos Vinhos da Campanha, considerou-se a região como um todo, compreendendo os seguintes municípios: Alegrete, Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Hulha Negra, Itaqui, Lavras do

Sul, Maçambará, Quaraí, Rosário do Sul, Santana do Livramento e Uruguaiana (MELLO e MACHADO, 2017). As variedades mais cultivadas na região são aquelas internacionalmente conhecidas e difundidas no mercado (Tabela 2). Além das citadas na tabela, destacam-se: ‘Cabernet Franc’, ‘Marselan’, ‘Pinot Noir’ e ‘Tempranillo’ (tintas); e as brancas ‘Gewürztraminer’, ‘Riesling’, ‘Sauvignon Blanc’ e ‘Pinot Grigio’ (MANFIO, 2018).

Tabela 2 – Produção de uvas na região da Campanha Gaúcha: subdivisão em microrregiões, municípios mais representativos, áreas com vinhedos, total produzido e variedades mais cultivadas

Microrregião	Municípios mais representativos no cultivo de uvas	Uvas viníferas (<i>Vitis vinifera</i> L.)			Produção total de uvas	
		Áreas com vinhedo (ha)*	Produção (toneladas)*	Variedades mais cultivadas (em ordem)*	Áreas com vinhedo (ha)*	Produção (toneladas)*
Campanha Central	Santana do Livramento, Rosário do Sul	980,6	5742,6	Chardonnay(1), Cabernet Sauvignon(2), Tannat(3)	986,4	5812,4
Campanha Meridional	Candiota, Dom Pedrito, Bagé	223,8	864,9	Cabernet Sauvignon(1), Chardonnay(2), Tannat e Merlot(3)	223,8	864,9
Campanha Ocidental	Quaraí, Uruguaiana, Maçambará	110,4	548,5	Cabernet Sauvignon(1), Chardonnay(2), Merlot(3)	114,7	580,7
Total de uvas viníferas		1314,8	7156,0	Total de uvas	1324,9	7258,0

* Dados obtidos no último levantamento realizado (Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul – 2013 a 2015).

Fonte: MELLO e MACHADO, 2017.

As diferenças encontradas nas microrregiões são bastante perceptíveis nas condições de clima e solo dos municípios. Por exemplo, em Santana do Livramento, há a predominância de solos arenosos, enquanto em Uruguaiana destacam-se solos pouco profundos com maior acúmulo de argila (GIOVANNINI e MANFROI, 2009). Em geral, também se observa que dentro de cada município pode haver uma diversidade de solos. Em Bagé e Candiota podem ser observados os tipos Planossolo, Vertissolo e Argissolo (MANFIO, 2018). Além dos tipos de solos citados anteriormente, há muitas áreas da Campanha com Neossolos, bem como Alissolos e Luvisolos (STRECK et al, 2002). De modo geral, os solos da região são caracterizados como pobres em

matéria orgânica, tornando a incorporação de nitrogênio ao solo uma prática recorrente para a produção de uvas (BRUNETTO et al, 2007).

Em relação ao clima, deve-se também considerar a diversidade causada pela grande extensão da região. Entretanto, destaca-se que, na maioria das safras, o clima apresenta-se mais seco e com maior luminosidade que outras regiões produtoras (PÖTTER et al, 2010). Estima-se que a região possua 1300 a 1500 mm de precipitação anual, enquanto em outras regiões, esses valores ultrapassam 1800 mm (GIOVANNINI e MANFROI, 2009). Uma pesquisa apontou que entre 1961 e 2009, no município de Bagé, ocorreram em média mais de 20 dias sem chuva em cada mês entre dezembro e março, período correspondente à maturação e amadurecimento das uvas na região (TEIXEIRA et al, 2013). O Atlas Climático do Rio Grande do Sul, baseado em estações meteorológicas da FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária/RS), demonstrou a precipitação média em alguns municípios de 1976 a 2005: Dom Pedrito – 1434,1 mm; Piratini – 1460,8 mm; Rosário do Sul – 1598,9 mm; Uruguaiana – 1300,6 mm (MATZENAUER et al, 2011).

De acordo com o Sistema de Classificação Climática Multicritérios (CCM), a Campanha Gaúcha é a região vitivinícola mais quente do Rio Grande do Sul, atingindo o índice heliotérmico de 2.667 (TONIETTO et al, 2012). Além disso, de acordo com o mesmo estudo, é uma região que tende a apresentar noites “temperadas”, com índice de frio noturno de 16,6°C, e é uma região sub-úmida, apresentando 117 mm no índice de seca. A maioria das regiões vitivinícolas brasileiras são classificadas como “úmidas”. As safras 2018 e 2019 na Campanha Gaúcha foram distintas (ALVES e TONIETTO, 2018; ALVES et al, 2019). Na primeira, as condições foram mais favoráveis para o cultivo de uvas, enquanto na segunda safra, especialmente nos meses de janeiro e fevereiro, houve um alto índice de precipitação, o que prejudicou a qualidade da safra (Figura 2). Além disso, nos principais meses de colheita da uva (janeiro a março), houve um maior acúmulo de insolação na primeira safra.

INSOLAÇÃO (horas)																		
	Outubro			Novembro			Dezembro			Janeiro			Fevereiro			Março		
Safra 2018	75	50	85	100	115	100	95	105	120	115	95	90	110	90	70	85	80	60
Safra 2019	75	70	80	100	85	80	125	35	115	65	45	95	85	85	55	75	55	70

PRECIPITAÇÃO (milímetros)																		
	Outubro			Novembro			Dezembro			Janeiro			Fevereiro			Março		
Safra 2018	25	160	55	10	10	5	5	10	50	20	5	20	0	35	30	5	75	55
Safra 2019	50	55	5	20	191	5	0	171	35	231	215	20	25	5	30	5	40	15

TEMPERATURA MÉDIA (°C)																		
	Outubro			Novembro			Dezembro			Janeiro			Fevereiro			Março		
Safra 2018	18,0	17,0	17,5	19,0	19,5	18,0	23,0	23,5	24,5	24,0	25,0	23,5	25,0	22,0	21,5	22,0	19,5	20,0
Safra 2019	17,0	18,0	19,0	21,0	21,5	22,0	19,0	23,0	25,0	24,0	23,0	26,0	23,0	22,5	22,0	23,0	21,0	19,0

Figura 2 – Comparativo das condições climáticas das safras 2018 e 2019 na Campanha Gaúcha: insolação (expresso em horas), precipitação (em milímetros) e temperatura média (em graus Celsius).
Fonte: Adaptado de Alves e Tonietto (2018) e Alves et al. (2019).

2.4 ‘Cabernet Sauvignon’

‘Cabernet Sauvignon’ é uma variedade de uva tinta *Vitis vinifera L.* originária da região de Bordeaux (França) a partir do cruzamento entre ‘Cabernet Franc’ e ‘Sauvignon Blanc’ (BOWERS e MEREDITH, 1997). Possui brotação tardia, assim como sua maturação, sendo uma das últimas variedades a serem colhidas na safra (GIOVANNINI e MANFROI, 2009). Sua morfologia apresenta folhas de dimensões médias, formato pentagonal e com cinco lóbulos (Figura 3). Os cachos geralmente são pequenos e cilíndricos, podendo ter uma ala visível na parte superior (Figura 4).



Figura 3 – Folha de videira Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.)

Fonte: Doris Schneider, Ursula Brühl, Instituto Julius Kühn (JKI), Centro Federal de Pesquisa para Plantas Cultivadas, Instituto de Melhoramento da Vinha Geilweilerhof - 76833 Siebeldingen, Alemanha. Vitis International Variety Catalogue VIVC. Disponível em: <http://www.vivc.de/index.php?r=fotoverweise%2Fresult&FotoverweiseSearch%5Bkenn_nr%5D=&FotoverweiseSearch%5Bleitname%5D=cabernet+sauvignon&FotoverweiseSearch%5Bcolor%5D=&FotoverweiseSearch%5Butilization%5D=&FotoverweiseSearch%5Bcountry%5D=&FotoverweiseSearch%5Bgattung_id2%5D=&FotoverweiseSearch%5Bpartplants%5D=#> Acesso em: 28 jan 2020.



Figura 4 – Cacho de uvas Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.), imagem obtida a campo em vinhedo comercial em Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brasil.

Essa variedade possui um grande apelo mercadológico, sendo a uva vinífera mais cultivada no mundo, com 341.000ha de área plantada (OIV, 2017). No Brasil, foi

introduzida na década de 1920, mas houve o incremento de seu cultivo somente a partir dos anos 1980, principalmente na Serra e na Campanha Gaúcha (RIZZON e MIELE, 2002).

A recomendação de seu cultivo é exclusivamente para vinificação, e apresenta melhores resultados quando há a introdução de uma pequena parcela de outras variedades para incrementar corpo e redondeza aos vinhos (INRA, 2020). Origina tanto vinhos que podem ser envelhecidos, quanto aqueles que podem ser consumidos mais jovens (GIOVANNINI e MANFROI, 2009).

Essa variedade também é conhecida por possuir aromas de pimentão verde, principalmente por ter sido a primeira onde houve a detecção do composto 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), responsável por conferir esse aroma, na década de 1970 pelos pesquisadores Bayonove e Cordonnier (LEI et al, 2018). Esse aroma pode estar presente também em outras variedades, e geralmente é menor em regiões mais quentes e secas, e de menor altitude (FALCÃO et al, 2008). Afora esse aroma, outras notas podem ser percebidas: amora, groselha, café, toranja, maracujá, pimenta, menta, entre outras (RAUHUT e KIENE, 2019).

2.5 Metoxipirazinas (MPs)

MPs são compostos nitrogenados heterocíclicos naturais que conferem odor vegetativo ou terroso a vários vegetais frescos, incluindo uvas (FONTANA et al, 2017). Nos vinhos, são relatadas como as principais responsáveis pelos aromas “verdes” (RAUHUT e KIENE, 2019). Dentre as MPs encontradas em uvas e vinhos (Figura 5), destacam-se três: 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP) e 3-sec-butil-2-metoxipirazina (SBMP) (LEI et al, 2018). Dessas três, IBMP é a mais abundante, e seu principal descritor aromático é o pimentão verde (PONS et al, 2018). A IPMP confere notas de aspargos e também pode ocasionar um odor de terra, e a SBMP remete a ervilhas verdes e é menos frequentemente detectada que as anteriores (SIDHU et al, 2015).

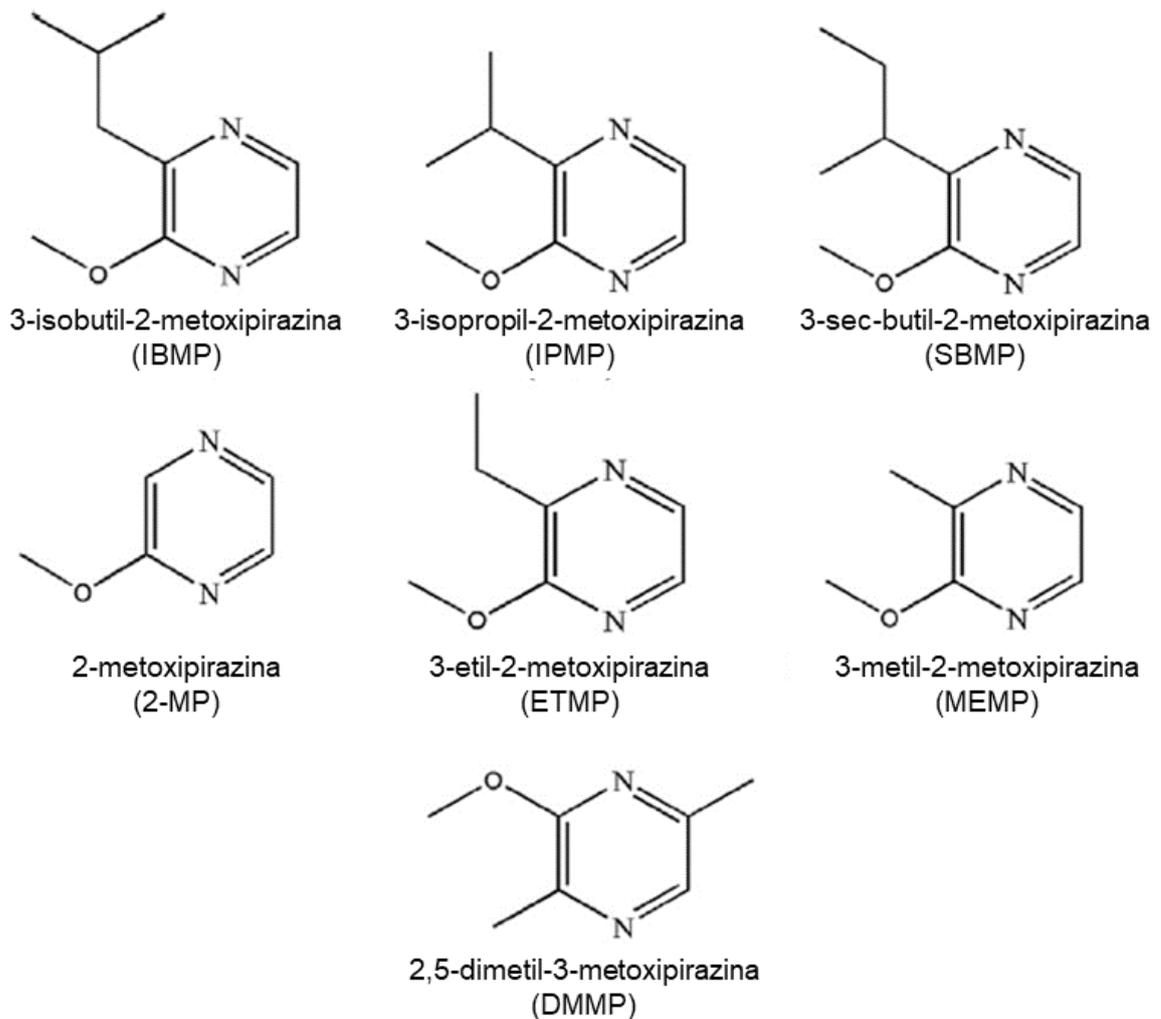


Figura 5 – Estruturas químicas das metoxipirazinas encontradas na literatura para uvas e vinhos
 Fonte: LEI et al, 2018.

Esses compostos são acumulados nos cachos principalmente entre a frutificação (*fruit set*) e a mudança de cor (*véraison*), e posteriormente ocorre um decréscimo na concentração (RYONA et al, 2010). As MPs agem como sinalizadores para evitar que os tecidos jovens sejam comidos por potenciais predadores (LEI et al, 2018). Além dos cachos, as MPs podem estar presentes em toda a estrutura da videira, incluindo raízes, brotos e folhas, embora seja nos cachos a maior concentração desses compostos no final do ciclo anual. Ainda assim, aproximadamente 78% do teor de MPs nas uvas situam-se no pecíolo e 22% na baga, e do conteúdo presente na baga, a maioria se encontra na casca (72%), 24% nas sementes e apenas 4% na polpa (GUILLAUMIE et al, 2013).

As MPs não são encontradas apenas em vinhos Cabernet Sauvignon, tendo sido também relatadas em ‘Cabernet Franc’ (RYONA et al, 2009), ‘Merlot’ (PONS et

al, 2018), 'Carmenere' (BELANCIC e AGOSIN, 2007) e 'Sauvignon Blanc' (GREGAN e JORDAN, 2016). Em pequenas concentrações as MPs podem contribuir positivamente para a complexidade aromática de vinhos tintos, no entanto, quando presentes em excesso são consideradas indesejáveis, principalmente em Cabernet Sauvignon, indicando que o vinho foi elaborado a partir de uvas que não atingiram um completo amadurecimento (MOZZON et al, 2016). Esses compostos são extremamente potentes no impacto sensorial, sendo 15 ng/L o limiar de detecção sensorial da IBMP (DE BOUBÉE et al, 2000).

Os vinhos tintos oriundos de regiões mais frias tendem a possuir maiores concentrações de MPs (FALCÃO et al, 2008; MOZZON et al, 2016; KEMP et al, 2019). Para que ocorra o decréscimo dos níveis de MPs, é necessária maior disponibilidade de luz e temperatura durante a maturação (SALA et al, 2004). Outros fatores, como manejo do dossel vegetativo, ocorrência de doenças e ponto de colheita da uva, também são reportados na literatura. Gregan e Jordan (2016) demonstraram que a desfolha na área dos cachos foi efetiva para a diminuição dos teores de MPs em geral, especialmente de IBMP, em duas das três safras de estudo em vinhedo experimental localizado na Nova Zelândia. Em relação às doenças, Pons et al (2018) avaliaram o impacto do míldio (*Plasmopara viticola*), principal fungo que afeta a fitossanidade das videiras, e observaram que em cachos não afetados os valores de MPs foram inferiores em relação aos danificados pelo fungo. De acordo com Bindon et al (2013) e Schelezki et al (2018), o ponto de colheita das uvas também afeta na concentração das MPs. Conforme os resultados obtidos em ambos os trabalhos, uvas mais amadurecidas apresentam menores teores de MPs.

2.6 Análises de metoxipirazinas (MPs)

Várias metodologias para análise de metoxipirazinas já foram descritas na literatura (SIDHU et al., 2015). Destaca-se o uso da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) após a microextração em fase sólida dos compostos (SPME) (KOTSERIDIS et al, 2008).

A microextração em fase sólida (SPME) é uma técnica utilizada no preparo de amostras, a fim de realizar a extração ou pré-concentração rápida principalmente de compostos voláteis e semivoláteis sem a utilização de solventes (ARAÚJO, 2011). A

SPME envolve, dentre outros, dois processos principais: a sorção (extração) dos compostos voláteis da amostra e a dessorção térmica dos compostos no interior de um cromatógrafo (WELKE et al, 2012). Para realizar esse processo, são necessários alguns itens: um *vial* para inserção da amostra, devendo ser fechado hermeticamente; um *holder* contendo a fibra que será exposta dentro do *vial* e um agitador magnético com controle de temperatura (Figura 6). Conforme demonstrado na figura abaixo, tanto para a análise de MPs, quanto para a análise de perfil aromático de vinhos, se aplica a técnica de “*headspace*” (HS-SPME), onde a fibra exposta na parte superior do *vial* não deve entrar em contato com o líquido.

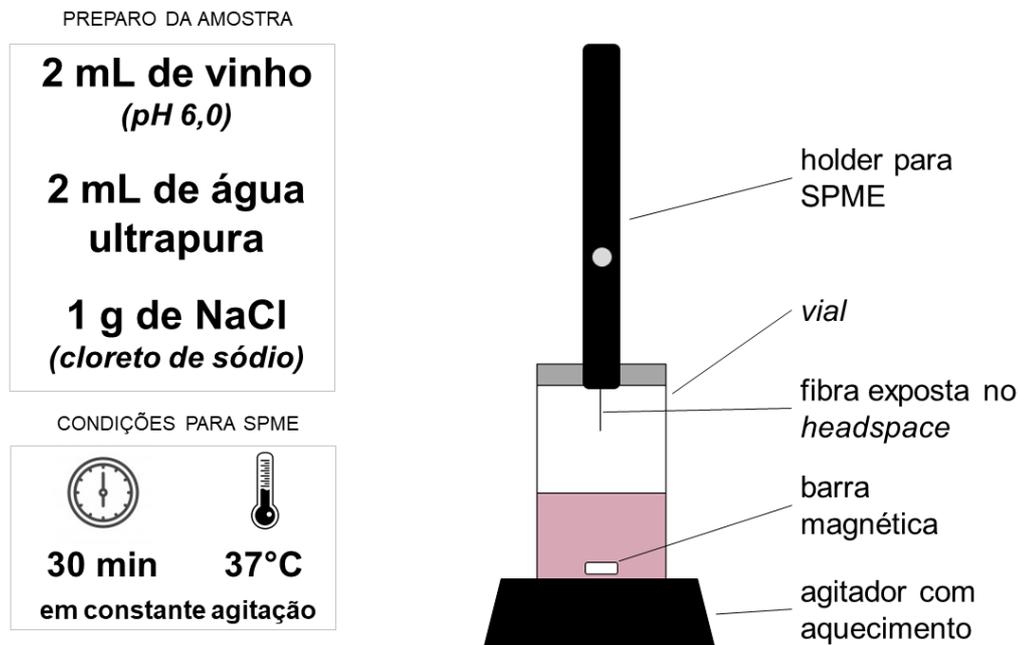


Figura 6 – Microextração em fase sólida no modo “headspace” (HS-SPME) de amostras de vinhos Cabernet Sauvignon: preparo de amostra, condições de tempo e temperatura e itens necessários

Dentre 26 trabalhos citados por Sidhu et al (2015), o processo de HS-SPME foi utilizado em 9, e a fibra utilizada na maioria dos trabalhos foi divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS). Essa fibra é recomendada para analisar compostos orgânicos voláteis e semivoláteis que contenham de 3 a 20 átomos de carbono em sua estrutura (C₃-C₂₀). As principais MPs encontradas em vinhos possuem oito (IPMP) e nove (IBMP e SBMP) (LEI et al, 2018). Para a extração das MPs, trabalhos relevantes na área citam a importância de diminuir o teor alcoólico da amostra, seja por diluição ou eliminação por rotaevaporação (SALA et al, 2002; KOTSERIDIS et al, 2008). Além disso, Kotseridis et al (2008) abordam a

importância do ajuste de pH para a faixa de 6,0, visando aumentar área e intensidade dos picos das MPs na análise cromatográfica. As condições de tempo e temperatura mais comumente empregada são de 30 minutos e 37-40°C, respectivamente (KOTSERIDIS et al, 2008; PICKERING et al, 2008; RYONA et al, 2009; BOTEZATU et al, 2014). Nos mesmos trabalhos, também foi citada a necessidade da adição de cloreto de sódio (NaCl) à amostra, geralmente numa proporção de 3 gramas para 10 mL de amostra. A adição de NaCl auxilia o processo, facilitando a transferência de analitos da amostra para o *headspace*, pois aumenta a força iônica do meio, promovendo o efeito conhecido como “*salting out*” (WELKE et al, 2012).

A cromatografia gasosa (GC) consiste na separação de componentes vaporizados, combinando-se princípios de partição, adsorção e volatilidade (COLLINS et al, 1997; ARAÚJO, 2011). De forma geral, a GC é geralmente utilizada em conjunto com a técnica de espectrometria de massas (MS), a qual permite a detecção e identificação da estrutura das moléculas (KOTSERIDIS et al, 2008; PICKERING et al, 2008; BLAKE et al, 2010; PAVIA et al, 2010).

De acordo com Araújo (2011), a configuração básica para um cromatógrafo gasoso contém os seguintes componentes: gás carreador, forno, coluna, detector, amplificador e computador para aquisição e coleta de dados (Figura 7). O gás carreador, ou gás de arraste, tem a função de transportar os analitos no sistema, sendo o Hélio o mais comumente utilizado para detectores por espectrometria de massa, sob fluxo de 0,8 a 1,5 mL/min (SALA et al, 2002; KOTSERIDIS et al, 2008; RYONA et al, 2009; BOTEZATU et al, 2014; MARTIN et al, 2016). A coluna cromatográfica, contendo a fase estacionária, tem a função de separar as substâncias presentes na amostra (COLLINS et al, 1997). Para a separação de MPs, são geralmente utilizadas colunas com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme (SIDHU et al, 2015). O forno possui a função de aumentar a temperatura da coluna cromatográfica, de acordo com a programação realizada no método (ARAÚJO et al, 2011). A maioria dos métodos empregados para MPs empregam uma temperatura inicial de 30-40°C, seguido por um aumento gradual (geralmente de 3°C/min) até 110°C e, por fim, um aumento gradual de 25°C/min até 230-250°C (KOTSERIDIS et al, 2008; PICKERING et al, 2008; BLAKE et al, 2010).



Figura 7 – Cromatógrafo gasoso acoplado à espectrômetro de massas localizado no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LACEM) da UFPel

O emprego de espectrômetros de massas acoplados à GC tende a proporcionar maior seletividade e detecção, sendo a técnica de GC-MS referência na maioria dos trabalhos que envolvem análise de compostos voláteis em vinhos e espumantes (WELKE et al, 2012). O espectrômetro de massas é constituído de unidade de entrada da amostra, fonte de ionização, analisador de massas, detector e sistema de aquisição e tratamento de dados (PAVIA et al, 2010).

De forma geral, a fonte de ionização de impacto de elétrons (EI) é a mais comumente utilizada para o acoplamento GC-MS (KOTSERIDIS et al, 2008; RYONA et al, 2009; BLAKE et al, 2010). Na ionização por EI, uma alta energia (tipicamente de 70 eV) é empregada para provocar a ionização e fragmentação das moléculas (SILVA, 2013). Para a avaliação das MPs no modo SIM (*Selected Ion Monitoring*), os seguintes íons são monitorados: m/z 124, 109 e 81 para IBMP; m/z 137 e 152 para IPMP; m/z 138 e 124 para SBMP (KOTSERIDIS et al, 2008; BOTEZATU et al, 2014).

Se a análise for conduzida no modo “full scan” (varredura completa) para a detecção dos compostos, é realizada uma busca de vários íons em um intervalo específico de massas, e assim os resultados obtidos podem ser comparados com uma biblioteca de espectros (PAVIA et al, 2010). No entanto, devido aos baixos teores de MPs encontrados em vinhos (nanogramas por litro), é recomendável que seja feito no modo SIM para aumentar a sensibilidade do equipamento (KOTSERIDIS et al, 2008). Para confirmar a identificação, é realizada a comparação dos fragmentos observados

na amostra com a aplicação de um padrão analítico externo, principalmente em relação ao perfil e tempo de retenção do pico de interesse, sendo necessária a elaboração de uma curva de calibração com o padrão analítico para se realizar a quantificação (PICKERING et al, 2008; RYONA et al, 2009; PONS et al, 2018).

Em relação aos analisadores, um dos mais citados em trabalhos com MPs é o detector tipo quadrupolo (SIDHU et al, 2015). Esse analisador possui quatro barras sólidas paralelas na direção do feixe de íons, e consegue varrer compostos de baixa a alta razão massa/carga (m/z) (PAVIA et al, 2010). Outros métodos de detecção foram descritos e diferentes técnicas foram utilizadas: Pons et al (2018) e Falcão et al (2008) utilizaram GC-MS junto à técnica de olfatométrie (GC-O) e Sala et al (2000, 2002, 2004) utilizaram a técnica de cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD).

3 ARTIGO – Presença de metoxipirazinas em vinhos Cabernet Sauvignon da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil)

Artigo submetido em inglês ao periódico Australian Journal of Grape and Wine Research – ISSN 1322-7130 (Anexo 1).

Presence of methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon wines from the Campanha Gaúcha region (Rio Grande do Sul, Brazil) (Anexo 2)

Abstract

Background and Aims: High concentrations of methoxypyrazines are undesirable in Cabernet Sauvignon wine due to their characteristic aromas (green pepper and other vegetable notes). For this reason, we investigated the presence of these compounds in Cabernet Sauvignon wines made with grapes from different vineyards in Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, a new wine region of Brazil.

Methods and Results: Twenty wines were produced in two vintages, following the same winemaking methodology. Evaluations were performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and sensory analysis by Quantitative Descriptive Analysis (QDA). The wines had low levels of IBMP (<15 ng/L), and no other methoxypyrazine was identified. There was a tendency to obtain lower values as the harvesting point for the grapes became more advanced. In the sensory analysis, intensities of green pepper and vegetable aromas were low, with notes of red fruits standing out.

Conclusions: The presence of methoxypyrazines was relatively low in wines produced with grapes from the Campanha region, and the characteristic aromas were not perceptible in sensory analysis, except when the compound was added.

Significance of the Study: Based on the results obtained, Cabernet Sauvignon can be included in the list of cultivars in the Campanha region.

Keywords: *Brazilian wines, GC-MS, greenness, IBMP, sensory evaluation.*

Introdução

Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) é a uva vinífera mais cultivada em todo o mundo com aproximadamente 341.000 hectares de área plantada (OIV 2017).

Essa cultivar em condições de baixo acúmulo térmico, pouca insolação e muitas chuvas durante a maturação pode originar vinhos com característica sensorial que se associa a aromas “verdes”, e isso é devido à presença de metoxipirazinas (MPs) (Sala et al. 2004). MPs são compostos nitrogenados heterocíclicos naturais que contribuem para o odor normalmente descrito como vegetal, ou terroso, ou lembrando pimentão, e ocorrem em vários vegetais, não somente na uva (Fontana et al. 2017). Dentre as principais MPs encontradas em uvas e vinhos, destacam-se: 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP) e 3-sec-butil-2-metoxipirazina (SBMP) (Lei et al. 2018). Dessas três, IBMP é a mais abundante, e seu principal descritor aromático é o pimentão verde (Pons et al. 2018). Em altas concentrações, esse aroma é indesejável em vinhos tintos (Mozzon et al. 2016) e, assim, mesmo havendo um grande apelo mercadológico em torno dessa variedade, os vinhos tendem a ser preteridos quando apresentam essa característica de forma acentuada (Blake et al. 2010, Lattey et al. 2010). Em algumas regiões, por exemplo, o seu cultivo não

é recomendado em função da presença de elevadas concentrações de MPs nos vinhos, não alcançando as melhores condições para o amadurecimento (Kemp et al. 2019).

Falcão et al. (2008) relataram maior intensidade desse aroma em vinhos de Cabernet Sauvignon oriundos de vinhedos localizados em regiões mais altas e frias de Santa Catarina (Brasil). Noutras regiões, de maior intensidade luminosa, maior acúmulo térmico e menor pluviosidade, a IBMP está presente em baixas concentrações nos vinhos (inferior a 25 ng/L) (Bindon et al. 2013, Sidhu et al. 2015, Pons et al. 2018, Schelezki et al. 2018), porém é extremamente forte no impacto sensorial com limiares de percepção baixos, reportados na literatura como 15 ng/L em vinhos (De Boubée et al. 2000). Esse composto é acumulado até o estágio de *véraison* (mudança de cor das uvas) e decresce ao longo da maturação, necessitando de climas mais quentes e secos e maior luminosidade para que o decréscimo ocorra (Guillaumie et al. 2013).

Essas condições necessárias para a obtenção de teores mais baixos de IBMP são compatíveis à região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil), que se destaca por possuir características climáticas favoráveis à maturação de uvas tintas na maioria das safras (Pötter et al. 2010). Para mensurar isso, pode-se considerar o Quociente Heliopluiométrico de Maturação (QM), que expressa a relação entre os totais acumulados de insolação (expresso em horas) e chuvas (em mm) em determinado período (Westphalen 1977). Valores de QM superiores a 2,0 estão associados a uvas com maior acúmulo de açúcares, e considerando o período entre 2010 e 2019, apenas duas safras não alcançaram esse valor (Alves et al. 2019). Além disso, ao se empregar o Sistema de Classificação

Climática Multicritérios (CCM) (Tonietto and Carbonneau 2004), que considera a Campanha Gaúcha como região quente (índice heliotérmico de 2.667) e relativamente pouco úmida (índice de seca de 147 mm) entre as regiões vitivinícolas brasileiras (Tonietto et al. 2012), gera a hipótese de que a cultivar Cabernet Sauvignon possa ser produzida nessa macrorregião, sem acumular níveis elevados de IBMP e conferindo potencial para produção de vinhos com outras notas, como frutas vermelhas, café, pimenta, entre outras (Rauhut and Kiene 2019).

Diante do exposto, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de metoxipirazinas em vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon elaborados com uvas provenientes de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil) através da técnica de microextração em fase sólida (SPME) associada à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e por análise sensorial.

Material e métodos

Localização geográfica dos vinhedos

O período experimental compreendeu as safras 2018 e 2019, totalizando onze vinhedos localizados na região da Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil (Figura 1). Todos os vinhedos estudados nesse trabalho receberam uma letra de identificação junto à safra correspondente (por exemplo, A 2018), de acordo com a ordem de colheita das uvas.

Nas duas safras, foram colhidas uvas 'Cabernet Sauvignon' nos municípios de Candiota (latitude 31°25'29"S, longitude 53°43'12"W), Dom Pedrito (vinhedo 1:

30°59'07"S, 54°29'40"W; vinhedo 2: 31°01'25"S, 54°36'16"W), Maçambará (29°03'07"S, 55°40'51"W), Piratini (31°51'49"S, 53°02'52"W), Rosário do Sul (30°15'26"S, 54°58'43"W), Sant'ana do Livramento (30°47'31"S 55°21'59"W) e Uruguaiana (vinhedo 1: 29°54'49"S, 56°53'12"W; vinhedo 2: 29°56'54"S, 56°54'36"W). Na safra 2018, também foi realizada a colheita em outros dois vinhedos localizados na cidade de Bagé (vinhedo 1: latitude 31°15'23"S, longitude 54°06'10"W; vinhedo 2: 31°14'26"S, 53°58'36"W). A escolha dos locais e dos vinhedos foi baseada em dois critérios principais: os locais são representativos das condições edafoclimáticas da macrorregião da Campanha Gaúcha; e os vinhedos têm aproximadamente a mesma idade (15 anos) e cultivados no mesmo sistema de condução (espaldeira em cordão esporonado).

Elaboração dos vinhos

As uvas utilizadas no experimento foram colhidas, de modo geral, com 22,8 a 23,6 °Brix na safra 2018 e 19,6 a 21 °Brix na safra 2019. Ao total, quatro caixas com 15 kg de uva de cada vinhedo, por safra, foram coletadas ao acaso. As colheitas foram realizadas nos meses de fevereiro e março. Os mostos da safra 2018 apresentaram as seguintes características físico-químicas (intervalo de confiança, $\alpha=0,05$): densidade inicial – 1,097 a 1,100 g/mL; teor de açúcares redutores – 222,3 a 229,9 g/L; pH – 3,41 a 3,48; acidez total – 8,1 a 8,5 g/L H₂T (gramas por litro expressas em ácido tartárico); ácido tartárico – 5,2 a 5,7 g/L e ácido málico – 3,0 a 3,2 g/L. Os mostos da safra 2019 apresentaram: densidade inicial – 1,082 a 1,089 g/mL; teor de açúcares redutores – 182,4 a 195,7 g/L; pH – 3,41 a 3,53; acidez total – 8,3 a 8,7 g/L H₂T; ácido tartárico – 4,9 a 5,7 g/L e ácido málico – 2,8 a 3,3 g/L (Tabela S1).

Os procedimentos de vinificação foram aplicados igualmente a todas as uvas obtidas. Após a colheita, as uvas foram acondicionadas em câmara fria (3 °C por 18 horas) e, na sequência, submetidas ao processo de desengace e esmagamento. Todas as caixas de uva foram processadas separadamente e o material de cada uma foi introduzido em microtanques de vidro com capacidade de 20 litros. Foram adicionados 75 mg/kg de anidrido sulfuroso (SO₂) na forma de metabissulfito de potássio – E 224 (BASF SE, Ludwigshafen, Alemanha) e 2 g/hL de enzima pectolítica Colorpect VR-C[®] (Amazon Group Ltda., Bento Gonçalves, RS, Brazil). No mesmo dia de início do processamento, fez-se o preparo e a inoculação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* comerciais selecionadas AWRI 796[®] (AB Biotek, Sydney, Austrália) na dose de 20 g/100 kg, juntamente com 20 g/100 kg de ativante de fermentação Gesferm Plus[®] (Amazon Group Ltda., Bento Gonçalves, RS, Brazil).

A fermentação alcoólica foi conduzida sob temperatura controlada (20 ± 2 °C) durante sete dias de maceração, com duas remontagens diárias. Pela manhã, foram realizadas remontagens de ciclo fechado nos primeiros, terceiros e quintos dias; e remontagens de ciclo aberto nos segundos, quartos e sextos dias. À noite, até o sexto dia foram realizadas *pigeage* nas cascas e sementes das uvas. Posteriormente, foram realizadas a descuba (separação das partes sólida e líquida) e a trasfega dos vinhos para garrações de 4,6 litros, onde permaneceram para a fermentação malolática por 90 dias. Passado esse tempo, foram adicionados 50 mg/L de SO₂ e posteriormente submetidos à estabilização tartárica por 30 dias a 0 °C, e envase em garrafas de 750 mL.

Análises físico-químicas

As análises físico-químicas clássicas de caracterização dos vinhos (teor alcoólico, açúcar residual, pH, acidez total e acidez volátil) foram realizadas empregando o equipamento WineScan SO₂[®] (Foss Analytics, Hillerød, Dinamarca) através do método de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR). Os mostos foram analisados, no mesmo equipamento, logo após desengace e esmagamento das uvas. A última análise físico-química dos vinhos foi realizada após a fermentação malolática. As avaliações de intensidade e tonalidade de cor e índice de polifenóis totais (IPT) foram realizadas conforme Ribéreau-Gayon et al. (2006), empregando a técnica de espectrofotometria de UV/VIS (UV-2000A, Instrutherm, São Paulo, SP, Brasil).

Quantificação de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP)

Para a avaliação do composto 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), foi empregada a técnica de microextração em fase sólida (SPME) associada a um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS) Shimadzu[®] GC-MS QP2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). As análises foram realizadas de acordo com método apresentado por Kotseridis et al. (2008), com otimizações. Para o preparo da amostra, cada vinho teve o pH ajustado para a faixa de 6,0 com o uso de NaOH 2 mol/L (em 10 mL de vinho, foram necessários cerca de 400 µL de NaOH). Assim, em cada *vial* de SPME de 10 mL de capacidade, adicionou-se uma alíquota de 2 mL de vinho (pH 6,0) diluída em 2 mL de água ultrapura e 1 g de NaCl (cloreto de sódio). A continuação, as amostras foram fechadas hermeticamente, homogeneizadas utilizando agitação

magnética durante 2 minutos a 37 ± 1 °C, e a fibra de divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), 50/30 μm , (Supelco 57328-U®, Darmstadt, Alemanha) exposta no *headspace* por 30 minutos, sob as mesmas condições. A seguir, a fibra foi imediatamente inserida no injetor do GC-MS à temperatura de 250 °C.

Para separação cromatográfica foi utilizada uma coluna cromatográfica Rxi-1MS (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm) e o seguinte programa de temperatura: 40 °C por 5 minutos, aumentando a uma taxa de 3 °C/min até atingir 110 °C, permanecendo nesta condição por 1 minuto; e, por fim, aumentando 25 °C/min até alcançar 230 °C. Hélio foi usado como gás carreador com fluxo constante de 1 mL/min através da coluna. O espectrômetro de massas foi operado no modo de monitoramento de íons selecionados (SIM), temperatura de fonte de íons de 200 °C e interface de 290 °C.

Para identificação e quantificação de IBMP, foram selecionados os canais de massas m/z 124 e 81 após testes prévios, com base na literatura (Kotseridis et al. 2008, Botezatu et al. 2014). Uma curva de calibração externa com o padrão comercial de 2-Isobutyl-3-methoxypyrazine (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) na matriz, com faixa linear de 0,5 a 7,5 ng/L ($r^2=0,9974$), foi utilizada para a quantificação do composto nos vinhos. A quantificação foi realizada com base na área do pico m/z 124 (RT 20.41 ± 0.19) (Figura 2). Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram determinados com base no coeficiente angular (a) e no desvio padrão do coeficiente linear (σb) da curva de calibração para IBMP: $LOD = (3,3 * \sigma b)/a$ e $LOQ = (10 * \sigma b)/a$, respectivamente.

Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada no mesmo período do ano em que se realizou a avaliação das metoxipirazinas por GC-MS, por meio de análise descritiva quantitativa (ADQ) das amostras. A avaliação foi conduzida em dois painéis em cada ano, contando com 12 participantes (4 homens e 8 mulheres, com idade de 21 a 45 anos), todos com experiência de pelo menos três anos em degustação de vinhos.

As amostras foram numeradas aleatoriamente com três algarismos e 30 mL de cada amostra foram servidos. Os vinhos foram servidos a 16 °C em taças transparentes de vinho padrão (ISO 3591:1977) em ambiente com iluminação branca. Além dos vinhos analisados neste estudo, foram incluídas duas amostras de vinho tinto para calibração dos sentidos (servidas no início de cada painel) e outra controle com 20 ng/L de IBMP exógeno.

Todos os participantes receberam uma ficha por painel, onde descritores e características foram sugeridos e as amostras receberam uma pontuação de 0 (zero) a 9 (nove) de acordo com a intensidade de cada item. Na análise olfativa, sugeriram-se: “intensidade”, “qualidade” e os descritores “frutas vermelhas”, “pimentão verde” e “vegetal”. Afora isso, os avaliadores tiveram a oportunidade de sugerir outros descritores, caso houvesse. Em relação às características visuais e gustativas, foram avaliados os quesitos “intensidade de cor”, “acidez”, “adstringência”, “corpo”, “equilíbrio” e “persistência”.

Os procedimentos para análise sensorial foram aprovados e registrados em comitê de ética institucional (5323 – Fundação Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA) junto à Plataforma Brasil, registro 23197719.5.0000.5323.

Desenho experimental e análise estatística

O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cada vinho equivalendo a um tratamento, com quatro repetições biológicas por tratamento. Os resultados obtidos na quantificação de MPs e análise sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e avaliados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Resultados

Características gerais

Os vinhos produzidos nas safras 2018 e 2019 apresentaram ampla diversidade na composição físico-química geral (Tabela S2), com teores de álcool que variaram principalmente de 12 a 13% vol. na primeira e 10 a 12% vol. na segunda safra. De modo geral, maiores valores de intensidade de cor (0,9-1,1) e índice de polifenóis totais (31-37) foram observados em vinhos da primeira safra. Todos os vinhos desenvolvidos neste trabalho concluíram a fermentação alcoólica (teor de açúcar residual <4 g/L) e apresentam acidez volátil aceitável para vinhos (<0,8 g/L) (Brasil 2018).

Presença e quantificação de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP) em vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha

A identificação e quantificação de IBMP foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (Tabela 1). A concentração de IBMP detectada em todos os vinhos analisados neste estudo foi inferior a 15 ng/L. 14,20 ng/L (amostra "C 2018") foi a maior concentração de IBMP observada nos vinhos Cabernet Sauvignon avaliados. Nas demais amostras, a

concentração de IBMP variou de 0,55 a 3,68 ng/L e em seis amostras estudadas (“J” e “K” da safra 2018 e “B”, “G”, “H” e “I” da safra 2019) os níveis de IBMP estavam abaixo do limite de detecção do método (LOD).

Em 2018, menores concentrações de IBMP foram observadas em vinhos de uvas colhidas mais tardiamente, enquanto que todos os vinhos provenientes de uvas da safra de 2019 apresentaram concentrações de IBMP inferior a 1,65 ng/L ou abaixo do LOD (B 2019, G 2019, H 2019, I 2019).

Os íons referentes a 3-isopropyl-2-methoxypyrazine (IPMP) (m/z 137) e 3-sec-butyl-2-methoxypyrazine (SBMP) (m/z 138) também foram monitorados durante as análises e não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas.

Análise sensorial dos vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha

Foram observados baixos valores atribuídos aos vinhos Cabernet Sauvignon de ambas as safras em relação aos itens “pimentão verde” e “vegetal” (Tabela 2 e Figura 3). As maiores diferenças encontradas na análise olfativa foram detectadas em relação à amostra controle que teve a adição de 20 ng/L de IBMP, a qual apresentou maior intensidade olfativa, menor qualidade e se destacou com a maior percepção dos aromas de “pimentão verde” e “vegetal”.

A amostra controle (20 ng/L de IBMP) foi uma das amostras que recebeu menor nota em relação ao quesito qualidade (5,1). De modo geral, os vinhos com maior pontuação nesse critério foram “C 2018” e “I 2019” (ambos com nota 7,2), seguidos pelos demais vinhos elaborados na safra 2018 e as amostras “A”, “G”, “H” e “C” da safra seguinte (Tabela 2).

A amostra “C 2018” recebeu destaque em relação ao aroma de frutas vermelhas (7,7), seguida pelas amostras “H” e “J” da safra 2018 e “A”, “C”, “G”, “H” e “I” da safra 2019. Por outro lado, a amostra controle (20 ng/L de IBMP) apresentou menor percepção desse atributo (2,7), destacando a intensidade do aroma característico do composto que é objeto desse estudo, a IBMP, que confere aroma a pimentão verde. Todas as amostras de vinhos avaliadas (safra 2018 e 2019) apresentaram baixa percepção sensorial dos atributos “pimentão verde” e “vegetal”, os quais foram claramente evidenciados na amostra controle com 20 ng/L de IBMP (Figura 3).

Os resultados da análise sensorial visual e gustativa estão expressos na Figura 4. Vinhos da safra de 2018 apresentaram maior intensidade de cor, alcançando valores de 7,5 na escala (D 2018). Duas amostras da safra 2019 se destacaram positivamente nesse quesito (“A” e “I”, ambas com 6,6), enquanto outras duas apresentaram os valores mais baixos, não diferindo entre si (“B” – 2,0 e “E” – 2,2).

Na análise gustativa, os vinhos obtiveram pontuações médias para a acidez. Os vinhos da safra 2018 e outras cinco amostras da safra 2019 (“A”, “F”, “G”, “H” e “I”) receberam as pontuações mais altas (variando de 5,3 a 6,1). O mesmo foi observado em relação à adstringência, em que a maioria dos vinhos da safra 2018 obteve a pontuação média de 5,2. Os vinhos, de modo geral, apresentaram corpo médio (valores próximos a 5,3), destacando-se três amostras que receberam as pontuações mais altas, superiores a 6,0 (C 2018, A 2019 e I 2019). As únicas amostras que apresentaram valores menores estatisticamente foram “A 2018” e “B”, “C”, “D” e “E” da safra 2019. A maior parte dos vinhos se mostrou

equilibrada, destacando-se as amostras “C 2018” (7,1) e “A 2019” (6,8). Em relação ao item “persistência”, a amostra “C 2018” também recebeu a maior pontuação (6,4). Nos vinhos da safra 2019, se destacaram as amostras “A”, “I”, “G” e “H” com valores entre 5,4 e 6,3.

Discussão

Vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha Gaúcha apresentam baixos níveis de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP)

Diferentes estudos demonstram que concentrações de até 25 ng/L de IBMP são comumente observadas em vinhos Cabernet Sauvignon (Sidhu et al. 2015, Rauhut and Kiene 2019). Neste trabalho, todos os vinhos avaliados apresentam concentrações de IBMP inferior ao seu limiar de detecção olfativa de 15 ng/L (De Boubée et al. 2000). Esses resultados confirmam a hipótese do trabalho de que os vinhos Cabernet Sauvignon elaborados com uvas da região não possuem uma concentração importante de metoxipirazinas, possibilitando oferecer uma característica diferenciada a esses produtos.

Maiores concentrações de IBMP parecem estar associadas a fatores climáticos, com destaque para baixa luminosidade e baixo acúmulo térmico (Sala et al. 2004). Embora as MPs estejam localizadas em todas as partes da videira, elas são acumuladas nos cachos (IBMP principalmente) entre a fixação dos frutos e a *véraison*, e agem como um sinalizador para impedir que tecidos vegetativos e frutos verdes sejam comidos por potenciais predadores (Lei et al. 2018). A partir do *véraison*, a tendência é de diminuição dos teores até o período da colheita (Ryona et al. 2010), visto que uvas com altos níveis de IBMP geralmente

representam um amadurecimento pobre ou incompleto (Mozzon et al. 2016). Assim, em regiões com menor acúmulo térmico, mesmo com o avançar da maturação, os níveis de IBMP continuam elevados (Falcão et al. 2008).

De Boubée et al. (2000) sugerem que há uma correlação entre as concentrações de ácido málico e IBMP. Sabe-se que a maior concentração de ácido málico é obtida até o “preveraison”, assim como a de IBMP, e há diminuição a partir disso, principalmente quando há temperaturas mais altas (Borghazan 2017). No presente trabalho, o vinho “D 2018”, com uvas colhidas em 16 de fevereiro, apresentou a segunda maior concentração de IBMP (3,68 ng/L). Essas uvas apresentaram o maior teor de ácido málico dessa safra, alcançando 3,8 g/L (Tabela S1). Entretanto, este comportamento não foi linear, pois as uvas que originaram o vinho “C 2018” (14,20 ng/L) apresentaram 3,0 g/L de ácido málico. Outros fatores, como manejo do dossel vegetativo (Gregan and Jordan 2016), ocorrência de fitopatias (Pons et al. 2018) e ponto de colheita da uva (Bindon et al. 2013, Schelezki et al. 2018), também são reportados na literatura. Em relação ao ponto de colheita das uvas, na safra de 2018 observou-se que os vinhos obtidos de uvas colhidas de forma mais tardia apresentaram menores concentrações de IBMP. A amostra de maior concentração de IBMP no estudo (“C 2018” - 14,20 ng/L) foi colhida em 15 de fevereiro de 2018. Essa maior concentração pode estar relacionada ao fato da variedade ser considerada “tardia” em relação ao período de colheita (Rizzon and Miele 2002) e assim requerer mais tempo para atingir melhores condições de maturação. Além disso, prolonga-se o amadurecimento da uva como um todo, aumentando a

disponibilidade de temperaturas mais elevadas e luminosidade na área dos cachos, fatores necessários para diminuir os teores de MPs (Plank et al. 2019). Bindon et al. (2013) relataram que a concentração de IBMP foi reduzida pela metade quando comparadas à primeira colheita (14,3 ng/L no dia 16 de fevereiro) com a última (7,0 ng/L em 17 de março). Esses resultados corroboram os encontrados por Schelezki et al. (2018) em estudo com diferentes pontos de colheita de 'Cabernet Sauvignon' desenvolvido no Vale McLaren, ao sul da Austrália. Os autores encontraram 15,7 ng/L em uvas colhidas com 20,5 °Brix, e 7,9 ng/L em uvas mais maduras (27,4 °Brix). No entanto, os mesmos autores relatam que, devido à maior parte do IBMP localizar-se na película das bagas (Guillaumie et al. 2013), se houver uma desidratação das uvas, modifica-se a proporção película/polpa, podendo ser observado um aumento da concentração das MPs.

Essa relação película/polpa da uva também deve ser levada em conta quando em virtude de safras mais chuvosas, o conteúdo das bagas é diluído, ocorrendo o inverso. Isso foi observado na safra 2019, tanto nas análises físico-químicas com a obtenção de vinhos menos alcoólicos e com menor potencial de cor e estrutura (Tabela S2), quanto nos menores teores de IBMP nos vinhos dessa safra em comparação à anterior (Tabela 1). Em janeiro de 2019, houve um excesso de chuvas (acima de 450 mm), promovendo uma diluição dos componentes da baga, afetando principalmente as uvas colhidas em fevereiro dessa safra (Alves et al. 2019). É importante considerar que, embora os vinhos tenham apresentado pequenas concentrações de IBMP, a composição geral dos vinhos foi prejudicada.

Por outro lado, concentrações de IBMP elevadas foram encontradas por Falcão et al (2008), que estudaram o potencial da variedade Cabernet Sauvignon em diferentes regiões do estado de Santa Catarina. Os autores relataram uma concentração de 40 ng/L de IBMP em vinhos de São Joaquim (região mais fria e altitude de 1415 m) e 19 ng/L em vinhos de Bom Retiro (960 m de altitude). Essa diferença entre a concentração de IBMP encontrada nos vinhos avaliados neste estudo (Tabela 1) e o observado por Falcão et al. (2008) pode ser explicada pelas condições de clima e relevo da região da Campanha Gaúcha, que além de apresentar altitudes menores (entre 100 e 300 m), também possibilita maior acúmulo térmico e luminosidade (Pötter et al. 2010, Santos et al. 2010).

De acordo com o sistema de classificação climática multicritérios (CCM) (Tonietto and Carbonneau 2004), a região do Planalto Catarinense (Santa Catarina, Brasil), que compreende o município de São Joaquim, é considerada uma região fria, com índice heliotérmico (IH) de 1.710, enquanto a Campanha Gaúcha possui 2.667 (Tonietto et al. 2012). Kemp et al (2019) explicam que regiões mais frias geralmente originam vinhos com aromas “verdes”, sendo as metoxipirazinas (MPs) os principais compostos responsáveis por essa característica. Além disso, o índice de seca (IS) é menor na Campanha Gaúcha, sendo classificada como “sub-úmida”, enquanto o Planalto Catarinense apresenta 200 mm como valor de IS e é classificado como “úmido” (Tonietto et al. 2012). Ao se considerar o quociente heliopluiométrico de maturação (QM) (Westphalen 1977) e realizar uma comparação entre as safras 2018 e 2019 de ambas as regiões, a Campanha Gaúcha apresentou 4/6 meses com QM superior

a 2,0, enquanto no Planalto Catarinense isso ocorreu em apenas 1 de 6 meses (16 de fevereiro a 15 de março de 2018) (Alves et al. 2019). Ainda de acordo com o mesmo estudo, considerando o principal período de colheita da uva Cabernet Sauvignon na Campanha Gaúcha (16 de fevereiro a 15 de março), quatro das últimas cinco safras obtiveram QM superior a 2,0.

Diante dos resultados apresentados por Falcão et al. (2008), observa-se a importância dos resultados obtidos no trabalho, pois a Campanha Gaúcha também é considerada uma região brasileira recente na produção vitivinícola e, em ambos os trabalhos, há a busca de características diferenciadas nos vinhos.

Vinhos Cabernet Sauvignon produzidos com uvas da Região da Campanha Gaúcha revelam baixa expressão sensorial dos aromas relacionados às metoxipirazinas

Os vinhos Cabernet Sauvignon obtidos nesse estudo apresentaram pontuações baixas no item “pimentão verde” (Tabela 2 e Figura 3). Conforme esperado, a amostra controle (20 ng/L de IBMP) gerou maiores valores para os itens “pimentão verde” e “vegetal”. A amostra “C 2018”, que dentre os vinhos elaborados obteve a maior concentração de IBMP, não apresentou valores expressivos no item “pimentão verde”. Além dessa amostra apresentar concentração abaixo do limiar de detecção sensorial, outra possível explicação é o fato dessa amostra ter sido uma das melhores avaliadas no item “frutas vermelhas”, tendo esse aroma se sobressaído. Essa amostra foi a segunda maior em relação ao item “vegetal” (2,1), juntamente com “A” e “B” de 2018 que não apresentaram diferença estatística entre si para a característica. Além disso, recebeu a maior pontuação no item “qualidade” (juntamente com “I 2019”),

demonstrando que a presença de IBMP pode contribuir positivamente ao aroma dos vinhos em pequenas quantidades, estando equilibrada e complementada por outros aromas herbáceos e frutados (Sala et al. 2004, Mozzon et al. 2016). Falcão et al. (2008) relataram que na análise sensorial de um vinho Cabernet Sauvignon cuja concentração era de 19 ng/L de IBMP, embora acima do limiar de detecção sensorial (15 ng/L), outras notas foram mais perceptíveis e acabaram mascarando os aromas “verdes”. Por outro lado, no mesmo estudo, o vinho com 40 ng/L de IBMP recebeu maiores avaliações em relação a esses aromas “verdes”. Rizzon e Miele (2002) descrevem o vinho Cabernet Sauvignon como um produto de características marcantes, com aroma vegetal ou herbáceo na maioria das vezes, destacando a nota de pimentão. Porém, esses autores centraram seus estudos em vinhos produzidos com uvas de uma região conhecida como propícia ao maior acúmulo de IBMP, ou seja, baixa insolação, médio-baixo acúmulo térmico, chuvas frequentes no período de maturação tecnológica e fenólica.

A maioria dos vinhos avaliados receberam notas superiores a 6 em relação ao quesito “qualidade”. Vinhos da safra de 2018 apresentaram resultados mais homogêneos em relação a este atributo e com média geral superior aos vinhos da safra de 2019. Esses resultados podem estar atrelados às excelentes condições climáticas que essa safra apresentou: nos três meses que compreendem, de modo geral, desde o *véraison* até a colheita das uvas (janeiro a março), os quocientes heliopluiométricos de maturação (QM) foram superiores a 2,0, com destaque para o mês de fevereiro de 2018, alcançando 12,22, 6,53 e 6,95 em cada terço (Alves and Tonietto 2018). Com exceção da

amostra “A 2019”, os demais vinhos melhor avaliados da segunda safra foram oriundos de colheitas mais tardias, e observa-se que a partir do segundo terço de fevereiro de 2019, os valores de QM foram todos superiores a 2,0, alcançando 6,52 no primeiro terço do mês de março (Alves et al. 2019).

As amostras “A”, “G”, “H” e “I” da safra 2019 foram iguais estatisticamente às amostras da safra 2018 no item “frutas vermelhas” demonstrando que esse aroma é bastante qualitativo e é uma característica desejada em vinhos tintos. Essas mesmas amostras também foram pontuadas como as mais intensas dessa safra. A amostra “C 2019”, que foi igual estatisticamente a essas amostras no mesmo quesito, provavelmente não foi pontuada como uma das mais qualitativas em virtude de sua intensidade que foi média (5,2). Rauhut e Kiene (2019) abordam que os aromas frutados em vinhos tintos estão principalmente relacionados à presença de compostos C13-norisoprenoides e ésteres, e que alguns tióis podem contribuir para esses aromas, especialmente 3-sulfanohexanol (3SH), em cultivares como Cabernet Sauvignon, Merlot e Grenache. Falcão et al. (2008) encontraram em vinhos Cabernet Sauvignon de Santa Catarina os aromas de “frutas vermelhas cozidas, geleia e caramelo” e atribuíram ao composto furaneol.

Em relação aos resultados obtidos na análise sensorial visual e gustativa (Figura 4), os resultados estão condizentes ao demonstrado nas análises físico-químicas (Tabela S2). Os vinhos da safra 2018 apresentaram maior intensidade de cor, e isso foi observado na análise sensorial. O mesmo comportamento também aconteceu no item “adstringência” e “corpo”, uma vez que as graduações alcoólicas e valores de índice de polifenóis totais (IPT) mais altos também foram

encontrados na maioria dos vinhos da primeira safra. Destacaram-se as amostras “G”, “H” e “I” da safra 2019, vinhos obtidos de colheitas mais tardias, reforçando a influência das melhores condições climáticas a partir da segunda metade do mês de fevereiro (Alves et al. 2019).

A adstringência observada, embora mais elevada em algumas amostras, é considerada média (valores próximos a 5,2) e pode ter ocorrido em virtude do período em que foi realizada a análise sensorial dos vinhos. Rizzon e Miele (2002) caracterizaram o vinho Cabernet Sauvignon como levemente adstringente quando jovem, tornando-se macio e suave depois de um certo período de amadurecimento e envelhecimento.

Alguns vinhos poderiam ter obtido pontuações maiores em relação ao “corpo”, caso houvesse práticas de aporte de taninos (Ghanem et al. 2017) ou a graduação alcoólica fosse um pouco maior. Vinhos com menores graduações alcoólicas e IPT receberam as menores pontuações nos itens “corpo”, “equilíbrio” e “persistência”. Sobre o item “persistência”, a amostra “J 2018” obteve uma pontuação importante (6,2). Esse vinho apresentou-se com 14,8% vol. de graduação alcoólica, e isso pode ter sido um fator determinante. Essa mesma amostra também foi uma das melhor pontuadas em “corpo” e “equilíbrio”.

Considerando as três características principais analisadas sensorialmente (visual, olfativa e gustativa), apenas 2 das 20 amostras estudadas destoaram negativamente, demonstrando que a variedade Cabernet Sauvignon origina vinhos tintos de boa qualidade na região da Campanha Gaúcha, principalmente em safras menos chuvosas e com maiores índices heliotérmicos e melhores quocientes de maturação.

Conclusões

Vinhos Cabernet Sauvignon elaborados com uvas de vinhedos da Campanha Gaúcha, em duas safras (2018 e 2019) têm baixas concentrações de IBMP (abaixo de 15 ng/L).

Na análise sensorial, o aroma de pimentão verde, característico do composto IBMP, foi praticamente imperceptível nos vinhos. As notas aromáticas, descritas como vegetais, também foram pouco intensas, destacando-se os aromas de frutas vermelhas.

Agradecimentos

O trabalho recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), registro 422632/2018-0. Agradecemos aos produtores de uva e estabelecimentos da região da Campanha Gaúcha pela cedência do material para a condução do experimento: Batalha Vinhas e Vinhos, Estância Paraíso, Estância Sossego, Guatambu Estância do Vinho, Peruzzo Vinhas e Vinhos, Routhier & Darricarrere, Villa Don Basílio, Vinhedos Afonso Hamm, Vinhedos Adair Camponogara, Vinícola Almadén, Vinícola Campos de Cima e Vinícola Peruzzo. Nós gostaríamos de agradecer também aos alunos do Curso de Enologia da Universidade Federal do Pampa pela fundamental contribuição na elaboração dos vinhos.

Referências

- Alves, M.E.B. and Tonietto, J. (2018) Condições meteorológicas e sua influência na safra vitícola de 2018 em regiões produtoras de vinhos finos do Sul do Brasil. (Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, Brazil)
- <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/184866/1/Comunica-do-Tecnico-209-2018-10-22-14-h.pdf> [accessed 21/12/2019].
- Alves, M.E.B., Zanús, M.C. and Tonietto, J. (2019) Condições meteorológicas e sua influência na safra vitícola de 2019 em regiões produtoras de vinhos finos do Sul do Brasil. (Embrapa Uva e Vinho: Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, Brazil)
- <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/202707/1/Doc111.pdf> [accessed 27/12/2019].
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H. and Herderich, M. (2013) Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. Food Chemistry **138**, 1696-1705.
- Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I.D., Inglis, D. and Pickering, G.J. (2010) Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet Franc wine during bottle ageing. Food Chemistry **119**, 935-944.
- Borghesan, M. (2017) Formação e maturação da uva e os efeitos sobre os vinhos: Revisão. Ciência e Técnica Vitivinícola **32**, 126-141.

- Botezatu, A., Pickering, G.J. and Kotseridis, Y. (2014) Development of a rapid method for the quantitative analysis of four methoxypyrazines in white and red wine using multi-dimensional Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Chemistry* **160**, 141-147.
- Brasil (2018) Instrução normativa nº 14, de 08 de fevereiro de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (B. Government) <http://www.agricultura.gov.br/noticias/mapa-atualiza-padroes-de-vinho-uva-e-derivados/INMAPA142018PIQVinhoseDerivados.pdf> [accessed 30/08/2019].
- De Boubée, D.R., van Leeuwen, C. and Dubourdieu, D. (2000) Organoleptic Impact of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine on Red Bordeaux and Loire Wines. Effect of Environmental Conditions on Concentrations in Grapes during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 4830-4834.
- Falcão, L.D., de Revel, G., Rosier, J.P. and Bordignon-Luiz, M.T. (2008) Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (GC–olfactometry). *Food Chemistry* **107**, 497-505.
- Fontana, A., Rodriguez, I. and Cela, R. (2017) Accurate determination of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wines by gas chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry following solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A* **1515**, 30-36.

- Ghanem, C., Taillandier, P., Rizk, M., Rizk, Z., Nehme, N., Souchard, J.P. and El Rayess, Y. (2017) Analysis of the impact of fining agents types, oenological tannins and mannoproteins and their concentrations on the phenolic composition of red wine. *LWT - Food Science and Technology* **83**, 101-109.
- Gregan, S.M. and Jordan, B. (2016) Methoxypyrazine Accumulation and O-Methyltransferase Gene Expression in Sauvignon blanc Grapes: The Role of Leaf Removal, Light Exposure, and Berry Development. *J Agric Food Chem* **64**, 2200-2208.
- Guillaumie, S., Ilg, A., Rety, S., Brette, M., Trossat-Magnin, C., Decroocq, S., Leon, C., Keime, C., Ye, T., Baltenweck-Guyot, R., Claudel, P., Bordenave, L., Vanbrabant, S., Duchene, E., Delrot, S., Darriet, P., Hugueney, P. and Gomes, E. (2013) Genetic analysis of the biosynthesis of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, a major grape-derived aroma compound impacting wine quality. *Plant Physiology* **162**, 604-615.
- Kemp, B., Pedneault, K., Pickering, G., Usher, K. and Willwerth, J. (2019) Red Winemaking in Cool Climates. In: *Red Wine Technology*, Ed. A. Morata (Academic Press: Madrid) pp. 341-356.
- Kotseridis, Y.S., Spink, M., Brindle, I.D., Blake, A.J., Sears, M., Chen, X., Soleas, G., Inglis, D. and Pickering, G.J. (2008) Quantitative analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in juice and wine using stable isotope labelled internal standard assay. *Journal of Chromatography A* **1190**, 294-301.
- Lathey, K.A., Bramley, B.R. and Francis, I.L. (2010) Consumer acceptability, sensory properties and expert quality judgements of Australian Cabernet

- Sauvignon and Shiraz wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 189-202.
- Lei, Y., Xie, S., Guan, X., Song, C., Zhang, Z. and Meng, J. (2018) Methoxypyrazines biosynthesis and metabolism in grape: A review. *Food Chemistry* **245**, 1141-1147.
- Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E. and Thorngate, J.H. (2016) The herbaceous character of wines. *Italian Journal of Food Science* **28**, 190-207.
- OIV (2017) Focus OIV 2017 - Distribution of the world's grapevine varieties. (International Organisation of Vine and Wine) <http://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf> [accessed 18/05/2019].
- Plank, C.M., Hellman, E.W. and Montague, T. (2019) Light and Temperature Independently Influence Methoxypyrazine Content of *Vitis vinifera* (cv. Cabernet Sauvignon) Berries. *HortScience* **54**, 282-288.
- Pons, A., Mouakka, N., Deliere, L., Crachereau, J.C., Davidou, L., Sauris, P., Guilbault, P. and Darriet, P. (2018) Impact of *Plasmopara viticola* infection of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes on wine composition and flavor. *Food Chemistry* **239**, 102-110.
- Pötter, G.H., Daudt, C.E., Brackmann, A., Leite, T.T. and Penna, N.G. (2010) Desfolha parcial em videiras e seus efeitos em uvas e vinhos Cabernet Sauvignon da região da Campanha do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural* **40**, 2011-2016.
- Rauhut, D. and Kiene, F. (2019) Aromatic Compounds in Red Varieties. In: *Red Wine Technology*, Ed. A. Morata (Academic Press: Madrid) pp. 273-282.

- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. (2006) Handbook of enology: the chemistry of wine; stabilization and treatments. (John Wiley & Sons: Chichester).
- Rizzon, L.A. and Miele, A. (2002) Avaliação da cv. Cabernet Sauvignon para elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **22**, 192-198.
- Ryona, I., Leclerc, S. and Sacks, G.L. (2010) Correlation of 3-isobutyl-2-methoxypyrazine to 3-isobutyl-2-hydroxypyrazine during maturation of bell pepper (*Capsicum annuum*) and wine grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 9723-9730.
- Sala, C., Busto, O., Guasch, J. and Zamora, F. (2004) Influence of Vine Training and Sunlight Exposure on the 3-Alkyl-2-methoxypyrazines Content in Musts and Wines from the *Vitis vinifera* Variety Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3492-3497.
- Santos, C.E.I.d., Silva, L.R.M.d., Boufleur, L.A., Debastiani, R., Stefenon, C.A., Amaral, L., Yoneama, M.L. and Dias, J.F. (2010) Elemental characterisation of Cabernet Sauvignon wines using Particle-Induced X-ray Emission (PIXE). *Food Chemistry* **121**, 244-250.
- Schelezki, O.J., Suklje, K., Boss, P.K. and Jeffery, D.W. (2018) Comparison of consecutive harvests versus blending treatments to produce lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon grapes: Impact on wine volatile composition and sensory properties. *Food Chemistry* **259**, 196-206.
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y. and Saucier, C. (2015) Methoxypyrazine analysis and influence of viticultural and enological procedures on their

levels in grapes, musts, and wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **55**, 485-502.

Tonietto, J. and Carbonneau, A. (2004) A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology* **124**, 81-97.

Tonietto, J., Ruiz, V.S. and Gómez-Miguel, V.D. (2012) *Clima, zonificación y tipicidad del vino en regiones vitivinícolas iberoamericanas*. (CYTED: Madrid).

Westphalen, S.L. (1977) Bases ecológicas para a determinação de regiões de maior aptidão vitícola no Rio Grande do Sul. eds. *Proceedings of the Simposio latino americano de la uva y del vino*; Montevideo (Uruguay) 89-101.

Tabelas

Tabela 1. Quantificação do composto 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP) dos vinhos Cabernet Sauvignon elaborados nas safras 2018 e 2019 com uvas de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).

Vinhos †	Data de colheita das uvas †	Concentração de IBMP (ng/L) ‡
A 2018	01/02/2018	2,14 ± 0,10 ^{cd}
B 2018	01/02/2018	1,23 ± 0,15 ^{def}
C 2018	15/02/2018	14,20 ± 1,27 ^a
D 2018	16/02/2018	3,68 ± 0,32 ^b
E 2018	27/02/2018	2,45 ± 0,06 ^c
F 2018	28/02/2018	2,01 ± 0,01 ^{cde}
G 2018	01/03/2018	0,55 ± 0,02 ^{fg}
H 2018	04/03/2018	0,98 ± 0,02 ^{defg}
I 2018	08/03/2018	0,97 ± 0,05 ^{defg}
J 2018	10/03/2018	<LOD ^g §
K 2018	13/03/2018	<LOD ^g
A 2019	12/02/2019	1,12 ± 0,09 ^{defg}
B 2019	12/02/2019	<LOD ^g
C 2019	12/02/2019	0,87 ± 0,05 ^{efg}
D 2019	14/02/2019	1,16 ± 0,01 ^{defg}
E 2019	28/02/2019	1,31 ± 0,05 ^{cdef}
F 2019	07/03/2019	1,64 ± 0,20 ^{cdef}
G 2019	12/03/2019	<LOD ^g
H 2019	14/03/2019	<LOD ^g
I 2019	15/03/2019	<LOD ^g

As médias dos vinhos identificadas com diferentes letras (^{a-g}) indicam diferença estatística (Teste de Tukey, ANOVA, $p < 0,05$). † Vinhos identificados por letra, de acordo com a ordem da data de colheita das uvas. Uvas obtidas dos municípios de Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Maçambará, Piratini, Rosário do Sul, Sant'ana do Livramento e Uruguaiana nas safras 2018 e 2019. ‡ Composto analisado por GC-MS. Os dados representam a concentração média ± desvio padrão de IBMP em cada vinho. § Limite de detecção da análise (LOD): 0,03 ng/L; Limite de quantificação da análise (LOQ): 0,08 ng/L. Limiar de detecção olfativa do composto: 15 ng/L (De Boubée et al. 2000).

Tabela 2. Avaliação sensorial olfativa dos vinhos Cabernet Sauvignon elaborados nas safras 2018 e 2019 com uvas de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).

Vinhos †	Intensidade ‡	Qualidade ‡	Frutas vermelhas ‡	Pimentão verde ‡	Vegetal ‡
A 2018	6,0 ^{abcde}	6,2 ^{abcd}	4,2 ^{efg}	3,0 ^b	1,3 ^{ab}
B 2018	6,1 ^{abcde}	6,4 ^{abcd}	6,2 ^{abc}	2,0 ^{bc}	1,7 ^{ab}
C 2018	6,8 ^{abc}	7,2 ^a	7,7 ^a	1,4 ^{bc}	2,1 ^{ab}
D 2018	6,8 ^{abc}	6,7 ^{abc}	5,7 ^{bcde}	1,1 ^{bc}	0,5 ^b
E 2018	6,3 ^{abcde}	6,5 ^{abcd}	5,8 ^{bcde}	1,7 ^{bc}	1,2 ^b
F 2018	5,8 ^{bcde}	6,6 ^{abcd}	4,8 ^{cdef}	1,7 ^{bc}	1,2 ^b
G 2018	5,9 ^{bcde}	6,7 ^{abc}	5,2 ^{bcde}	1,6 ^{bc}	0,7 ^b
H 2018	6,4 ^{abcde}	6,9 ^{ab}	6,3 ^{abc}	1,2 ^{bc}	0,8 ^b
I 2018	6,3 ^{abcde}	6,3 ^{abcd}	5,5 ^{bcde}	1,7 ^{bc}	0,9 ^b
J 2018	7,2 ^{ab}	6,9 ^{ab}	7,0 ^{ab}	0,7 ^c	0,4 ^b
K 2018	5,7 ^{bcde}	5,9 ^{abcd}	6,1 ^{abcd}	0,8 ^c	0,7 ^b
20 ng/L IBMP	7,7 ^a	5,1 ^{cde}	2,7 ^g	7,1 ^a	3,5 ^a
A 2019	6,4 ^{abcde}	6,9 ^{ab}	6,6 ^{abc}	0,6 ^c	1,0 ^b
B 2019	4,9 ^{de}	4,9 ^{cde}	5,7 ^{bcde}	0,6 ^c	0,8 ^b
C 2019	5,2 ^{cde}	6,1 ^{abcd}	6,3 ^{abc}	0,9 ^{bc}	1,1 ^b
D 2019	5,0 ^{cde}	3,5 ^e	3,2 ^{fg}	1,7 ^{bc}	0,8 ^b
E 2019	4,7 ^e	4,8 ^{de}	4,3 ^{defg}	0,5 ^c	1,0 ^b
F 2019	5,6 ^{bcde}	5,3 ^{bcde}	4,8 ^{cdef}	2,0 ^{bc}	1,8 ^{ab}
G 2019	6,6 ^{abcd}	6,7 ^{abc}	6,7 ^{abc}	0,8 ^c	1,7 ^{ab}
H 2019	6,3 ^{abcde}	6,7 ^{abc}	6,4 ^{abc}	1,2 ^{bc}	1,9 ^{ab}
I 2019	7,1 ^{ab}	7,2 ^a	7,0 ^{ab}	0,5 ^c	0,9 ^b
Coefficiente de variação (%)	19,0	20,0	22,1	19,6	19,2

As médias dos vinhos identificadas com diferentes letras (^{a-9}) na coluna indicam diferença estatística (Teste de Tukey, ANOVA, $p < 0,05$). † Vinhos identificados por letra, de acordo com a ordem da data de colheita das uvas. Uvas obtidas dos municípios de Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Maçambará, Piratini, Rosário do Sul, Sant'ana do Livramento e Uruguaiana nas safras 2018 e 2019. ‡ Os vinhos foram avaliados por análise sensorial descritiva quantitativa (ADQ), recebendo pontuação de 0 (zero) a 9 (nove), de acordo com a intensidade de cada uma das características sugeridas.

Figuras

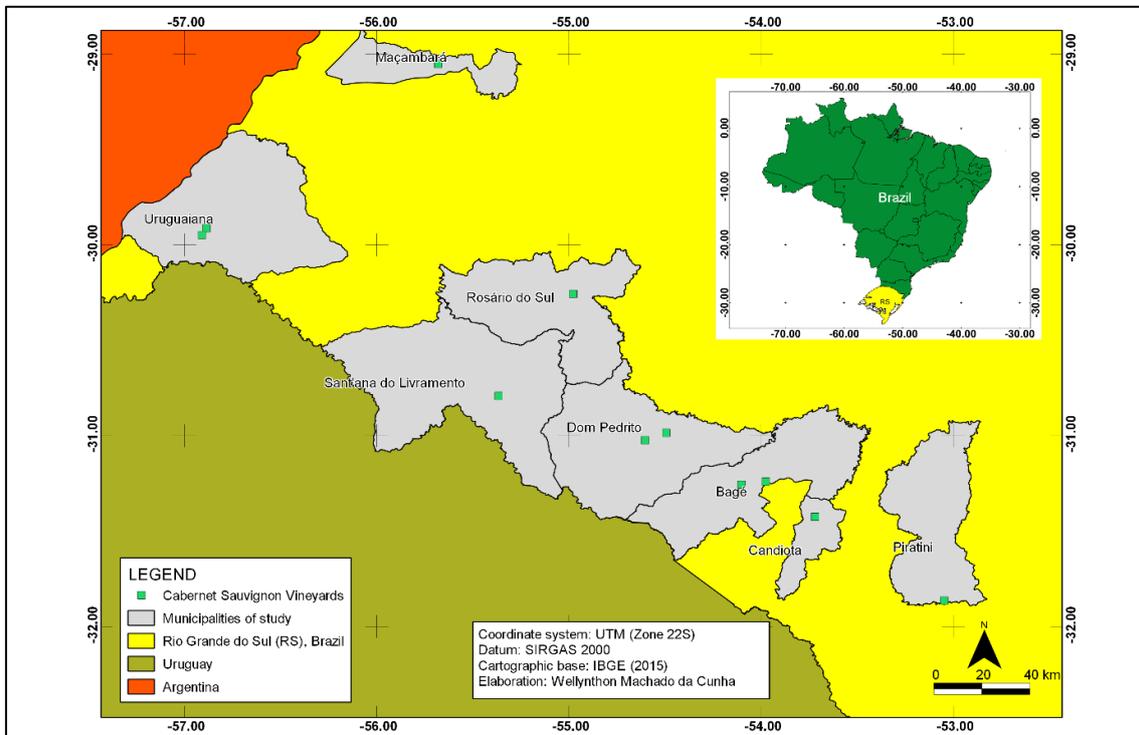


Figura 1. Localização geográfica dos vinhedos de ‘Cabernet Sauvignon’ estudados: Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil.

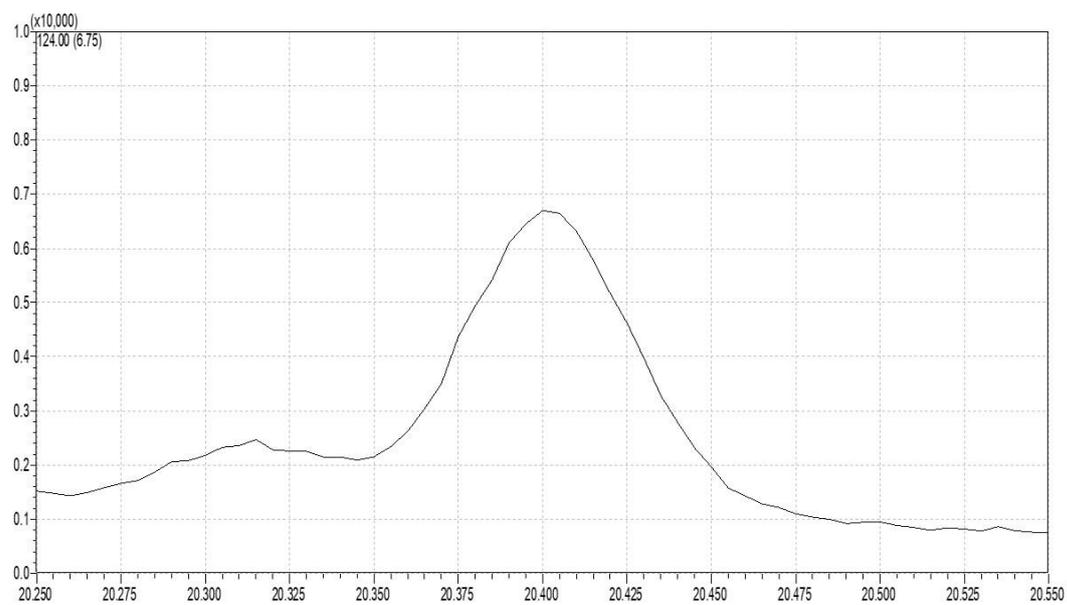


Figura 2. Cromatograma com pico de m/z 124 no RT 20.41 ± 0.19 : representação de amostra com adição de 5 ng/L do padrão analítico de IBMP.

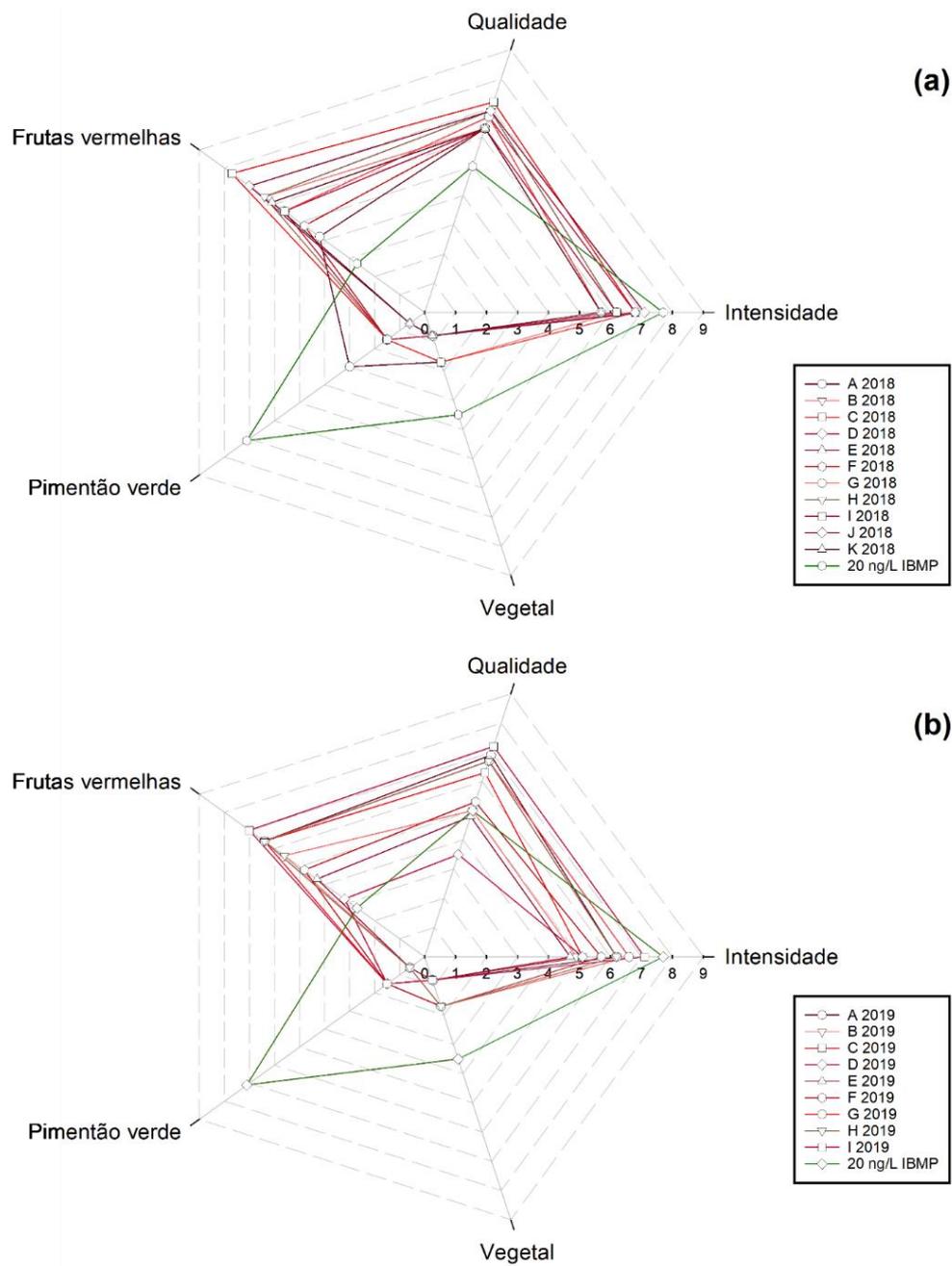


Figura 3. Análise sensorial olfativa dos vinhos Cabernet Sauvignon (Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil) elaborados nas safras 2018 **(a)** e 2019 **(b)**: diferenças entre os atributos mais importantes (intensidade, qualidade, frutado, pimentão verde e vegetal).

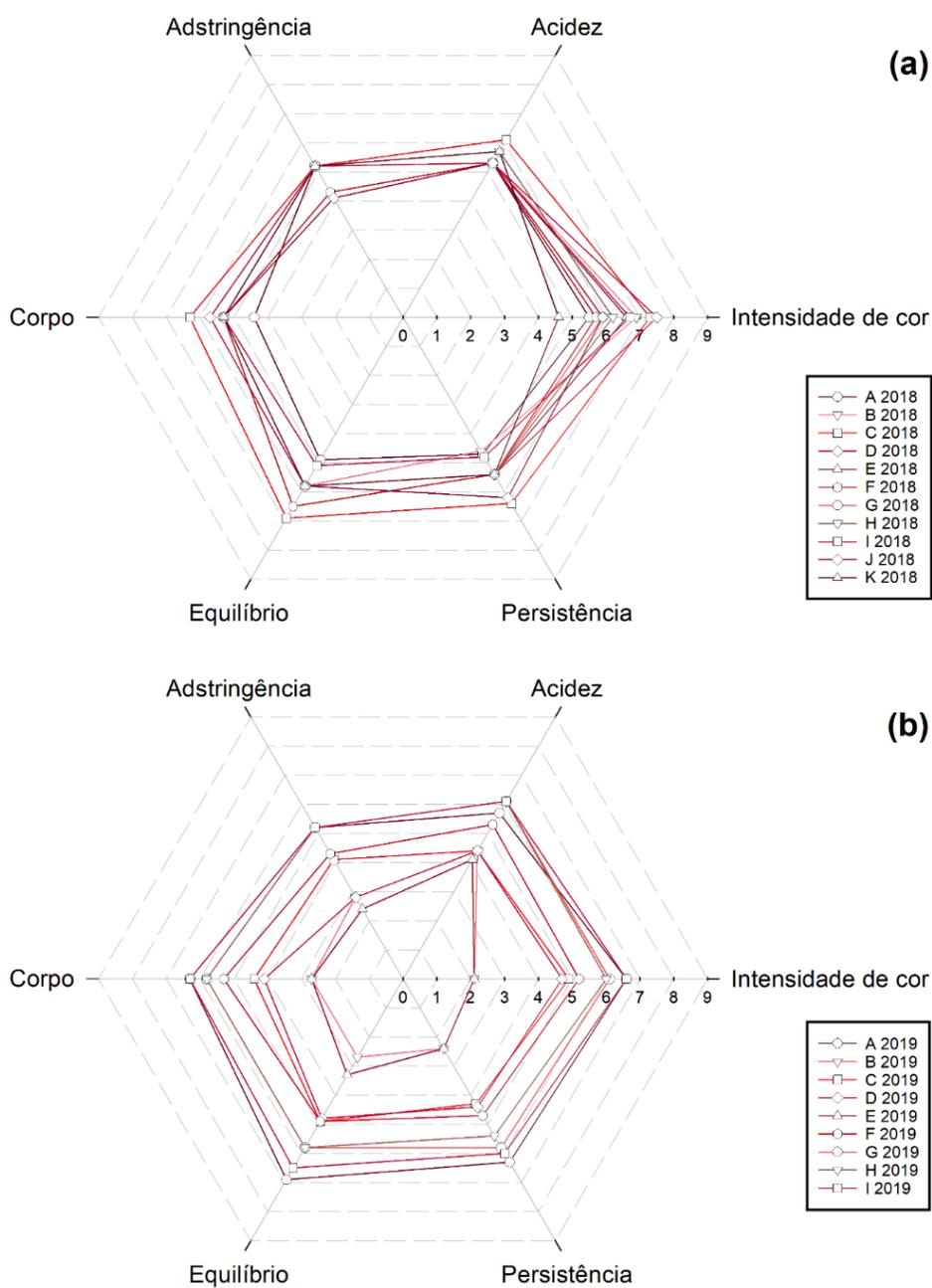


Figura 4. Análise sensorial visual e gustativa dos vinhos Cabernet Sauvignon (Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil) elaborados nas safras 2018 (a) e 2019 (b): diferenças entre os atributos mais importantes (intensidade de cor, acidez, adstringência, corpo, equilíbrio e persistência).

Informações de apoio

Tabela S1. Caracterização físico-química dos mostos obtidos de uvas Cabernet Sauvignon colhidas nas safras 2018 e 2019 em diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil). Análises realizadas no equipamento WineScan SO₂ (Foss Analytics, Hillerød, Dinamarca).

Mostos †	Densidade inicial do mosto (g/mL)	Açúcares reduzidos (g/L)	Sólidos solúveis totais (°Brix)	pH	Ácido tartárico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Acidez total (g/L H ₂ T)
A 2018	1,094	216,0	22,3	3,35	4,7	2,7	8,5
B 2018	1,094	219,2	22,2	3,42	4,9	2,8	8,3
C 2018	1,092	215,7	21,8	3,32	6,8	3,1	8,8
D 2018	1,095	221,5	22,4	3,39	4,6	3,8	8,8
E 2018	1,095	216,3	22,5	3,42	5,4	3,0	8,1
F 2018	1,098	233,5	23,2	3,41	5,7	3,1	8,8
G 2018	1,097	219,6	22,8	3,55	6,4	2,8	7,5
H 2018	1,103	229,2	24,2	3,36	6,9	3,4	9,2
I 2018	1,100	231,5	23,5	3,44	4,9	3,5	8,9
J 2018	1,104	240,2	24,3	3,63	4,9	3,5	7,7
K 2018	1,114	244,9	26,3	3,61	5,2	3,1	7,1
A 2019	1,091	195,0	21,5	3,36	6,1	2,2	8,7
B 2019	1,065	146,9	16,0	3,23	6,8	2,5	8,1
C 2019	1,091	188,5	21,7	3,71	5,5	3,3	7,8
D 2019	1,082	182,4	19,6	3,40	6,8	2,3	8,1
E 2019	1,091	190,5	21,5	3,66	4,2	4,1	8,1
F 2019	1,083	183,8	19,8	3,71	5,9	4,2	8,0
G 2019	1,101	220,8	23,7	3,36	4,6	2,6	9,3
H 2019	1,086	202,0	20,5	3,46	3,7	3,0	8,8
I 2019	1,078	191,4	18,7	3,38	4,1	3,3	9,4

† Mostos identificados por letra, de acordo com a ordem da data de colheita das uvas. Uvas obtidas dos municípios de Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Maçambará, Piratini, Rosário do Sul, Sant'ana do Livramento e Uruguaiana nas safras 2018 e 2019.

Tabela S2. Caracterização físico-química dos vinhos Cabernet Sauvignon elaborados nas safras 2018 e 2019 com uvas de diferentes vinhedos da região da Campanha Gaúcha (Rio Grande do Sul, Brasil).

Vinhos	Álcool (% vol.)	Açúcar residual (g/L)	pH	Acidez total (g/L H ₂ T)	Acidez volátil (g/L)	Intensidade de cor	Tonalidade de cor	Índice de polifenóis totais (IPT)
†	‡	‡	‡	‡	‡	§	§	§
A 2018	10,9	1,7	3,54	7,2	0,6	0,920	0,763	27,9
B 2018	10,9	1,2	3,32	8,1	0,5	1,230	0,733	38,7
C 2018	11,4	2,4	3,46	8,0	0,7	1,035	0,751	32,0
D 2018	12,4	0,7	3,64	7,4	0,7	1,199	0,774	29,2
E 2018	12,4	1,4	3,65	6,8	0,6	1,138	0,787	33,4
F 2018	11,7	2,0	3,53	7,4	0,6	0,808	0,809	30,0
G 2018	12,6	1,7	3,69	6,6	0,7	1,047	0,810	36,2
H 2018	12,3	2,2	3,46	8,0	0,7	1,144	0,738	31,3
I 2018	13,1	2,6	3,63	7,4	0,6	1,194	0,790	36,3
J 2018	14,8	4,0	3,98	6,5	0,7	1,089	1,059	43,2
K 2018	13,8	3,3	4,05	6,2	0,7	0,811	1,067	36,2
A 2019	11,3	2,5	3,46	7,0	0,4	0,832	0,682	38,7
B 2019	7,6	2,4	3,34	6,4	0,4	0,179	0,938	16,1
C 2019	11,4	2,8	3,91	5,8	0,6	0,470	0,948	30,8
D 2019	10,5	1,8	3,56	6,2	0,4	0,349	0,886	24,3
E 2019	10,7	2,7	4,00	5,9	0,7	0,201	1,241	19,4
F 2019	9,9	2,4	3,97	6,1	0,7	0,442	0,945	29,2
G 2019	13,2	4,0	3,53	7,4	0,6	0,571	0,813	36,6
H 2019	12,1	3,1	3,69	6,5	0,5	0,549	0,793	31,1
I 2019	10,9	2,0	3,56	6,8	0,5	0,659	0,765	37,2

† Vinhos identificados por letra, de acordo com a ordem da data de colheita das uvas. Uvas obtidas dos municípios de Bagé, Candiota, Dom Pedrito, Maçambará, Piratini, Rosário do Sul, Sant'ana do Livramento e Uruguaiana nas safras 2018 e 2019. ‡ Análises realizadas no equipamento WineScan SO₂ (Foss Analytics, Hillerød, Dinamarca). § Análises realizadas por espectrofotometria UV/VIS (UV-2000A, Instrutherm, São Paulo, SP, Brasil).

4 Considerações finais

Com base nos resultados encontrados, os vinhos Cabernet Sauvignon elaborados com uvas de diferentes vinhedos da Campanha Gaúcha apresentam baixos teores de metoxipirazinas. Nenhuma das amostras apresenta teor igual ou superior a 15 ng L^{-1} , limiar de detecção sensorial de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), a principal MP descrita na literatura em vinhos. Na análise sensorial, os aromas característicos (pimentão verde e outras notas vegetais) não se destacam, e a grande maioria dos vinhos recebe boas avaliações de modo geral.

Como se trata de um estudo com diferentes safras, a continuidade do trabalho é necessária para que se obtenha dados cada vez mais consistentes. Além disso, como a própria análise sensorial demonstra, outras notas se destacam, especialmente frutas vermelhas, o que estimula a ampliação dos estudos realizados até o presente momento, de modo que se avalie também o perfil aromático dos vinhos produzidos nessa região.

Referências

ALVES, M. E. B.; TONIETTO, J. Condições meteorológicas e sua influência na safra vitícola de 2018 em regiões produtoras de vinhos finos do Sul do Brasil. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/184866/1/Comunicado-Tecnico-209-2018-10-22-14-h.pdf>. Acesso em: 21/12/2019.

_____ et al. Condições meteorológicas e sua influência na safra vitícola de 2019 em regiões produtoras de vinhos finos do Sul do Brasil. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/202707/1/Doc111.pdf>. Acesso em: 27/12/2019.

ARAÚJO, Júlio Maria A. **Química de alimentos: teoria e prática. 5ª edição.** Viçosa: Editora da UFV, 2011. 601 p.

BARCIA, M. T. et al. Occurrence of low molecular weight phenolics in *Vitis vinifera* red grape cultivars and their winemaking by-products from São Paulo (Brazil). **Food Research International**, v. 62, p. 500-513, 2014.

BELANCIC, A.; AGOSIN, E. Methoxypyrazines in grapes and wines of *Vitis vinifera* cv. Carmenere. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 58, n. 4, p. 462-469, 2007.

BINDON, K. et al. Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. **Food Chemistry**, v. 138, p. 1696-1705, 2013.

BLAKE, A. et al. Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet Franc wine during bottle ageing. **Food Chemistry**, v. 119, p. 935–944, 2010.

BOTEZATU, A. et al. Development of a rapid method for the quantitative analysis of four methoxypyrazines in white and red wine using multi-dimensional Gas Chromatography – Mass Spectrometry. **Food Chemistry**, v. 160, p. 141–147, 2014.

BOWERS, J. E.; MEREDITH, C. P. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. **Nature**, v. 16, n. 1, p. 84-87, 1997.

BRUNETTO, G. et al. Aplicação de nitrogênio em videiras na Campanha Gaúcha: produtividade e características químicas do mosto da uva. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 389-393, 2007.

COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. **Introdução a métodos cromatográficos. 7ª edição.** Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. 279 p.

DE BOUBÉE, D. R. et al. Organoleptic impact of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine on Red Bordeaux and Loire Wines. Effect of environmental conditions on concentrations

in grapes during ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 4830-4834, 2000.

FALCÃO, L. D. et al. Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (GC–olfactometry). **Food Chemistry**, v. 107, p. 497–505, 2008.

FONTANA, A. et al. Accurate determination of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wines by gas chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry following solid-phase extraction and dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1515, p. 30-36, 2017.

GIOVANNINI, Eduardo; MANFROI, Vitor. **Viticultura e enologia: elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. Bento Gonçalves: IFRS, 2009. 360 p.

GREGAN, S.; JORDAN, B. Methoxypyrazine accumulation and O-methyltransferase gene expression in Sauvignon Blanc grapes: the role of leaf removal, light exposure and berry development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 11, p. 2200-2208, 2016.

GUILLAUMIE, S. et al. Genetic analysis of the biosynthesis of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, a major grape-derived aroma compound impacting wine quality. **Plant Physiology**, v. 162, p. 604–615, jun. 2013.

HOFF, R. et al. Geologia, geomorfologia e paisagem vitícola: uma abordagem da identidade regional da viticultura na região vitivinícola Campanha, Brasil. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 19, n. 4, p. 757-776, 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas das representações literárias de regiões brasileiras**. Rio de Janeiro: IBGE, 2006.

_____. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2019. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>> Acesso em: 05 jan. 2020.

IBRAVIN – Instituto Brasileiro do Vinho. Cadastro vinícola – Elaboração de vinhos e derivados no Rio Grande do Sul – 2006 a 2019. 2019. Disponível em: < <https://www.ibraevin.org.br/admin/arquivos/estatisticas/1564503491.pdf>> Acesso em: 28 jan. 2020.

INRA - Institut National de la Recherche Agronomique (Instituto Francês de Pesquisa Agrônômica). Cabernet Sauvignon. 2020. Disponível em: <<https://plantgrape.plantnet-project.org/en/cepage/Cabernet-Sauvignon>> Acesso em: 10 nov. 2019.

KEMP, Belinda et al. Red winemaking in cool climates. In: MORATA, Antonio. Red Wine Technology. Madrid (Espanha): Academic Press, 2019. p. 341-356.

KOTSERIDIS, Y. S. et al. Quantitative analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in juice and wine using stable isotope labelled internal standard assay. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, p. 294–301, 2008.

LEI, Y. et al. Methoxypyrazines biosynthesis and metabolism in grape: A review. **Food Chemistry**, v. 245, p. 1141–1147, 2018.

MANFIO, Vanessa. Vitivinicultura e associativismo: a dinâmica da Associação Vinhos da Campanha na formação de um território no Rio Grande do Sul, Brasil. 2018. 260 f. Tese (Doutorado em Geografia) - Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

MARTIN, D. et al. Grape cluster microclimate influences the aroma composition of Sauvignon blanc wine. **Food Chemistry**, v. 210, p. 640–647, 2016.

MATZENAUER, Ronaldo ; RADIN, Bernadete ; ALMEIDA, Ivan Rodrigues de (Ed.). **Atlas Climático: Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio; Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), 2011.

MELLO, L. M. R. de; MACHADO, C. A. E. **Cadastro vitícola do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015**. Brasília: Embrapa, 2017.

MOZZON, M. et al. The herbaceous character of wines. **Italian Journal of Food Science**, v. 28, p. 190-207, 2016.

OIV – Organização Internacional da Vinha e do Vinho. Focus OIV 2017 - Distribution of the world's grapevine varieties. 2017. 53 p. ISBN: 979-10-91799-89-8. Disponível em: <<http://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf>> Acesso em: 18 mai 2019.

_____. 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture. 2019. 23 p. Disponível em: <<http://www.oiv.int/public/medias/6371/oiv-statistical-report-on-world-vitiviniculture-2018.pdf>> Acesso em: 30 jan. 2020.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R. **Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana**. Bellingham (Washington, Estados Unidos): Cengage Learning, 2010. 716 p.

PICKERING, G. J. et al. Yeast strain affects 3-isopropyl-2-methoxypyrazine concentration and sensory profile in Cabernet Sauvignon wine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 14, p. 230–237, 2008.

PONS, A. et al. Impact of Plasmopara viticola infection of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes on wine composition and flavor. **Food Chemistry**, v. 239, p. 102–110, 2018.

PÖTTER, G. H. et al. Desfolha parcial em videiras e seus efeitos em uvas e vinhos Cabernet Sauvignon da região da Campanha do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 9, p. 2011-2016, set. 2010.

RAUHUT, Doris; KIENE, Florian. Aromatic Compounds in Red Varieties. In: MORATA, Antonio. **Red Wine Technology**. Madrid (Espanha): Academic Press, 2019. p. 273-282.

REGINA, M. A. et al. Influência da altitude na qualidade das uvas 'Chardonnay' e 'Pinot Noir' em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 1, p. 143-150, 2010.

RYONA, I. et al. Rapid Measurement of 3-Alkyl-2-methoxypyrazine Content of Winegrapes To Predict Levels in Resultant Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8250-8257, 2009.

_____ et al. Correlation of 3-Isobutyl-2-methoxypyrazine to 3-Isobutyl-2-hydroxypyrazine during Maturation of Bell Pepper (*Capsicum annuum*) and Wine Grapes (*Vitis vinifera*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9723-9730, 2010.

SALA, C. et al. Headspace solid-phase microextraction method for determining 3-alkyl-2-methoxypyrazines in musts by means of polydimethylsiloxane–divinylbenzene fibres. **Journal of Chromatography A**, v. 880, p. 93–99, 2000.

_____ et al. Headspace solid-phase microextraction analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wines. **Journal of Chromatography A**, v. 953, p. 1-6, 2002.

_____ et al. Influence of Vine Training and Sunlight Exposure on the 3-Alkyl-2-methoxypyrazines Content in Musts and Wines from the *Vitis vinifera* Variety Cabernet Sauvignon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3492-3497, 2004.

SCHELEZKI, O. J. et al. Comparison of consecutive harvests versus blending treatments to produce lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon grapes: Impact on wine volatile composition and sensory properties. **Food Chemistry**, v. 259, p. 196-206, 2018.

SIDHU, D. et al. Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 485–502, 2015.

SILVA, Flamys Lena do Nascimento. Aplicação da espectrometria de massas na avaliação da composição química de vinhos e uvas. 2013. 191 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

STRECK, E. V. et al. Solos do Rio Grande do Sul. EMATER/RS; UFRGS, Porto Alegre, 2002. 107 p.

TEIXEIRA, C. F. A. et al. Intensidade da seca utilizando índices de precipitação. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 3, p. 203-213, 2013.

TONIETTO, Jorge; RUIZ, Vicente Sotés; GÓMEZ-MIGUEL, Vicente D. Clima, zonificación y tipicidad del vino en regiones vitivinícolas iberoamericanas. Madrid: CYTED, 2012. 411p

VIVC - .Vitis International Variety Catalogue. Cabernet Sauvignon: passport data. 2020. Disponível em: <<http://www.vivc.de/index.php?r=passport%2Fview&id=1929>> Acesso em: 9 jul. 2019.

WELKE, Juliane Elisa. Uso da microextração em fase sólida e da cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente na caracterização de voláteis de vinhos gaúchos. 2012. 167 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

XIE, S. et al. Influence of continental climates on the volatile profile of Cabernet Sauvignon grapes from five Chinese viticulture regions. **Plant Growth Regulation**, v. 87, n. 1, p. 83-92, 2019.

Anexos

Anexo 1 – Comprovante de submissão do artigo “Presence of methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon wines from the Campanha Gaúcha region (Rio Grande do Sul, Brazil)” para o periódico Australian Journal of Grape and Wine Research

**Presence of methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon wines
from the Campanha Gaúcha region (Rio Grande do Sul,
Brazil)**

Journal:	<i>Australian Journal of Grape and Wine Research</i>
Manuscript ID	AJGWR-20-024
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	10-Feb-2020
Complete List of Authors:	Cunha, Wellynthon; Universidade Federal do Pampa; Universidade Federal de Pelotas, Department of Agroindustrial Science and Technology Giacomini, Marcelo; Universidade Federal do Pampa Filoda, Paula; Universidade Federal de Pelotas, Department of Agroindustrial Science and Technology Acunha, Tanize; Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) Gabbardo, Marcos; Universidade Federal do Pampa Rombaldi, Cesar; Universidade Federal de Pelotas, Department of Agroindustrial Science and Technology
Keywords:	Brazilian wines, GC-MS, greenness, IBMP, sensory evaluation

Anexo 2 – Folha de rosto do artigo submetido ao Australian Journal of Grape and Wine Research

Presence of methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon wines from the Campanha Gaúcha region (Rio Grande do Sul, Brazil)

Wellynthon Machado da Cunha^{a 1,2}, Marcelo Giacomini¹, Paula Freitas Filoda², Tanize dos Santos Acunha^{2*}, Marcos Gabbardo¹, Cesar Valmor Rombaldi²

¹ *Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)*, Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, Brazil

² Department of Agroindustrial Science and Technology, *Universidade Federal de Pelotas (UFPeI)*, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brazil

Authorship declaration

All authors have contributed significantly. All authors are in agreement with the manuscript.

Corresponding author

^a Mr. Wellynthon Machado da Cunha, Universidade Federal do Pampa, Rua 21 de abril, nº 80, CEP 96450-000, Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: wellynthoncunha@unipampa.edu.br. Phone: +55 53 3243-7300.

Acknowledgements

This work was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), registration 422632/2018-0. We acknowledge the grape producers and wine establishments in the Campanha Gaúcha region for providing materials to conduct the experiment: Batalha Vinhas e Vinhos, Estância Paraíso, Estância Sossego, Guatambu Estância do Vinho, Peruzzo Vinhas e Vinhos, Routhier & Darricarrere, Villa Don Basílio, Afonso Hamm Vineyards, Adair Camponogara Vineyards, Almadén Winery, Campos de Cima Winery, and Peruzzo Winery. We would also like to thank the students of Enology at the UNIPAMPA for their fundamental contribution in the elaboration of wines.

Disclosure statement

We declare that there are no conflicts of interest in this work.

Short title

Methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon wines

* Present address: *Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP)*, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.