

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



Dissertação

**Suplementação com enzimas glucanases para acelerar o processo de
maturação de espumantes**

Giovâni Silveira Peres

Pelotas, 2022

Giovâni Silveira Peres

**Suplementação com enzimas glucanases para acelerar o processo de
maturação de espumantes**

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: Cesar Valmor Rombaldi
Marcos Gabbardo
Wellynthon Machado da Cunha

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P434s Peres, Giovâni Silveira

Suplementação com enzimas glucanases para acelerar o processo de maturação de espumantes / Giovâni Silveira Peres ; Cesar Valmor Rombaldi, orientador ; Marcos Gabbardo, Wellynthon Machado da Cunha, coorientadores. – Pelotas, 2022.

38 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Análise sensorial. 2. Enologia. 3. GC-MS. 4. Vinhos brasileiros. 5. Espumantes brasileiros. I. Rombaldi, Cesar Valmor, orient. II. Gabbardo, Marcos, coorient. III. Cunha, Wellynthon Machado da, coorient. IV. Título.

CDD : 634.8

Giovâni Silveira Peres

Suplementação com enzimas glucanases para acelerar o processo de maturação de espumantes

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: 26 de setembro de 2022

Banca examinadora:

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

Prof. Dr. Marcos Gabbardo
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PPGCTA, FAEM, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

Prof. Dr. Vagner Brasil Costa
Doutor em Ciências pela FAEM, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PPGCTA, FAEM, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

Agradecimentos

A Deus, Grande Arquiteto do Universo, por permitir que eu tivesse saúde, paz e serenidade em toda esta caminhada e poder chegar até aqui.

A minha mãe, Clara Maria, por ser base da minha educação e caráter!

A minha esposa, Oristela Jardim Peres e aos nossos filhos Guilherme e Giovana, por todo o apoio e compreensão nos momentos de ausência durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas (CMPCTA – UFPel), por proporcionar aos profissionais que estão em plena atividade consigam prosseguir nos estudos e na realização de seus sonhos.

Ao meu orientador Dr. César Valmor Rombaldi, por toda a orientação, acolhimento e incentivo nos momentos mais difíceis.

A empresa Batalha Comercial de Vinhos, na pessoa dos meus sócios Gilberto e Felipe Pozzan, por serem parceiros na execução deste trabalho.

A Patrícia Lopes Kaufmann, gerente da vinícola Batalha, por todo o auxílio na execução deste trabalho.

Ao professor Dr. Marcos Gabbardo, e em seu nome a Unipampa, curso de Bacharelado em Enologia, por todo o suporte na realização das análises sensoriais.

Ao enólogo M.Sc Wellynthon Machado da Cunha, pela amizade e auxílio na elaboração final deste trabalho.

As engenheiras agrônomas Dra. Paula Filoda e Dra. Giovana Zandona, por todo o auxílio no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LACEM) da Universidade Federal de Pelotas.

RESUMO

PERES, Giovâni Silveira. **Suplementação com enzimas glucanases para acelerar o processo de maturação de espumantes**. 2022. 38f. Dissertação (Mestrado Profissional 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, 2022.

A produção e a qualidade de espumantes brasileiros cresce e vêm se consolidar no mercado. Essa afirmação é consequência da qualidade sensorial dos espumantes e da interação que tem sido cada vez mais crescente entre quem produz esse produto e quem consome. De modo geral, na produção de espumante pelo método tradicional, amplamente conhecido como Champenoise, o tempo médio de maturação em presença das leveduras é de 18 meses, ou mais. Esse tempo tem sido utilizado e entendido como adequado para o atingimento de um nível de maturação dos espumantes, gerando boa aceitação geral no que toca a qualidade sensorial. Porém, buscam-se alternativas na perspectiva de reduzir esse período. Isso traria benefícios na logística de produção, assim como mais rápido retorno do investimento e custeio. Para isso, testou-se a hipótese de que, ao adicionarem-se enzimas citadas como aceleradoras da lise das leveduras, se teria uma antecipação do atingimento da maturação dos espumantes. Então, realizaram-se tratamentos com e sem a adição de enzimas, na produção de espumantes, pelo método tradicional, com vinho base da cultivar Chardonnay. Os tratamentos foram: sem adição de enzimas, dois com as enzimas Extralyse – FT92[®] (Laffort Oenologie, Bordeaux, França) de ação 1,3 β -glucanase (doses 10 e 20 g.hL⁻¹), e outros dois com a enzima Rohalase BXL[®] (AB Enzymes, Darmstadt, Alemanha) de ações 1,3 e 1,6 β -glucanase (10 e 20 g.hL⁻¹). Os espumantes foram avaliados (compostos voláteis e sensorialmente) aos 6, 12 e 18 meses. Como resultados, se verificou que todos espumantes têm uma ampla diversidade de compostos voláteis, e que a variação desses compostos ao longo do tempo são devidos ao fator tempo de maturação e não à ação das enzimas. Da mesma forma, as alterações sensoriais também foram mais afetadas pelo tempo de maturação. Desse modo, não se tem resultados que embasem a recomendação para utilizar essas enzimas, na condição em que o estudo foi realizado. Por fim, a análise sensorial dos espumantes aponta para o fato de que se tratam de produtos de alta qualidade.

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

ABSTRACT

PERES, Giovâni Silveira.. **Supplementation with glucanase enzymes to accelerate the maturation process of sparkling wines.** 2022. 38p. 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, 2022.

The production and quality of Brazilian sparkling wines grows and has been consolidated in the market. This statement is a consequence of the sensorial quality of sparkling wines and of the interaction that has been increasingly growing between those who produce this product and consumers. In the production of sparkling wine by the traditional method, widely known as Champenoise, the average maturation time in the presence of yeasts is 18 months or more. This time has been understood as adequate to reach a level of maturation of sparkling wines, generating good general acceptance. However, alternatives are being tested to reducing this period. This would bring benefits in production logistics, as well as faster return on investment and costing. For this, we tested the hypothesis that, by adding enzymes cited as accelerators of yeast lysis, there would be an anticipation of the achievement of the maturation of the sparkling wines. Then, treatments were carried out with and without the addition of enzymes, in the production of sparkling wines, by the traditional method, using base wine of the cultivar Chardonnay. The treatments were: without the addition of enzymes, two with the enzymes Extralyse – FT92® (Laffort Oenologie, Bordeaux, France) with 1,3 β -glucanase action (doses 10 and 20 g.hL⁻¹), and two others with the Rohalase BXL® enzyme (AB Enzymes, Darmstadt, Germany) of actions 1,3 and 1,6 β -glucanase (doses 10 and 20 g.hL⁻¹). The sparkling wines were evaluated (volatile compounds and sensorially) at 6, 12 and 18 months. As a result, it was found that all sparkling wines have a wide diversity of volatile compounds, and that the variation of these compounds over time is due to the maturation time factor and not to the action of enzymes. Likewise, sensory changes were also more affected by maturation time. Thus, there are no results that support the recommendation to use these enzymes, in the condition in which the study was carried out. Finally, the sensorial analysis of the sparkling wines points to the fact that they are quality products.

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

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Vinhedo de origem das uvas 'Chardonnay' empregadas para a elaboração dos espumantes: (a) sistema de condução em espaldeira; (b) poda em cordão esporonado; (c) uvas colhidas e dispostas em caixas plásticas; (d) cacho obtido 12
- Figura 2 - Equipamento WineScan SO₂ (Foss Analytics, Hylleroed, Dinamarca), utilizado para as análises físico-químicas dos vinhos espumantes..... 15
- Figura 3 - Cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massas, utilizado para a determinação de compostos voláteis dos vinhos espumantes..... 16
- Figura 4 - Painel de análise sensorial dos espumantes elaborados com diferentes enzimas e tempos de maturação 18
- Figura 5 - Heatmap dos 41 compostos voláteis identificados e semiquantificados por GC-MS nos espumantes com diferentes doses de enzima e tempos de maturação 23
- Figura 6 - Heatmap com os resultados da análise sensorial (olfativa e gustativa) dos espumantes com diferentes doses de enzima e tempos de maturação 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento experimental com os tratamentos definidos a partir da aplicação de cada enzima e suas respectivas dosagens, conforme os tempos de maturação sobre borras	14
Tabela 2 – Caracterização físico-química dos espumantes avaliados neste trabalho, através de diferentes tempos de autólise (a), diferentes enzimas e dosagens aplicadas (b) e identificação pelos números dos tratamentos (c): etanol, acidez total, pH, acidez volátil e glicerol.....	19
Tabela 3 - Compostos voláteis identificados por GC-MS nos espumantes Chardonnay elaborados com diferentes enzimas e tempos de autólise	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Local da produção da uva, dos vinhos base e dos espumantes	12
2.2 Produção dos vinhos base (assemblage).....	12
2.3 Tomada de espuma	13
2.4 Delineamento experimental.....	14
2.5 Padrão de identidade e qualidade dos vinhos.....	14
2.6 Análise dos componentes voláteis	15
2.7 Avaliação sensorial	17
3 RESULTADOS	19
3.1 Análises físico-químicas dos espumantes.....	19
3.2 Diversidade de compostos voláteis em espumantes elaborados com e sem aplicação de enzimas glucanases.....	20
3.3 Perfil sensorial de espumantes elaborados com e sem aplicação de enzimas glucanases	23
4 DISCUSSÃO	25
5 CONCLUSÃO.....	28
6 FINANCIAMENTO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29
ANEXOS	34
ANEXO I – Ficha técnica da enzima comercial Extralyse FT92®	34
ANEXO II – Ficha técnica da enzima comercial Rohalase BXL®	37

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, embora a produção de vinhos espumantes ainda seja pequena, comparada a outros centros produtivos internacionais, o produto vem ganhando destaque por conta de sua qualidade e alto valor agregado (WURZ et al., 2017). Por ser um centro produtivo emergente, o setor vitivinícola do País aposta em uma boa diversificação de produtos, mas mantendo prioridade em vinhos produzidos com cultivares clássicas para esse fim, como ‘Chardonnay’ e ‘Pinot Noir’, para a produção de espumantes pelos métodos tradicional (*Champenoise*) e Charmat (GABBARDO; CELOTTI, 2016). Por outro lado, como boa parte da produção de uvas no Brasil é composta por cultivares americanas e híbridas (*Vitis labrusca*), também são elaborados espumantes com essas uvas (CALIARI et al., 2014). Além disso, os espumantes moscatéis (produzidos pelo método *Asti*) também possuem uma boa demanda de mercado interno (MARCON et al., 2021; NICOLLI et al., 2015).

Como foco principal de nosso estudo, os espumantes produzidos pelo método tradicional ou “Champenoise” consistem em um vinho de duas fermentações (a primeira para a produção do vinho base e a segunda para tomada de espuma), e devem as suas características peculiares a esse duplo processo de fermentação e ao envelhecimento com levedura que ocorre na mesma garrafa que chega ao consumidor (GONZALEZ-LAZARO et al., 2020). Dentre os espumantes produzidos pelo método tradicional em todo o mundo, destacam-se “Champagne” (França), “Cava” (Espanha), os italianos “Talento”, “Franciacorta” e “Trento DOC”, “Sekt” (produzido na Alemanha e Áustria), “Pezsgo” (Hungria), e vinhos de outras regiões do “Novo Mundo”, na América e Oceania (DI GIANVITO et al., 2019).

Na produção de espumantes por esse método tradicional, há consensos acerca dos principais vetores interferentes na qualidade sensorial, de modo geral uma consequência da interação de fatores. Entre esses fatores, há destaque para: i) o terroir em que se produz o vinho base, especialmente cultivar, solo, clima, manejo da produção vitícola e vinificação (COELHO et al., 2009; KORENIKA et al., 2020); ii) levedura ou combinação de leveduras, coadjuvantes e manejo da fermentação (COTEA et al., 2021; EDER et al., 2020); e, iii) maturação do espumante (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ et al., 2001; RUIPÉREZ et al., 2022).

A maturação do espumante ocorre através do contato do espumante com as células de leveduras e posterior autólise, onde a atividade enzimática (proteases e

glucanases) causa a lise de glucanos e a liberação de manoproteínas da parede celular das leveduras (POZO-BAYÓN et al., 2009). A autólise se inicia após a tomada de espuma, cerca de dois a quatro meses após o final dessa segunda fermentação (GNOINSKI et al., 2021). Alguns estudos exemplificam o impacto da autólise na qualidade final do produto: ANDRÉS-LACUEVA et al. (1997) descrevem que o tempo de 18 meses em espumantes produzidos com a uva Chardonnay afeta positivamente a formação de espuma e outras características físico-químicas de interesse; RIU-AUMATELL et al. (2006) colocam que, após dois anos de maturação, há uma diminuição do caráter frutado do produto, especialmente pela supressão de ésteres acetatos, e um aporte de outras notas, devido a um aumento de outros compostos voláteis, como o benzaldeído e succinato de dietila.

Por outro lado, é necessário ter em mente que o processo de maturação sobre borras é oneroso, uma vez que há um custo de material imobilizado (RUIPÉREZ et al., 2022). Assim, de acordo com os mesmos autores, deve-se pensar em estratégias para a aceleração dos efeitos benéficos desse processo, e várias alternativas já foram propostas na literatura, sendo uma delas a utilização de enzimas de ação β -glucanase. Isso foi testado por TORRESI et al. (2014) que verificaram que a adição de enzimas β -glucanase afetam a maturação do espumante, mas o resultado é dependente da levedura usada. GNOINSKI et al. (2021) também descreveram comportamento similar, e recomendam que os estudos sejam continuados de modo a se avaliar o impacto dessa intervenção no aroma e no perfil de compostos voláteis dos espumantes.

É nesse contexto que este trabalho se insere, buscando verificar se a suplementação com enzimas conhecidas por atuarem no processo de autólise das leveduras pode se constituir numa alternativa para se acelerar o processo de maturação, avaliado por análise sensorial e descrição do perfil de compostos voláteis. O experimento foi realizado com espumantes elaborados com uvas provenientes de vinhedos da Região da Campanha Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil, que tem aproximadamente 44 mil km², e que tem a Indicação de Procedência – IP Campanha Gaúcha. A hipótese é de que se pode abreviar o tempo de maturação do espumante pela adição de enzimas aceleradoras da lise de parede celular das leveduras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local da produção da uva, dos vinhos base e dos espumantes

O experimento foi conduzido na Vinícola Batalha, que está localizada as margens da BR 293, Km 144, no município de Candiota – RS. Os vinhos base utilizados foram da cultivar Chardonnay, clone ENTAV 95 A, em porta enxerto Paulsen 1103, num vinhedo plantado em 2010, conduzido em espaldeira simples e poda em cordão esporonado, com espaçamento entre fileiras de 2,50 m, e entre plantas 1,50 m (31°25'34.72"S, 53°43'13.00"O) (Figura 1). A produtividade média por hectare foi de 6.000 kg, o que representa 2,25 kg por planta. A caracterização da área em que as uvas foram produzidas é de solo Vertissolo eutrófico, ta, A chernozêmico, textura média/argilosa, relevo suave ondulado, vegetação campestre, fase iluvial-hidromórfica. O experimento foi conduzido com uvas da safra 2017 e as colheitas das uvas foram realizadas no dia 25 de janeiro de 2017.



Figura 1 - Vinhedo de origem das uvas 'Chardonnay' empregadas para a elaboração dos espumantes: (a) sistema de condução em espaldeira; (b) poda em cordão esporonado; (c) uvas colhidas e dispostas em caixas plásticas; (d) cacho obtido
Fonte: próprio autor

2.2 Produção dos vinhos base

Ambos os vinhos base foram elaborados sob mesma tecnologia de vinificação. A colheita das uvas foi realizada exclusivamente de forma manual já procurando uma pré-seleção dos cachos no vinhedo; após isso, a uva foi transportada para a vinícola. Na vinícola foi realizada mais uma seleção dos cachos em mesa apropriada. Após esta seleção, as uvas foram levadas com o engaço para a prensa pneumática da marca Velo, modelo PSC30. Foram adicionados 100 mg.L⁻¹ de metabissulfito de

potássio como antioxidante do mosto. A prensagem da uva se deu até atingir 55% de rendimento em líquido, a uma pressão máxima de prensagem de 0,8 bar, considerando este como mosto flor, e entre 55 e 70% de rendimento em líquido até uma pressão máxima de 1,2 bar se obteve o mosto prensa. Apenas o mosto flor foi utilizado para a produção dos vinhos base para espumante. Após a prensagem, o mosto flor permaneceu por 24 horas em tanque com temperatura de 5 °C para a limpeza prévia do mosto. Para auxiliar esse processo, foram adicionados 30 g.hL⁻¹ de clarificante à base de bentonite e dióxido de silício Compactgel® (AEB Group, Maipú, Mendoza, Argentina).

Após a limpeza prévia, o mosto foi trasfegado para outro tanque e foi adicionada levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (Maurivin PDM®, AB Byotek, Sydney, Australia), na dose de 20 g.hL⁻¹, e nutrientes à base de fosfato, vitamina B1 e celulose na dose de 30 g.hL⁻¹ (Coavin LX®, Amazon Group, Bento Gonçalves, RS, Brasil) para iniciar a fermentação alcoólica. A fermentação alcoólica ocorreu sob temperaturas entre 16 e 18 °C até que todo o açúcar fosse transformado em álcool. Após o término da fermentação os vinhos foram conservados em tanques de aço inoxidável até o momento em que foi feita a tiragem (envase), para a produção dos espumantes. Foram adicionados 20 mg.L⁻¹ de metabissulfito de potássio para inibição da fermentação malolática e os vinhos foram estabilizados a frio (0°C por 30 dias).

No momento do assemblage, o “vinho base 1” apresentava composição físico-química geral com teor alcoólico de 11,1 % vol., acidez total em ácido tartático 0,675 g.100mL⁻¹, acidez total 90,0 mEq.L⁻¹, acidez volátil 0,037 g.100mL⁻¹ e pH 3,73. O “vinho base 2” apresentava teor de álcool etílico 11,5 % vol., acidez total em ácido tartático 0,816 g.100mL⁻¹, acidez total 108,8 mEq.L⁻¹, acidez volátil 0,022 g.100mL⁻¹ e pH 3,40.

2.3 Tomada de espuma

Para esta etapa do processo, em um tanque com hastes misturadoras, foram adicionados 24 g.L⁻¹ de sacarose ao assemblage e levedura comercial seca ativa *Saccharomyces cerevisiae* (Maurivin Pop®, AB Biotek, Sydney, Austrália), na dose de 20 g.hL⁻¹. Após, o vinho base foi envasado em garrafas de vidro do modelo “Champenoise” e fechadas com bidule plástico e tampa corona inoxidável. Após o envase, as garrafas foram empilhadas em gaiolas metálicas medindo 1,20 x 1,00 metros de largura por 1,10 metros de altura, na quantidade de 500 garrafas por gaiola.

As mesmas foram mantidas em ambiente climatizado com temperaturas entre 18 e 20 °C por todo o período do experimento.

2.4 Delineamento experimental

Os tratamentos consistiram em um tratamento controle (sem adição de enzimas) e outros quatro tratamentos: dois com as enzimas Extralyse – FT92® (Laffort Oenologie, Bordeaux, França) de ação 1,3 β -glucanase (doses 10 e 20 g.hL⁻¹); e outros com a enzima Rohalase BXL® (AB Enzymes, Darmstadt, Alemanha) de ações 1,3 e 1,6 β -glucanase (doses 10 e 20 g.hL⁻¹). Os tratamentos foram avaliados em diferentes tempos de maturação sobre borras: 6 (T1 a T5), 12 (T6 a T10) e 18 meses (T11 a T15) (Tabela 1). Cada tratamento foi conduzido em triplicata.

Tabela 1 - Delineamento experimental com os tratamentos definidos a partir da aplicação de cada enzima e suas respectivas dosagens, conforme os tempos de maturação sobre borras

Produto	Dosagem	Tempos de maturação sobre borras		
		6 meses	12 meses	18 meses
Sem enzima	---	T1	T6	T11
Extralyse FT92	10 g.hL ⁻¹	T2	T7	T12
	20 g.hL ⁻¹	T3	T8	T13
Rohalase BXL	10 g.hL ⁻¹	T4	T9	T14
	20 g.hL ⁻¹	T5	T10	T15

2.5 Padrão de identidade e qualidade dos vinhos

A caracterização físico-química dos vinhos foi realizada na Universidade Federal do Pampa Campus Dom Pedrito, através do método de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), no equipamento WineScan SO₂ (FOSS Analytics, Hylleroed, Dinamarca) (Figura 2). Antes da obtenção dos espectros, foi feito uma zeragem e equalização com produtos fornecidos pelo fabricante do equipamento (GABBARDO; CELOTTI, 2016).



Figura 2 - Equipamento WineScan SO₂ (Foss Analytics, Hylleroed, Dinamarca), utilizado para as análises físico-químicas dos vinhos espumantes
Fonte: Wellynthon Machado da Cunha, 2020.

2.6 Análise dos componentes voláteis

Para a avaliação do perfil de compostos voláteis dos vinhos, seguiu-se a metodologia proposta por GABBARDO, E (2022), e todo o trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LACEM) da Universidade Federal de Pelotas. As amostras foram preparadas empregando a técnica de microextração em fase sólida (SPME), com fibra 50/30 µm divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, USA). As amostras foram analisadas em um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS) Shimadzu® GC-MS QP2010 (Figura 3) equipado com fonte de ionização por impacto de elétrons (EI).



Figura 3 - Cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massas, utilizado para a determinação de compostos voláteis dos vinhos espumantes
Fonte: Wellynthon Machado da Cunha, 2022

Para o preparo de amostra, 0,03 mL de vinho foram transferidos a um *vial* de SPME de 20 mL. Em seguida foram adicionados 4 mL de água ultrapura e 0,02 mL de benzofenona (2,6 µg) como padrão interno para semiquantificação. Em seguida foi adicionado 1 g de NaCl (cloreto de sódio). O frasco foi selado e as amostras foram mantidas sob agitação durante 15 minutos a 40°C para que o equilíbrio dos compostos voláteis com a fase aérea do frasco. Em seguida a fibra de SPME foi introduzida no frasco e então exposta no ar do seu interior (headspace) por 15 minutos, mantendo a agitação e o aquecimento.

Uma vez recolhida a amostra, esta foi dessorvida da fibra pela exposição ao calor do injetor do cromatógrafo (220°C) por 10 minutos. Para separação dos compostos foi utilizada uma coluna cromatográfica Rxi-1MS (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm) com a seguinte rampa de temperatura: 40°C por 5 min, seguido do aumento gradual da temperatura a uma taxa de 4°C min até atingir 240°C. Essa temperatura foi mantida fixa por mais 10 min. O gás Hélio foi usado como gás carreador com fluxo

constante de 2 mL.min⁻¹ através da coluna. O espectrômetro de massas foi operado com ionização de impacto eletrônico com energia de 70 eV, temperatura de fonte de íons e interface de 230°C. As amostras foram analisadas em modo full scan com faixa de massa de 30 a 350 m/z.

2.7 Avaliação sensorial

A avaliação sensorial foi realizada por um painel de 13 degustadores com experiência em análise sensorial de vinhos, sendo seis (06) homens e sete (07) mulheres (Figura 4). A avaliação foi conduzida através de três painéis comparativos: um para cada tempo de maturação (6, 12 e 18 meses). Cinco taças com 30 mL de vinho foram servidas num mesmo momento e cada avaliador recebeu uma ficha de avaliação não estruturada, onde os descritores avaliados e suas escalas de notas foram divididos em sensação olfativa (intensidade, aroma frutado, aroma pão tostado/nozes e qualidade geral) e sensação gustativa (cremosidade, equilíbrio, intensidade de sabor e qualidade). Cada um desses itens poderia receber uma pontuação de 0 a 10, de acordo com a intensidade de cada aspecto avaliado. A pontuação foi estabelecida conforme a marcação de um ponto para cada amostra na linha de 10 cm. Também, foi avaliada a qualidade geral, numa escala de 40 a 100 pontos.



Figura 4 - Painel de análise sensorial dos espumantes elaborados com diferentes enzimas e tempos de maturação

3 RESULTADOS

3.1 Análises físico-químicas dos espumantes

De modo geral, os espumantes avaliados apresentam-se maduros, com teor alcoólico elevado (próximo a 13,0% vol.), acidez total marcante (entre 6,3 e 6,5 g.L⁻¹ ou 84 a 87 mEq.L⁻¹), valores adequados de pH (na faixa de 3,4), glicerol (entre 6,5 e 6,8 g.L⁻¹) e acidez volátil (nenhuma amostra superior a 0,4 g.L⁻¹ ou 7 mEq.L⁻¹) (Tabela 2). A análise desses parâmetros é importante pois assegura a qualidade do processo tecnológico de elaboração dos espumantes (MAPA, 2018). Além disso, mesmo não estando citados na Tabela 2, os espumantes apresentaram menos de 1,2 g.L⁻¹ de açúcar residual, demonstrando o sucesso na finalização da tomada de espuma.

Tabela 2 – Caracterização físico-química dos espumantes avaliados neste trabalho, através de diferentes tempos de autólise (a), diferentes enzimas e dosagens aplicadas (b) e identificação pelos números dos tratamentos (c): etanol, acidez total, pH, acidez volátil e glicerol

Tratamentos			Etanol (% vol.)	Acidez total (g.L ⁻¹) †	pH	Acidez volátil (g.L ⁻¹) ‡	Glicerol (g.L ⁻¹)
(a)	(b)	(c)	ns	***	*****	*****	****
6 meses	Sem enzima	T06	12,70	6,43 ab	3,40 cd	0,40 a	6,80 ab
	Extralysse (10 g.hL ⁻¹)	T07	12,70	6,50 a	3,40 cd	0,40 a	6,73 abc
	Extralysse (20 g.hL ⁻¹)	T08	12,70	6,50 a	3,40 cd	0,40 a	6,77 ab
	Rohalase (10 g.hL ⁻¹)	T09	12,67	6,40 ab	3,39 de	0,33 ab	6,70 abcd
	Rohalase (20 g.hL ⁻¹)	T10	12,70	6,40 ab	3,41 a	0,40 a	6,83 a
12 meses	Sem enzima	T11	12,70	6,50 a	3,40 cd	0,40 a	6,70 abcd
	Extralysse (10 g.hL ⁻¹)	T12	12,67	6,20 c	3,40 bc	0,30 b	6,57 d
	Extralysse (20 g.hL ⁻¹)	T13	12,67	6,27 bc	3,41 ab	0,37 ab	6,60 cd
	Rohalase (10 g.hL ⁻¹)	T14	12,63	6,27 bc	3,41 ab	0,30 b	6,70 abcd
	Rohalase (20 g.hL ⁻¹)	T15	12,70	6,50 a	3,40 cd	0,40 a	6,77 ab
18 meses	Sem enzima	T16	12,67	6,43 ab	3,40 cd	0,37 ab	6,77 ab
	Extralysse (10 g.hL ⁻¹)	T17	12,67	6,30 bc	3,40 cd	0,37 ab	6,77 ab
	Extralysse (20 g.hL ⁻¹)	T18	12,60	6,27 bc	3,40 cd	0,30 b	6,67 bcd
	Rohalase (10 g.hL ⁻¹)	T19	12,70	6,53 a	3,39 de	0,40 a	6,77 ab
	Rohalase (20 g.hL ⁻¹)	T20	12,70	6,40 ab	3,39 de	0,30 b	6,73 abc

† Acidez total expressa em gramas por litro de ácido tartárico.

‡ Acidez volátil expressa em gramas por litro de ácido acético.

ns Sem diferenças significativas. * O número de asteriscos indica a quantidade de níveis de diferenças significativas. ^{abcde} Letras diferentes na coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey (p < 0,05). Análise de variância realizada com o software Statistica 10.0.

Embora na maioria das variáveis analisadas, sejam encontradas diferenças estatísticas (Teste de Tukey, $p < 0,05$), no aspecto prático, essas diferenças não excluem qualquer espumante dos padrões de identidade e qualidade. Também, embora essas diferenças, não se evidencia qualquer aspecto relevante em destaque. Esse comportamento era esperado, pois acredita-se que a ação enzimática na parede das células da levedura durante esse período não interfere diretamente nesses parâmetros. Outro fator importante a ser observado são os parâmetros de acidez total e pH. Vários autores demonstram que a Campanha Gaúcha tem como característica vinhos menos ácidos, e conseqüentemente com maior pH, sendo menos adequada à elaboração de espumantes (KUNZ et al., 2010). Entretanto, conforme se observa nesses resultados, através da tecnologia de produção das uvas e dos vinhos é possível alcançar valores adequados, que se assemelham a valores encontrados em outras regiões, como a Serra Gaúcha (MENEGUZZO, 2010).

3.2 Diversidade de compostos voláteis em espumantes elaborados com e sem aplicação de enzimas glucanases

Como mencionado anteriormente, poder-se acelerar o processo de maturação dos espumantes é uma vantagem operacional e econômica, pelo fato de se poder apresentar ao consumidor o produto final num tempo mais curto, otimizando a estrutura da vinícola e reduzindo o tempo entre o investimento e o custeio com o retorno financeiro. Para isso, a alternativa escolhida para ser testada foi o suplemento com enzimas glucanases, na perspectiva de acelerar-se a autólise das leveduras e, por consequência, a maturação dos espumantes. Para isso, elaboraram-se os vinhos-base, os espumantes, com e sem a adição de enzimas, e fizeram-se as avaliações de compostos voláteis e de perfil sensorial.

Desse estudo se observou que, de modo geral, os espumantes apresentam ampla diversidade de compostos voláteis, com destaque para ésteres, terpenos, álcoois, aldeídos, cetonas e outros (Tabela 3). Os ésteres representaram 36% dos compostos voláteis identificados, e os majoritários foram o hexanoato de etila (15), que possui como descritores aromas frutados, maçã verde, banana, brendy e abacaxi, e o octanoato de etila (29), que possui como descritores aromas frutados, doce, abacaxi, pera e floral. Esses dois ésteres apresentaram menor representatividade nos espumantes com 18 meses de maturação, em comparação com os períodos anteriores (Figura 5).

Tabela 3 - Compostos voláteis identificados por GC-MS nos espumantes Chardonnay elaborados com diferentes enzimas e tempos de autólise

Compostos (número) *	CAS **	LDS (µg/L) ***	Descritores
Ácidos			
Ácido octanóico (27)	124-07-2	500 (a)	Ranço, queijo (a)
Ácido nonanóico (31)	112-05-0	3.000 (b)	Gorduroso (b)
Álcoois			
1-Hexanol (6)	111-27-3	8.000 (a)	floral, verde, grama cortada (a)
3-Heptanol (11)	589-82-2	n.e. ****	herbáceo, pungente (c)
2-Heptanol (12)	543-49-7	70 (d)	frutado, mofado (d)
2-Etil-1-hexanol (17)	104-76-7	8.000 (d)(e)	cogumelo, doce, frutado (d)(e)
1-Octanol (20)	111-87-5	120 (d)	cítrico, rosas (d)
2-Feniletanol (22)	60-12-8	14.000 (a)	floral, rosas, mel, perfume (a)
1-Nonanol (26)	143-08-8	600 (a)	fresco, limpo, gordo, floral, rosas, laranja (a)
2,4,7,9-tetrametil-5-decine- 4,7-diol (36)	126-86-3	n.e.	n.e.
Aldeídos e cetonas			
5-Metil-3-hexanona (3)	623-56-3	n.e.	n.e.
3-Heptanona (9)	106-35-4	n.e.	frutado, cetônico, doce, mofado, queijo (c)
Heptanal (10)	111-71-7	n.e.	fresco, aldeídico, gordo, verde, erval, conhaque, ozônio (c)
5-Metil-3-heptanona (13)	541-85-5	n.e.	n.e.
Octanal (14)	124-13-0	15 (b)	gordura (b)
5-Nonanona (19)	502-56-7	n.e.	n.e.
Nonanal (23)	124-19-6	1 (a)(d)	verde, levemente pungente (a)(d)
2,4-Dimetilbenzaldeído (28)	15764-16-6	n.e.	doce, químico, amêndoa, picante, cereja, baunilha (c)
Dodecanal (35)	112-54-9	2 (b)	floral, ceroso (b)
Beta-metil-ionona (37)	63429-28-7	n.e.	floral (b)
Ésteres			
Lactato de etila (1)	687-47-8	14.000 (a)	lático, ácido de framboesa (a)
Formato de hexila (2)	629-33-4	n.e.	maçã, ameixa, banana, doce (c)
2-Metilbutirato de etila (4)	10307-61-6	n.e.	fresco, frutado, maçã, pêssego (c)
Isovalerato de etila (5)	7452-79-1	1 (b)	maçã, doce (b)
Acetato de isoamila (7)	123-92-2	30 (f)	banana (f)

Compostos (número)	CAS	LDS (µg/L)	Descritores
*	**	***	
Acetato de 2-metilbutila (8)	624-41-9	5 ^(a)	frutas maduras, doce, banana ^(c)
Hexanoato de etila (15)	123-66-0	670 ^(a)	frutado, maçã verde, banana, brandy, abacaxi, banana ^(a)
Lactato de isoamila (18)	19329-89-6	n.e.	Frutado, cremoso, nozes ^(c)
Formato de propila (21)	110-74-5	n.e.	doce, etéreo, verde, frutado ^(c)
Succinato de dietila (25)	123-25-1	200.000 ^(a)	vinoso, lavanda, laranja, queijo, terroso, picante ^(a)
Octanoato de etila (29)	106-32-1	580 ^(f)	doce, frutado, abacaxi, pera, floral ^(f)
Benzoato de hexila (32)	6789-88-4	n.e.	n.e.
Decanoato de etila (34)	110-38-3	200 ^(a)	frutas doces, macio, agradável ^(a)
Metil jasmonato (40)	39924-52-2	n.e.	jasmim, floral, oleoso, verde, pétala, macio, gorduroso ^(c)
2-Etilhexil salicilato (41)	118-60-5	n.e.	suave, orquídea, doce, balsamo ^(g)
Fenóis			
4-metilguaiaicol (30)	108-95-2	n.e.	picante, fenólico, medicinal, coriáceo, amadeirado, esfumaçado, queimado ^(c)
2,4-bisfenol (39)	96-76-4	n.e.	n.e.
Terpenos			
Limoneno (16)	5989-27-5	136 ^(d)	floral, verde, citrus ^(d)
Mentol (24)	1490-04-6	n.e.	refrescante, mentolado ^(c)
Farnesano (33)	3891-98-3	0,05 ^(h)	maçã verde ^(h)
Cubenol (38)	n.e.	n.e.	solo recém-arado, terroso ^(c) ; aroma limpo e fresco ^(h)

* Compostos numerados de acordo com a ordem crescente dos tempos de retenção;

** CAS: número de registro do composto fornecido pelo *Chemical Abstracts Service*;

*** LDS: limiar de detecção sensorial encontrado na literatura;

**** n. e.: informação não encontrada.

^(a) Nan et al (2021) ; ^(b) Welke et al (2014); ^(c) The Good Scents Company; ^(d) Jiang e Zhang (2010);

^(e) Katarína et al (2014); ^(f) Arcari et al (2017); ^(g) Mota et al (2021); ^(h) Li et al (2020).

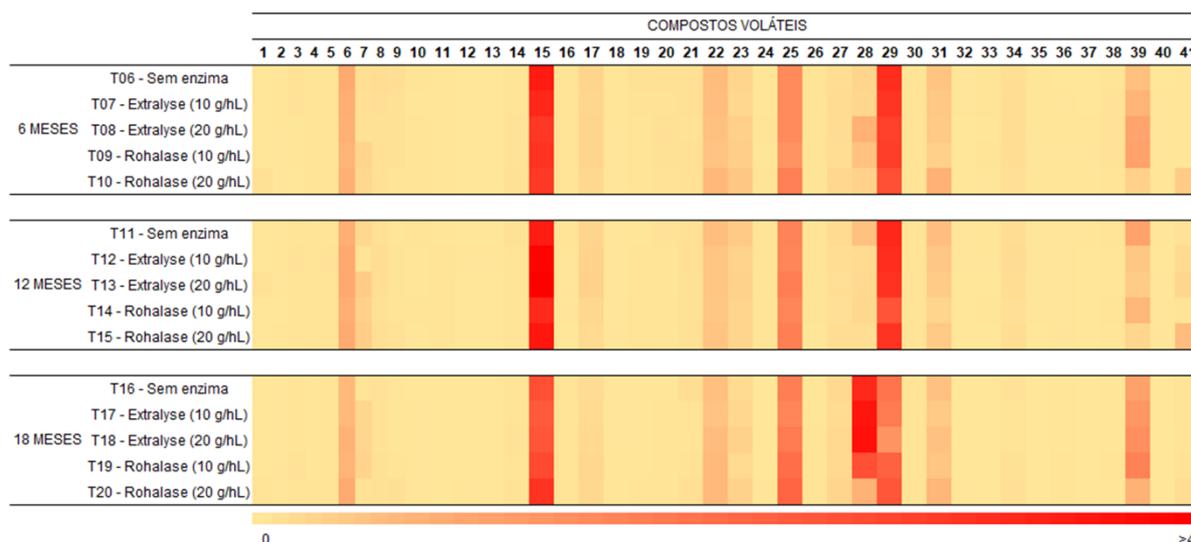


Figura 5 - Heatmap dos 41 compostos voláteis identificados e semiquantificados por GC-MS nos espumantes com diferentes doses de enzima e tempos de maturação

Entre aldeídos e cetonas, foram identificados 10 compostos, sendo o segundo grupo dos mais representativos, com destaque para o composto 2,8-dimetilbenzaldeído (28), que apresentou maior impacto nos espumantes com 18 meses. Os álcoois de maior impacto identificados nos espumantes foram, em ordem, o 1-Hexanol (6) e o 2-Feniletanol (22). Em ambos, não se observou uma maior influência por parte do tempo de maturação, tampouco pela ação das enzimas. Os principais terpenos detectados foram o “limoneno” (16) e o “mentol” (24), e embora não apareçam em grandes quantidades, o segundo diminuiu ainda mais ao longo do tempo. Além deles, outros compostos como ácidos e fenóis voláteis não apresentaram grande destaque, demonstrando uma maior presença de compostos de impacto agradável.

3.3 Perfil sensorial de espumantes elaborados com e sem aplicação de enzimas glucanases

Os resultados da análise sensorial atestam que as diferentes enzimas e doses aplicadas não interferiram no perfil sensorial dos espumantes (Figura 6). Assim como se observou na análise cromatográfica, o efeito “tempo” se mostrou o fator maior impacto, gerando melhor desempenho nos espumantes com 18 meses de maturação (T11 a T15) nas variáveis “qualidade aromática”, “equilíbrio gustativo” e “qualidade gustativa”. Bons resultados também foram observados nos espumantes com menor tempo de maturação (6 meses, T01 a T05) em relação à qualidade aromática e

gustativa. Um maior efeito por parte das enzimas foi observado nos espumantes com 12 meses de maturação com a enzima Rohalase (T09 e T10) em relação à “cremosidade”. Entretanto, este comportamento não se manteve nos espumantes com 18 meses de maturação.

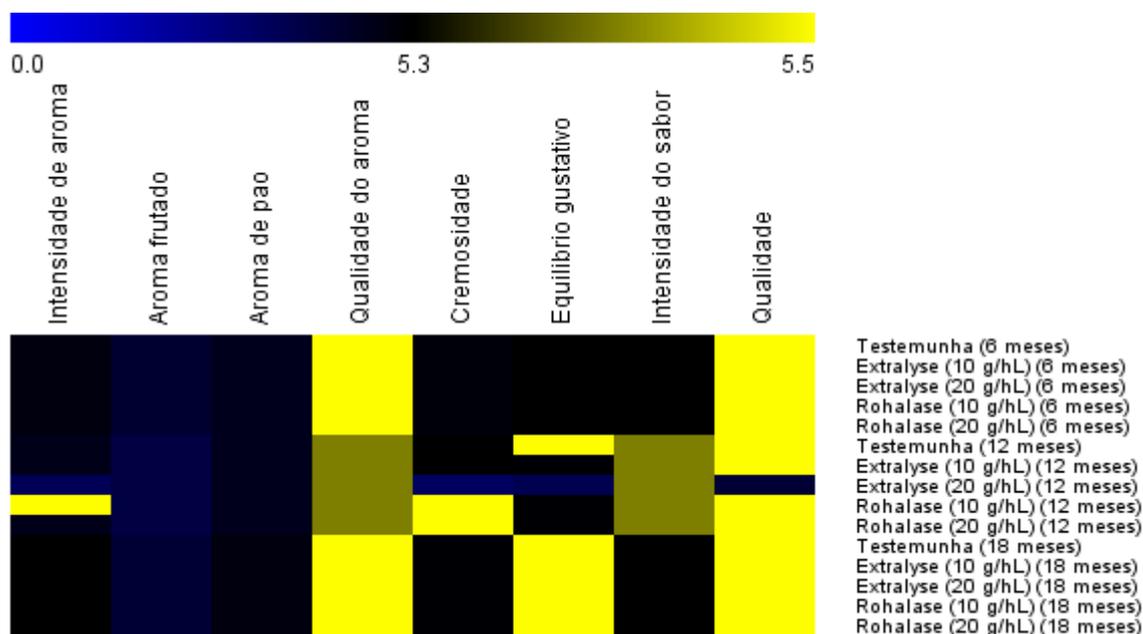


Figura 6 - Heatmap com os resultados da análise sensorial (olfativa e gustativa) dos espumantes com diferentes doses de enzima e tempos de maturação

Do conjunto de resultados obtidos da análise sensorial, os mais consolidados dizem respeito ao equilíbrio gustativo que foi destacada nos espumantes de 18 meses, e a qualidade do aroma que recebeu melhores notas aos 6 e as 18 meses. Nesse último caso (qualidade do aroma), o resultado poderia ser considerado contraditório com a perspectiva de maturação. De fato, a equipe sensorial avaliou os espumantes sem a orientação para a percepção de graus de maturação dos produtos. Assim, acredita-se que, aos serem degustados os espumantes mais jovens tenha havido percepção de aromas agradáveis, de espumantes jovem, e que isso tenha resultado em maiores notas, equitativas àquelas dos espumantes de 18 meses. Trata-se de uma hipótese, que não está esclarecida nesse trabalho.

4 DISCUSSÃO

Buscou-se uma alternativa para acelerar o processo de maturação dos espumantes. Essa alternativa foi baseada no uso de enzimas que são descritas por acelerarem a autólise celular de leveduras e, por conseguinte, acelerar o conjunto de alterações que contribuem para a maturação dos espumantes evidenciada pelos compostos voláteis e pelas percepções sensoriais. No conjunto de tratamentos realizados, essas premissas não se confirmaram.

Do conjunto de tratamentos realizados (sem uso de enzimas e com uso de enzimas, avaliações em 3 momentos do ciclo de maturação), se verificou que todos os espumantes alteraram o perfil de compostos voláteis com o prolongamento do tempo de maturação e essa alteração não foi decorrente do suplemento de enzimas (Figura 5). A expectativa inicial era de que o suplemento com enzimas acelerasse a maturação dos espumantes. Esse evento seria revelado pelo surgimento ou aumento de concentração de compostos que conferem as características de espumante maduro, como aromas de levedura e notas de pão, por exemplo (RUIPÉREZ et al., 2022). O trabalho de RUIPÉREZ et al. (2022) comprovou a hipótese que se tinha no início desse experimento. É conhecido que a autólise natural leva tempo para ocorrer (mais de 12 meses), começando 2 a 4 meses após a conclusão da fermentação alcoólica (POZO-BAYÓN et al., 2009). Há o conhecimento de que a parede celular da levedura é degradada durante a autólise, embora poucos estudos (ALEXANDRE; GUILLOUX-BENATIER, 2006; HIEN; FLEET, 1983) investiguem as enzimas envolvidas nesse processo. Mas, havia um consenso de que em vinhos tranquilos envelhecidos sobre borras, as glucanases estão envolvidas na degradação da parede celular da levedura (HIEN; FLEET, 1983), e isso foi validado (ALEXANDRE; GUILLOUX-BENATIER, 2006). Assim, pela ação de enzimas glucanases endógenas e exógenas, acelera-se a autólise celular e acelera-se a maturação de espumantes (ALEXANDRE; GUILLOUX-BENATIER, 2006). Essa lógica não foi confirmada neste estudo. As causas exatas não foram elucidadas. O que se observou, tanto pela análise de compostos voláteis, quanto pela análise sensorial é de que o fator decisivo para a maturação foi o tempo, e isso já era conhecido.

Os trabalhos indicam que com a evolução da maturação incrementam ou os níveis de compostos de algumas famílias, como é o caso dos aldeídos, que podem ser indicadores de oxidação (POZO-BAYÓN et al., 2009). Em nosso trabalho, o

incremento de 2,4-dimetilbenzaldeído pode confirmar essa tese, podendo aportar aromas como amêndoas e baunilhas, embora não se saiba o seu limiar de detecção sensorial. Outro aldeído que é citado na literatura como marcador de espumantes que passam por um período maior de maturação é o furfural e seus derivados (MARTINEZ-GARCIA et al., 2017). Ainda, em alguns casos, reduzem-se os níveis de alguns ésteres e terpenos, como ocorreu em nosso trabalho. Essa redução nos níveis de ésteres e terpenos está de acordo com a supressão do caráter frutado que citam RIU-AUMATELL et al. (2006).

Além disso, em nosso estudo, verificou-se uma ampla diversidade de compostos (Tabela 3), o que pressupõe, como consequência, uma boa complexidade aromática. No entanto, para que esse pressuposto seja verdadeiro há que se ter os compostos, em concentrações e interações que gerem essa percepção gustativa/olfativa (PITTARI et al., 2021). Essa temática ainda é tema aberto de pesquisa, tendo em vista que não se têm estabelecidos modelos robustos de predição. Em geral, se tem a característica ou potencial aromático de cada composto e o respectivo limiar de percepção, tendo como exemplos, neste trabalho, o “hexanoato de etila”, que aporta diversas notas frutadas agradáveis, e o “octanoato de etila” da mesma forma, tendo 670 e 580 $\mu\text{g/L}$ de limiar de percepção respectivamente (NAN et al., 2021).

Os resultados obtidos na análise sensorial demonstram que os espumantes apresentaram boa qualidade aromática e gustativa de modo geral, mesmo que não tenha se observado um grande impacto por parte das enzimas, e sim pelo tempo, sobretudo 18 meses (Figura 6). Como mencionado anteriormente, a expectativa era de que o suplemento com enzimas acelerasse a maturação dos espumantes. Esse evento seria revelado pelo surgimento ou aumento de concentração de compostos que conferem as características de espumante maduro, como as notas de pão e a cremosidade gustativa, por exemplo, porém não foi observado.

Esse efeito não observado nas características ligadas à maturação pode ser explicado por TORRESI et al. (2014), que demonstraram que as enzimas testadas até foram capazes de melhorar a liberação de aminoácidos nos vinhos, porém, não influenciaram as características da espuma (DI GIANVITO et al., 2019), algo buscado em espumantes mais maduros, com borbulhas menores e mais persistentes. Em outros trabalhos, até foram observados impactos sensoriais mais representativos por parte das enzimas: aumento no caráter frutado e na acidez, além de melhorar a

limpidez e a intensidade de cor (RUIPÉREZ et al., 2022); melhores resultados na cor, na persistência e avaliação global, porém doses maiores apresentaram efeito inverso (RODRIGUEZ-NOGALES et al., 2012).

A realização desse estudo, envolvendo duas enzimas e diferentes doses, e com avaliações em diferentes tempos de maturação em espumantes, pode elucidar o fato de que talvez não somente uma técnica possa ser capaz de reduzir o tempo de maturação. Ainda, ressaltam o fato de que o conceito de complexidade aromática é bastante importante, haja vista a ampla diversidade de compostos encontrados, e a pequena diferença sensorial detectada pelos avaliadores.

5 CONCLUSÃO

A adição de enzimas glucanases não acelerou o processo de maturação dos espumantes. Foram identificados e semiquantificados 41 compostos voláteis o que comprova a complexidade aromática dos espumantes produzidos com uva Chardonnay da Campanha Gaúcha. Na continuidade deste trabalho sugiro fazer mais uma safra com a enzima Rohalase BXL[®] (AB Enzymes, Darmstadt, Alemanha) de ações 1,3 e 1,6 β -glucanase na dose de 20 g.hL⁻¹.

6 FINANCIAMENTO

O trabalho foi custeado com recursos da Empresa Batalha Vinhas & Vinhos, no que tange à uva, à vinificação e análise sensorial, da Unipampa (análises físico-químicas) e UFPel (análise de compostos voláteis, com recursos da FAPERGS).

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, H.; GUILLOUX-BENATIER, M. Yeast autolysis in sparkling wine – a review. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 12, n. 2, p. 119-127, 2006.

ANDRÉS-LACUEVA, C.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; BUXADERAS, S.; DE LA TORRE-BORONAT, M. d. C. Influence of Variety and Aging on Foaming Properties of Cava (Sparkling Wine). 2. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 2520-2525, 1997.

ARCARI, S. G.; CALIARI, V.; SGANZERLA, M.; GODOY, H. T. Volatile composition of Merlot red wine and its contribution to the aroma: optimization and validation of analytical method. **Talanta**, v. 174, p. 752-766, 2017.

CALIARI, V.; BURIN, V. M.; ROSIER, J. P.; BORDIGNONLUIZ, M. T. Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. **Food Research International**, v. 62, p. 965-973, 2014.

COELHO, E.; COIMBRA, M. A.; NOGUEIRA, J. M.; ROCHA, S. M. Quantification approach for assessment of sparkling wine volatiles from different soils, ripening stages, and varieties by stir bar sorptive extraction with liquid desorption. **Analytica Chimica Acta**, v. 635, n. 2, p. 214-221, 2009.

Good Scents Company. p. The Good Scents Company Information System, 2022. Disponível em: < www.thegoodscentscompany.com >. Acesso em: 29/12/2021.

COTEA, V. V.; FOCEA, M. C.; LUCHIAN, C. E.; COLIBABA, L. C.; SCUTARASU, E. C.; MARIUS, N.; ZAMFIR, C. I.; POPIRDA, A. Influence of Different Commercial Yeasts on Volatile Fraction of Sparkling Wines. **Foods**, v. 10, n. 2, 2021.

DI GIANVITO, P.; ARFELLI, G.; SUZZI, G.; TOFALO, R. New Trends in Sparkling Wine Production: Yeast Rational Selection. *In*: GRUMEZESCU, A. M. e HOLBAN, A. M. (Ed.). **Alcoholic Beverages**: Woodhead Publishing, 2019. p. 347-386.

EDER, M. L. R.; FARINA, L.; DELLACASSA, E.; CARRAU, F.; ROSA, A. L. Chemical and sensory features of Torrontes Riojano sparkling wines produced by second fermentation in bottle using different *Saccharomyces* strains. **Food Science and Technology International**, v. 26, n. 6, p. 512-519, 2020.

GABBARDO, E. T. **Variabilidade do Perfil Aromático de Uvas Pálava e Sauvignon Kretos no Sul do Brasil**. 2022. 114 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

GABBARDO, M.; CELOTTI, E. Caracterização físico-química de espumantes Brasileiros. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 30, n. 2, p. 94-101, 2016.

GNOINSKI, G. B.; SCHMIDT, S. A.; CLOSE, D. C.; GOEMANN, K.; PINFOLD, T. L.; KERSLAKE, F. L. Novel Methods to Manipulate Autolysis in Sparkling Wine: Effects on Yeast. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 387, 2021.

GONZALEZ-LAZARO, M.; MARTINEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARAN, B.; BUENO-HERRERA, M.; LOPEZ DE LA CUESTA, P.; PEREZ-MAGARINO, S. Evaluation of grape ripeness, carbonic maceration and pectolytic enzymes to improve the chemical and sensory quality of red sparkling wines. **J Sci Food Agric**, v. 100, n. 6, p. 2618-2629, 2020.

HIEN, N. H.; FLEET, G. H. Separation and Characterization of Six (1-3)-, -Glucanases from *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Bacteriology**, v. 156, n. 3, p. 1204-1213, 1983.

JIANG, B.; ZHANG, Z. Volatile compounds of young wines from Cabernet Sauvignon, Cabernet Gernischet and Chardonnay varieties grown in the loess plateau region of China. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9184-9196, 2010.

KATARÍNA, F.; KATARÍNA, M.; KATARÍNA, Ď.; IVAN, Š.; FEDOR, M. Influence of yeast strain on aromatic profile of Gewürztraminer wine. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 256-262, 2014.

KORENIKA, A. M. J.; PREINER, D.; TOMAZ, I.; JEROMEL, A. Volatile Profile Characterization of Croatian Commercial Sparkling Wines. **Molecules**, v. 25, n. 18, p. 4349, 2020.

KUNZ, J. C.; RÉVILLION, J. P.; NETO, E. K.; ZANUS, M. C.; MANFROI, V. Caracterização físico-química de mostos e vinhos base para a elaboração de Espumantes. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, v. 2, p. 75-82, 2010.

LI, Z.; HOWELL, K.; FANG, Z.; ZHANG, P. Sesquiterpenes in grapes and wines: Occurrence, biosynthesis, functionality, and influence of winemaking processes. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 1, p. 247-281, 2020.

MAPA. Instrução Normativa nº 14, de 8 de fevereiro de 2018. Brasil, pp. 41.

MARCON, Â. R.; DELAMARE, A. P. L.; SCHWARZ, L. V.; PASINI, L.; VERSARI, A.; PARPINELLO, G. P.; ECHEVERRIGARAY, S. Volatile and sensory composition of Brazilian Muscat sparkling wine and Asti. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 4, p. e15240, 2021.

MARTINEZ-GARCIA, R.; GARCIA-MARTINEZ, T.; PUIG-PUJOL, A.; MAURICIO, J. C.; MORENO, J. Changes in sparkling wine aroma during the second fermentation under CO₂ pressure in sealed bottle. **Food Chemistry**, v. 237, p. 1030-1040, 2017.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; CARRASCOSA, A. V.; BARCENILLA, J. M.; ANGELES POZO-BAYÓN, M.; CARMEN POLO, M. Autolytic capacity and foam analysis as additional criteria for the selection of yeast strains for sparkling wine production. **Food Microbiology**, v. 18, n. 2, p. 183-191, 2001.

MENEGUZZO, J. **Caracterização físico-química e sensorial dos vinhos espumantes da Serra Gaúcha**. 2010. 101 f. Tese (Doutorado) - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

MOTA, R. V. d.; PEREGRINO, I.; RIVERA, S. P. T.; HASSIMOTTO, N. M. A.; SOUZA, A. L. d.; SOUZA, C. R. d. Characterization of Brazilian Syrah winter wines at bottling and after ageing. **Scientia Agricola**, v. 78, n. 3, 2021.

NAN, L.; LIU, L.; LI, Y.; HUANG, J.; WANG, Y.; WANG, C.; WANG, Z.; XU, C.; HERNÁNDEZ, A. Comparison of Aroma Compounds in Cabernet Sauvignon Red Wines from Five Growing Regions in Xinjiang in China. **Journal of Food Quality**, v. 2021, p. 1-16, 2021.

NICOLLI, K. P.; WELKE, J. E.; CLOSS, M.; CARAMÃO, E. B.; COSTA, G.; MANFROI, V.; ZINI, C. A. Characterization of the Volatile Profile of Brazilian Moscatel Sparkling Wines Through Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 7, p. 1411-1430, 2015.

PITTARI, E.; MOIO, L.; PIOMBINO, P. Interactions between Polyphenols and Volatile Compounds in Wine: A Literature Review on Physicochemical and Sensory Insights. **Applied Sciences**, v. 11, n. 3, 2021.

POZO-BAYÓN, M. Á.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; PUEYO, E.; MORENO-ARRIBAS, M. V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 6-7, p. 289-299, 2009.

RIU-AUMATELL, M.; BOSCH-FUSTÉ, J.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees. **Food Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 237-242, 2006.

RODRIGUEZ-NOGALES, J. M.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; VILA-CRESPO, J. Effect of the addition of β -glucanases and commercial yeast preparations on the chemical and sensorial characteristics of traditional sparkling wine. **European Food Research and Technology**, v. 235, n. 4, p. 729-744, 2012.

RUIPÉREZ, V.; RODRÍGUEZ-NOGALES, J. M.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; VILA-CRESPO, J. Impact of β -glucanases and yeast derivatives on chemical and sensory composition of long-aged sparkling wines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 107, p. 104385, 2022.

TORRESI, S.; FRANGIPANE, M. T.; GARZILLO, A. M. V.; MASSANTINI, R.; CONTINI, M. Effects of a β -glucanase enzymatic preparation on yeast lysis during aging of traditional sparkling wines. **Food Research International**, v. 55, p. 83-92, 2014.

WELKE, J. E.; ZANUS, M.; LAZZAROTTO, M.; ALCARAZ ZINI, C. Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine. **Food Research International**, v. 59, p. 85-99, 2014.

WURZ, D. A.; ALLEBRANDT, R.; BEM, B. P. d.; REINEHR, J.; CANOSSA, A. T.; DALMOLIN, L. G.; RUFATO, L.; KRETZSCHMAR, A. A. Brazilian sparkling wine: A successful trajectory. **BIO Web of Conferences**, v. 9, p. 03008, 2017.

ANEXOS

ANEXO I – Ficha técnica da enzima comercial Extralyse FT92®


FICHA TÉCNICA DE PRODUTO
EXTRALYSE

Cód.: FT 92
 Data: 15/05/2017
 Rev.:02
 Pág.:1 de 3

1. COMERCIAL
FABRICANTE LAFFORT

IMPORTADOR VÊNETO MERCANTIL IMPORTADORA LTDA

2. CARACTERÍSTICAS GERAIS

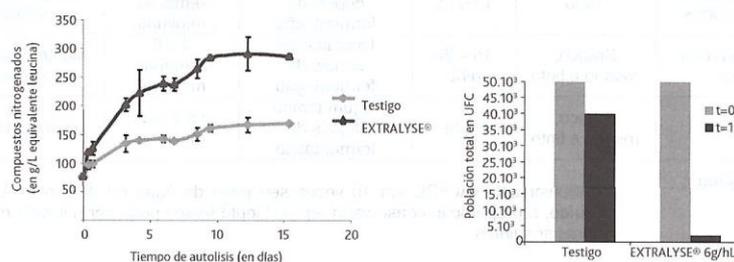
Formulação de (1,3) beta-glucanase e de enzimas pectolíticas purificadas em CE destinadas a melhorar a filtrabilidade dos vinhos e o amadurecimento sobre as borras.

APLICAÇÕES ENOLÓGICAS

- EXTRALYSE acelera todos os mecanismos biológicos relacionados com o amadurecimento das borras e em particular a dissolução de moléculas responsáveis pela redondeza e do volume em boca provenientes da autólise das leveduras.
- Limita os riscos de contaminação dos vinhos ao longo do amadurecimento e diminui sensivelmente a carga de micro-organismos em suspensão.
- Diminui a duração do amadurecimento ao mesmo tempo em que conserva o potencial organoléptico devido ao efeito das borras.
- Ajuda no afinamento e clarificação dos vinhos.
- Melhora a clarificação e a filtrabilidade, especialmente em vinhos procedentes de vindimas botritizadas.

RESULTADOS CIENTÍFICOS

- Durante uma autólise em um meio modelo, a preparação EXTRALYSE libera duas vezes mais compostos nitrogenados, responsáveis particularmente pelas propriedades organolépticas devido ao amadurecimento sobre as borras, do que a autólise natural sem enzimas exógenas (Thèse Anne Humbert-Goffard, 2003, Faculté d'Oenologie de Bordeaux II).
- EXTRALYSE permite uma limpeza rápida dos vinhos e uma melhora significativa da estabilidade microbiológica.


3. ESPECIFICAÇÕES

Aspecto	Granulado
Cor	Creme
Matérias insolúveis	Nenhuma



FICHA TÉCNICA DE PRODUTO
EXTRALYSE

Cód.: FT 92
Data: 15/05/2017
Rev.:02
Pág.:2 de 3

Atividade de standardização:

Pectinase (PGNU/g)	2500
Beta-glucanase (exo-1,3) (BGXU/g)	75
Cinamil Esterase (CINU/1000 PGNU)	< 0,50

PARÂMETROS DE CONTROLE	UNIDADE	VALOR
Arsênio	ppm	< 3,00
Chumbo	ppm	< 5,00
Mercurio	ppm	< 0,50
Cádmio	ppm	< 0,50
<i>Salmonella</i>	/25g	Ausência
<i>Escherichia coli</i>	/g	Ausência
Coliformes	UFC/g	< 30
Germes totais viáveis	UFC/g	< 5x10 ⁴
Toxinas e micotoxinas	-	Não detectável
Atividade antimicrobiana	-	Não detectável
Ácaros mortos	-	< 5
Cinzas insolúveis em ácido	%	< 1,5

4. RECOMENDAÇÕES DE USO

Dose de emprego:

Aplicação	Tipo de vinho	Doses	Momento de emprego	Tempo de contato	Recomendações
Amadurecimento sobre as borras	Branco e Rosado	6 – 10 g/hL	Diretamente depois da fermentação	3 a 6 semanas mínimas	Manter as borras em suspensão
Amadurecimento sobre as borras	Tinto	10 g/hL	Diretamente depois da fermentação	3 a 6 semanas mínimas	Manter as borras em suspensão
Tratamento das borras	Branco, rosado e tinto	15 – 20 g/hL	Diretamente depois da fermentação	3 a 6 semanas mínimas	Manter as borras em suspensão
Filtração	Branco, rosado e tinto	6 g/hL	Algum tempo depois da fermentação	5 a 7 dias mínimos	Homogeneizar

Modo de emprego:

Dissolver EXTRALYSE em 10 vezes seu peso de água ou de mosto. Uma vez diluído, a preparação conservada em ambiente fresco pode ser utilizada nas 6 – 8 horas seguintes.

PROPRIEDADES:

No amadurecimento sobre as borras:

- EXTRALYSE é utilizada na presença de borras de levedura, logo que possível para favorecer a extração.
- No caso das vinificações em branco, é possível trasfegar os vinhos e efetuar o tratamento sobre as borras separadamente.



FICHA TÉCNICA DE PRODUTO EXTRALYSE

Cód.: FT 92
Data: 15/05/2017
Rev.:02
Pág.:3 de 3

- Para a melhora da clarificação e da filtrabilidade dos vinhos, EXTRALYSE pode ser adicionado em qualquer momento ao fim das fermentações.
- Bentonita: As enzimas são inativadas de maneira irreversível pela bentonita. Um tratamento eventual com bentonita deve ser efetuado sempre depois da adição das enzimas ou utiliza-las depois de eliminada a bentonita.
- SO₂: Não é sensível as doses usuais de SO₂ (< 300 mg/L) porém recomenda-se evitar o contato direto das enzimas com as soluções de sulforosas.
- As preparações são ativadas geralmente a uma temperatura entre 5 °C e 60 °C ao pH do vinho de 2,9 a >4.

5. EMBALAGEM / TRANSPORTE / ARMAZENAMENTO E VALIDADE

Embalagem:	0,250 kg.
Transporte e Armazenamento:	Conservar fora do solo e em sua embalagem de origem a temperatura moderada (0 a 25 °C), em local seco, ventilado e livre de odores.
Validade:	4 anos. Após aberta, validade de 1 mês em embalagem bem fechada.

6. OUTRAS INFORMAÇÕES

1. Produto FOOD GRADE impróprio para consumo humano na forma como se apresenta;
2. Exclusivo para uso industrial em alimentos e bebidas, apto para elaboração de produtos destinados ao consumo humano;
3. Fabricante certificado HACCP e ISO 9001.
4. Não contém alergênicos e organismos geneticamente modificados.
5. Produto autorizado para uso em orgânico segundo Regulamento USA, para uso no Brasil consultar regulamentações;
6. Cumpre com as Leis Sanitárias e Normas Oficiais correspondentes:
 - ✓ Resolução RDC nº 26, de 02/07/2015.
 - ✓ Resolução RDC Nº 27, de 6/08/2010.
 - ✓ Resolução RDC nº 14, de 28/03/2014.
 - ✓ Regulamento (CE) nº606/2009.

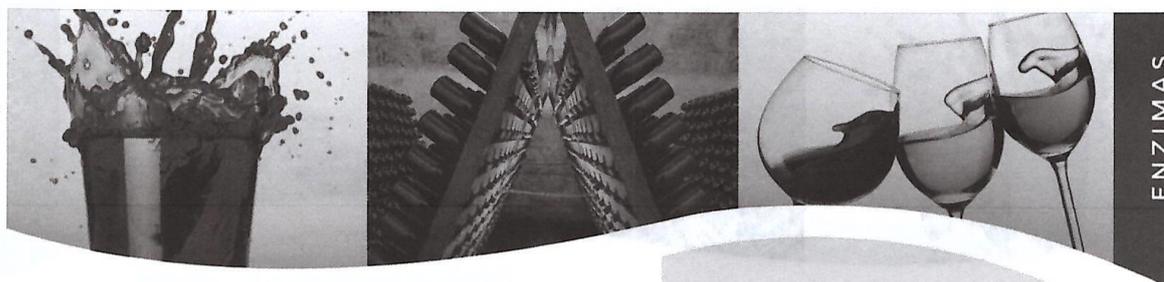
A Vêneto Mercantil está comprometida com a satisfação do cliente e em cumprir os regulamentos relevantes, tanto em aspectos de saúde, bem como ecológica e segurança de alimentos.

Eng. Maqueli Remussi – CREA – RS210272
E-mail: qualidade@venetomercantil.com.br



VÊNETO MERCANTIL IMPORTADORA LTDA
Via Veneto, 151, Colina de Flores, Flores da Cunha – RS; CEP: 95270-000 – Caixa Postal: 166.
Fone/Fax: (54) 3297-6200 / (54)8111-1200
Site: www.venetomercantil.com.br

ANEXO II – Ficha técnica da enzima comercial Rohalase BXL®



ROHALASE BXL

É uma preparado β -glucanásico com alto teor de atividades glucanásicas β -1.3 - e β -1.6 . A enzima contém alta atividade proteásica. A enzima é obtida a partir de culturas específicas de uma cepa *Trichoderma*.

PROPRIEDADES

Possui as seguintes características:

- Produto líquido aromático e de cor marrom
- Peso específico: ~ 1,15 g / mL

ATIVIDADE

ROHALASE BXL contém uma atividade mínima declarada de 2.500 LAM / g.

APLICAÇÃO

ROHALASE BXL é particularmente adequada para o tratamento de vinhos de difícil filtração, que são produzidos a partir de uvas infectadas por *botrytis*. Clarificação e filtração são significativamente melhoradas. ROHALASE BXL também é utilizada para o sistema "sur lie", já que β -glucanases e proteases são qualificadas para aumentar a autólise da levedura. Recomenda-se aplicar a enzima no final da fermentação ou no vinho sobre borras de levedura. ROHALASE BXL também é indicada na regeneração de filtro kieselguhr ou limpeza de filtros tangenciais.

ESPECIFICAÇÕES

O produto está em conformidade com as especificações recomendadas pelo Comitê de aditivos alimentares da FAO / OMS (JECFA) e pelo Food Chemicals Codex (FCC) como enzima de grau alimentício. As contagens totais viáveis estão dentro do limite máximo de 5×10^4 / g

Continua...

FICHA TÉCNICA

DESCRIÇÃO

Preparado β -glucanásico líquido

APLICAÇÃO	CONDIÇÕES DE REAÇÃO	DOSAGEM
Vinhos: *Filtração *Sur Lie	18- 24°C/-4semanas	4-12g/hL 8-20g/hL
*Regeneração o Limpeza Membrana	40-50°C/1-2horas	20g/hL

EMBALAGENS

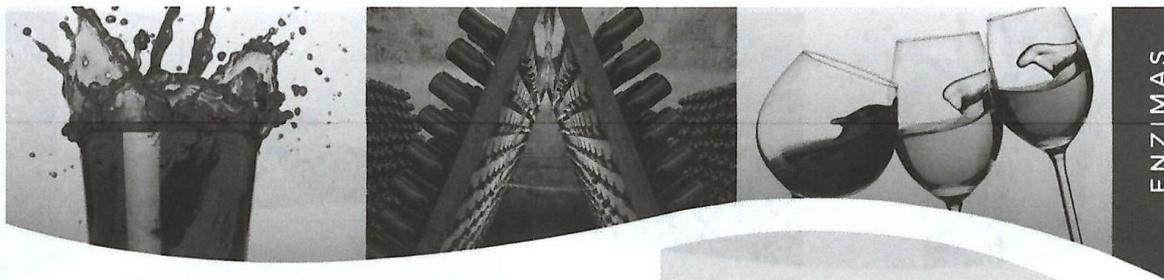
Bombonas de 25 kg. Frascos de 1Kg
(produto fracionado denomina-se
Coalase BXL)

ACONDICIONAMENTO

Armazenar em local fresco (4° C). A perda de atividade será inferior a 10% dentro de 1 ano.

AMAZON
GROUP

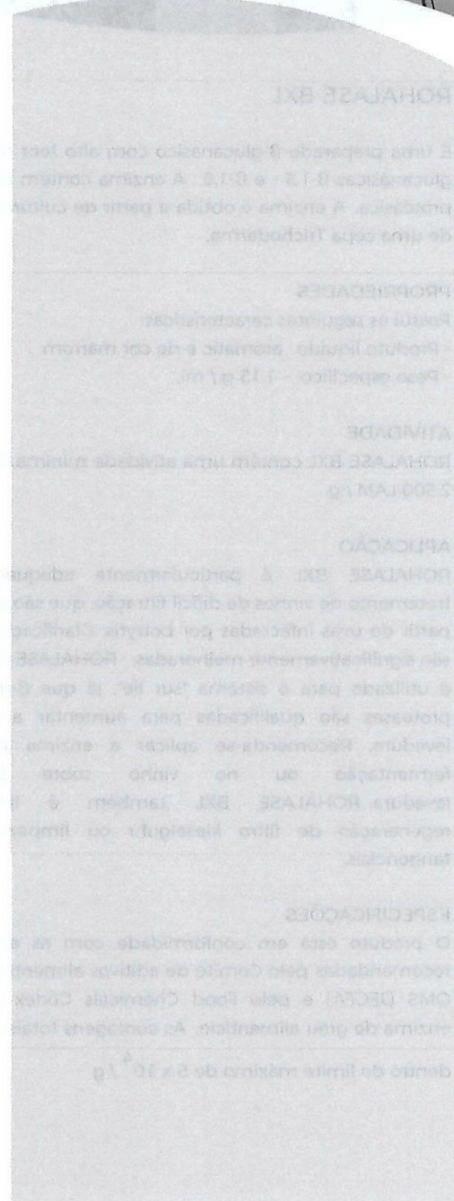
AMAZON GROUP PRODUTOS PARA BEBIDAS LTDA
Rua João Torriani, 269 | Licorsul | 95705-868 | Bento Gonçalves | RS
Fone 54 3455.1500 | CNPJ: 08.020.120/0001-62



ENZIMAS

MANUSEIO

Evitar a formação de gás e poeira do produto. Inalação repetida da enzima ou pode causar sensibilização, ocasionando reações do tipo alérgica em pessoas sensíveis. Para se obter informações detalhadas, consulte a Folha de Dados de Segurança do Material (MSDS).



AMAZON
GROUP

AMAZON GROUP PRODUTOS PARA BEBIDAS LTDA

Rua João Torriani, 269 | Licorsul | 95705-868 | Bento Gonçalves | RS

Fone 54 3455.1500 | CNPJ. 08.020.120/0001-62