



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Bioquímica

Dissertação

Fermentação de uvas brancas utilizando várias leveduras em diferentes mostos de castas brancas na campanha vitivinícola de 2020, na Sub-Região de Borba

Ana Miguel Carvalho Serrano

Orientador(es) | I Alves-Pereira

Maria João de Deus Costa Rosado

Óscar Manuel Morgado Gato

Évora 2022



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Bioquímica

Dissertação

Fermentação de uvas brancas utilizando várias leveduras em diferentes mostos de castas brancas na campanha vitivinícola de 2020, na Sub-Região de Borba

Ana Miguel Carvalho Serrano

Orientador(es) | I Alves-Pereira

Maria João de Deus Costa Rosado

Óscar Manuel Morgado Gato

Évora 2022



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Alfredo Jorge Palace Carvalho (Universidade de Évora)

Vogais | Ana Vitória Dordio (Universidade de Évora) (Arguente)
| Alves-Pereira (Universidade de Évora) (Orientador)

Agradecimentos

.....

- Primeiramente agradeço aos meus pais e irmão por todo o incentivo e motivação nas fases mais difíceis e por toda a força que me deram durante todo este percurso.
- Agradeço também ao meu amigo e namorado Diogo por conseguir suportar os meus momentos mais complicados. Por ser principalmente o meu amigo e confidente todos os dias após os longos dias de trabalho e estudo.
- Agradeço à Adega de Borba por me ter possibilitado a realização do meu trabalho prático e por me ter possibilitado a participação nas atividades da campanha vitivinícola 2020.
- Agradeço aos meus orientadores da Adega de Borba à Eng. Maria João Rosado e ao Eng. Óscar Gato por todas as dicas e ajuda sempre que precisei e por toda a motivação durante estes tempos mais complicados e no decorrer do trabalho.
- Agradeço à Professora Dra. Isabel Alves Pereira por toda a orientação deste trabalho, pela ajuda e disponibilidade no trabalho de laboratório que realizei na Universidade de Évora sob a sua orientação. Pelas dicas ao longo do trabalho e por toda a ajuda que me prestou sempre que precisei.
- Por fim agradeço aos meus 4 avós que já não estão comigo mas que sei que estão a torcer por mim e pela finalização deste trabalho. Principalmente ao meu Avô Manuel Carvalho que sempre me inspirou e passou o gosto ao campo e ao vinho, uma atividade que sempre praticou.
- Obrigado a todos!

Índice geral

Agradecimentos	i
Índice geral	ii
Índice de figuras	iii
Abreviaturas e nomenclatura de enzimas	iv
Resumo	v
Abstract	vi
1. Fundamento Teórico	1
1.1. História do vinho	1
1.2. Influência do terroir na vitivinicultura	8
1.3. Vinificação de Vinhos Brancos	17
2. Problemática e objetivos	27
2.1. Problemática	27
2.2. Objetivo Geral	28
2.3. Objetivos específicos	28
3. Metodologia	29
3.1 Estratégia	29
3.2 Procedimento experimental	31
3.2.1. Monitorização de mostos de uvas brancas	31
3.2.2. Análise química sumária de mostos brancos	32
3.2.2.1. Densidade e Temperatura	32
3.2.2.2. pH	32
3.2.2.3. Acidez total	33
3.2.2.4. Anidrido sulfuroso livre	33
3.2.2.5. Turbidez	35
3.2.2.6. Açúcares redutores	35
3.2.2.7. Teor alcoólico	36
3.2.3. Acidez volátil	37
3.2.3.1. Extrato Seco (E.S.T)	37
3.2.3.2. Ácido Málico	37
3.3 Material	38
3.4 Equipamento	38
3.5 Reagentes	39
4. Resultados e Discussão	40
5. Conclusões	53
6. Referências bibliográficas	54

Índice de figuras

Fig 1 – Regiões Vitivinícolas em Portugal (site OIV)	5
Fig 2 – Gráfico que representa a evolução da área de vinha em Portugal Fonte: (Anuário 2018).....	6
Fig 3 - Inventário de superfícies vitivinícolas (Anuário, IVV, 2018)	6
Fig 4 – Regiões vitivinícolas no Alentejo. A cor verde representa todas as regiões vitivinícolas do Alentejo (Site OIV)	7
Fig 5- Formação de compostos de aromáticos por meio de clivagem de carotenoides (Uenojo 2007).	10
Fig 6 – 3 Pontos essenciais para ser possível quantificar a relação videira-solo. Círculo 1-Biodisponibilidade de nutrientes (Site Voz do Campo); Círculo 2 – Processo de transporte de nutrientes na videira (Coutinho, Gigavo, revista online campo e negócios); Círculo 3- Variações de clima de ano para ano (site MFMAGAZINE),	13
Fig 7 - Esquema dos passos do processo de vinificação de vinhos brancos.....	22
Fig 8- Uva Branca Madura Fonte: Site Clube dos vinhos Portugueses	23
Fig 9 – Via Metabólica da fermentação alcoólica. Via metabólica através da qual é possível transformar a glicose em etanol. (Zamora 2009).....	24
Fig10 – Metabolismo Crabtree.Via metabólica nas leveduras que permite que estas consigam sobreviver tanto em ambientes aeróbios como anaeróbios sem que recorram a mais energia.....	25
Fig 11-Via de Erilich na formação de álcoois superiores. Via metabólica através da qual as leveduras conseguem obter aromas mais frutados a partir de álcoois superiores e aromas mais florais a partir de ésteres.(Godoy, L., Acuña-Fontecilla, A., & Catrileo, D. (2020ref na lista)).....	26
Fig 12-Cubas com mosto de casta Arinto e as respetivas estirpes de <i>S.cerevisae</i> utilizadas em cada uma.	30
Fig 13. Potenciómetro de pH (fotografia do autor).....	33
Fig. 14. Determinação da acidez total (fotografia do autor)	33
Fig 15. Ilustração da determinação do sulfuroso (fotografia do autor)	35
Fig 16. Turbidímetro (fotografia do autor)	35
Fig 17 –Resultados obtidos através da recolha das densidades diariamente até ao final da fermentação de cada mosto.	40
Fig 18 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 62B.....	41
Fig 19 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 66B.....	42
Fig 20 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 68B.....	43
Fig 21 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 69B.....	43
Fig 22 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 72B.....	45
Fig 23 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 78 B.....	45
Fig 24 – Gráfico representativo das análises aos açúcares redutores nas cubas 62; 66; 68; 69; 72 e 78 em 3 fases do processo fermentativo	46
Fig 25 – Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 62B.....	48
Fig 26 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 66B.....	49
Fig 27 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 68B.....	49
Fig 28 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 69B.....	50
Fig 29 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 72B.....	50
Fig 30 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 78.....	51

Abreviaturas e nomenclatura de enzimas

ATEVA – Associação Técnica dos Viticultores do Alentejo

A.T- Acidez Total

FTIR – Forier transform infrared spetroscopy

OIV – Organização Internacional do Vinho

IVV – Instituto da Vinha e do Vinho;

SO₂L – Dióxido de Enxofre Livre

KIKIO₃ – Iodeto de Potássio

NaOH – Hidróxido de Sódio

BIB- Bag-in-Box

E.S.T – Extrato seco Total

GAP – Grau provável da cuba

FTIR – Espetroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

ARO8 - Aromatic/aminoadipate aminotransferase 1

ARO9 - Aromatic amino acido aminotransferase 2

BAT1 E – Aminoácido amino transferase de cadeia ramificada mitocindrial

BAT2 – Proteína rica em prolina

Adh1p – Alcool desidrogenase

Adh6p – álcool desidrogenase de cadeia média dependente de NADPH

Fermentação de uvas brancas utilizando várias leveduras em diferentes mostos de castas brancas na campanha vitivinícola de 2020, na Sub-Região de Borba

Resumo

Na produção de vinho é necessário a introdução de leveduras exógenas que permitem o arranque da fermentação, permitindo que este processo ocorra de forma a obter vinho com as características pretendidas. Na campanha vitivinícola de 2020 na Adega de Borba foi realizado o estudo do comportamento de várias estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas em diferentes mostos da casta branca Arinto. O estudo incidiu na avaliação de parâmetros físico-químicos dos mostos no início e no final da fermentação e da cinética de fermentação. O estudo mostrou que os parâmetros físico-químicos não apresentaram diferenças significativas entre estirpes, mas, foi possível observar pequenas diferenças a nível da duração do processo de fermentação no mosto de cada cuba. Pode então concluir-se que a estirpe tem mais relevância a nível do perfil final do vinho, uma vez que uma estirpe determina a produção de metabolitos constituintes do aroma característico do vinho que se pretende produzir.

Fermentation of white grapes using various yeasts in different musts of white varieties in the 2020 wine year, in the sub-region of Borba

Abstract

In wine production, it is necessary to introduce exogenous yeasts that allow fermentation to start, allowing this process to occur in order to obtain wine with the desired characteristics. In the 2020 wine season at Adega de Borba, a study was carried out on the behavior of several strains of *Saccharomyces cerevisiae* used in different musts of the white variety Arinto. The study focuses on the evaluation of physicochemical parameters of musts at the beginning and end of fermentation and fermentation kinetics. The study showed that the physicochemical parameters did not show significant differences between strains, but it was possible to observe small differences in terms of the duration of the fermentation process in the must of each vat. It can then be concluded that the strain has more relevance in terms of the final profile of the wine, since a strain determines the production of metabolites that constitute the characteristic aroma of the wine that is intended to be produced.

1. Fundamento Teórico

1.1. História do vinho

A origem da produção de vinho, uma bebida obtida a partir da fermentação de uvas, é ainda pouco definida. O vinho é rico em calorias e tem um importante papel na dieta mediterrânea, supostamente a zona onde a bebida surgiu.

No planalto iraniano de Gobin Tepe a investigação arqueológica mostrou a existência de vinho no IV milénio a.C., contrariando o pensamento que colocava a cerveja como a bebida mais antiga colocando assim o vinho como a bebida produzida mais antiga (Guarinello 1997).

O povo Egípcio foi dos primeiros a ter acesso ao vinho em grande escala pois foram eles os grandes pioneiros das bebidas fermentadas, começando pela cerveja, sendo esta obtida a partir da fermentação de cereais como cevada. Após os cereais seguiram-se as experiências da fermentação dos frutos (Fonseca et al 2012.). O cultivo da vinha era realizado nas margens do rio Nilo e o comércio do vinho no antigo Egito estendia-se pela bacia Mediterrânea e também pela Ásia, e os conhecimentos a nível de ciência desenvolvidos no Egito foram disseminados levando a outros povos o conhecimento necessário para a produção de vinho (Fonseca et al 2012).

O povo grego também fez uso desta bebida tão especial que é o vinho, este povo aproveitou o vinho principalmente como um auxiliar terapêutico. Podem verificar-se referências na “História da Medicina”, por Hipócrates, considerado o pai da Medicina. Por exemplo uso do vinho como suplemento dietético, como anti-inflamatório, como purgativo e até como antidepressivo. No caso de feridas abertas Hipócrates recomendava que estas se mantivessem sempre limpas com água fresca, vinho e vinagre (Ferreira 2004).

Segundo alguns autores o vinho foi criado pelos fenícios e foi introduzido noutras civilizações pelos Gregos, sendo também este povo que alargou a viticultura por toda a Europa. O vinho, o azeite e o trigo eram considerados os 3 grandes pilares do seu comércio (de Freitas 2011).

O vinho é um produto que marca a civilização, porém, alguns investigadores acreditam que o vinho antes de ser um produto que iria civilizar uma determinada região previamente foi civilizado. A videira (*Vitis vinífera*) é uma planta tratada pelo homem pelo que é mais rara na sua forma selvagem, mas nos dias de hoje ainda é possível encontra-la desde a zona de Espanha meridional até ao mar Cáspio. As principais diferenças existentes entre a forma selvagem e a cultivada são a morfologia, as estruturas reprodutivas, a forma da semente e o teor de açúcar no

bago. Supõe-se que as sementes encontradas em escavações arqueológicas pertenciam a plantas cultivadas nesses locais nos tempos mais antigos, mais precisamente do V milênio (a.c) na Ucrânia, Itália, Sicília e Síria. Na Síria, Palestina, Egeu e Egito (de Freitas 2011).

Como já referido anteriormente o vinho foi um grande produto impulsionador do comércio nas mais variadas civilizações, principalmente na sociedade mediterrânea fazendo parte da nutrição, da religião e de muitas festividades (de Freitas 2011).

No mundo antigo o vinho era considerado uma dádiva de Deus e por isso era consumido e tratado com respeito. Os rituais realizados a Baco, o Deus Romano do vinho, e na Grécia chamado de Dionísio, eram principalmente realizados a sul da Península Itálica.

Quando os Romanos começaram a conquistar a Europa foram expandidos, também, alguns dos costumes e bens da civilização Romana. Principalmente o vinho (de Freitas, 2011).

O vinho começa, então, a sua grande expansão quando se consegue a conquista do noroeste da Europa. Para os Romanos o vinho era muito mais do que uma simples bebida. Era uma bebida divina, que era utilizada como cura, um importante elemento no que toca a socializações, um vício, um prazer (de Freitas 2011).

A partir daqui os Celtas começaram a ser consumidores de vinho e mais tarde de azeite e trigo. Mas para os Romanos os costumes alimentares dos celtas eram considerados bárbaros e estranhos completamente fora do que era normal. Segundo os Romanos para ser considerados civilizado não era suficiente apenas comer os alimentos corretos, era necessário também observar o modo de preparar os alimentos. No caso do vinho este era visto como um elemento consumido em atos religiosos e como integrador (de Freitas 2011).

Os Romanos consideravam o vinho como uma herança, um produto de luxo e que fazia de complemento a outros grandes luxos dos ricos como os banhos, as termas e consumo de ostras (Carlan 2012). Os Romanos tinham um grande interesse por vinhos velhos, já nessa altura surgia o ditado “quanto mais velho melhor”. O vinho era guardado em potes de barro, ao que hoje se chama de talhas, em recipientes de pedra e mais tarde é que surgiu o armazenamento em vidro. Os depósitos de armazenamento mais comuns na altura eram as ânforas. Estas ânforas para serem protegidas das condições exteriores e de posteriores impactos eram envolvidas em palha. Para as selar usava-se a tradicional cortiça ou um tampão de terra cozida onde se adicionava argila ou gesso. Já nessa altura se fazia a identificação do vinho depositado em cada ânfora. Os romanos designavam as suas adegas de “apothecae”. Tentavam sempre construí-las acima das suas casas que geralmente eram quentes. Assim o vinho passava por uma fase de pasteurização que impedia que certos organismos fizessem alterações no produto (Fonseca et al 2012.). Por outro lado o vinho não podia ficar muito tempo exposto às altas temperaturas

então os romanos tinham compartimentos nas cantinas para onde ia o vinho após estar pasteurizado, ou seja, ao que eles chamavam pós “fumarium”. Estas repartições nas cantinas apresentavam uma temperatura mais fresca que se tornava ideal para o envelhecimento do vinho (Carlan 2012).

Cada ano que se produzia vinho este povo colocavam as ânforas mais novas em frente às mais antigas sendo que o vinho mais velho era o vinho mais valioso, mas se esse envelhecimento ultrapassasse os 20 anos consideravam que o vinho perdia a sua qualidade e validade e, assim, deixavam de ser assim tão valiosos. Como se começou a consumir tanto vinho foi sendo criado um maior desenvolvimento do comércio e de regiões de produção de vinho (Carlan 2012).

Os médicos eram, também os grandes utilizadores de vinho, uma prática que já vinha desde o Antigo Egito pois servia de remédio nas mais variadas doenças. Na Medicina o vinho conquistou um lugar muito importante não só como medicamento primário, mas principalmente para dissolver outros elementos sólidos (Ferreira 2004).

As propriedades curativas do vinho já eram conhecidas no Antigo Egito pelo médico e egiptologista Nunn que no seu livro “Medicina do Egito antigo de Nunn” incluiu o vinho em 3 listas de medicamentos com a função de limpeza, espasmolítica e tratamento para a tosse.

Tal como o povo romano os Gregos utilizavam o vinho diariamente na sua dieta pois acreditavam que era um produto estimulante do apetite e possui nutrientes muito importantes para o corpo e para a saúde humana.

Hipócrates, nomeado o Pai da Medicina, e um dos principais médicos da antiguidade grega, utilizava o vinho para fins curativos e a nível de profilaxia. O vinho, segundo Hipócrates, ajudava na cura de feridas de várias origens e tamanhos e que as mesmas não deviam ser humedecidas com mais nada para além do vinho. O vinho evitava também o aparecimento de infeções nestas mesmas feridas sendo que os polifenóis do vinho eram ótimos anestésicos. Antigamente as infeções eram a maior causa de morte na população pois ainda não havia meios tão desenvolvidos nem antibióticos para as combater. Assim o vinho era utilizado como desinfetante nas feridas para evitar o desenvolvimento de possíveis infeções (Nikolova et al 2018).

Considerava-se que os vinhos brancos tinham mais propriedades diuréticas do que os vinhos tintos. Os vinhos tintos contêm taninos e este tipo de vinho era utilizado como antidiarreico e como também era mais doce ajudava também a expulsar expetoração. Segundo Hipócrates os vinhos com um tom mais escuro são mais secos porque pensava-se que não eram totalmente eliminados do corpo mas ajudavam na eliminação dos líquidos do corpo. Por outro

lado, os vinhos que tinham um maior teor em taninos ajudavam na motilidade intestinal, na libertação de saliva e na libertação de outras secreções (Nikolova et al 2018).

Galeno, médico grego radicado em Roma, utilizava o vinho no combate de infeções e tratamento de gladiadores após os combates no coliseu (Carlan 2012), desenvolvendo o seu conhecimento acerca de tipos de ferimentos com os quais já tinha lidado. Na desinfeção destas feridas muitas vezes era utilizado o vinho de forma a prevenir infeções. Estas misturas em que o vinho estava introduzido era as chamadas misturas “Galênicas” e foram utilizadas até ao fim da idade média. Galeno criou uma lista de vinhos em forma de catálogo de várias regiões onde estavam explicadas as suas características físicas e químicas. Defendia, também, que o vinho era bastante útil para os idosos (Nikolova et al 2018).

As bebidas fermentadas hoje em dia têm um grande impacto na economia e é um setor com grande importância em vários países. Por exemplo a OIV (Organização Internacional do Vinho e da Vinha) fez uma estimativa da superfície vitivinícola a nível global. Chegou-se à conclusão que eram cerca de 7.534.000 hectares. Sendo que 18% do total mundial pertencia a Itália, depois França com 17,3% e depois Espanha com 13,5% (van Leeuwen. et al 2018).

A nível nacional a história da viticultura em Portugal tem sofrido grandes oscilações sendo que o mesmo tem acontecido com outros países vitivinícolas europeus. Foi possível assistir a períodos de grande expansão, até descontrolada, o que conseqüentemente origina o aumento de preços (Anuário 2018).

Após as crises observadas em Portugal durante o século XIX e XX foi possível verificar um abandono da atividade vitivinícola acarretando como conseqüências o abandono de grandes áreas com vinha plantada ou a substituição destas por outras culturas (Anuário 2018).

Segundo o IVV (Instituto do Vinha e do Vinho) com a adesão de Portugal à Comunidade Económica Europeia em 1986, criaram-se mecanismos de abandono definitivo da cultura da vinha. Com esta ação pretendeu-se arrancar a vinha de locais menos apropriados para este tipo de atividade agrícola, a par de criarem alguns instrumentos que, financeiramente, possibilitassem e facilitassem a replantação de importantes áreas de vinha em locais mais ricos e com maior aptidão para produzir vinhos de qualidade (Anuário 2018), Fig 1.

Com a aprovação da Organização Comum de Mercado e Produtos Agrícolas neste setor de produção de vinha pretende-se que aumente a competitividade entre os produtores de vinha fazendo com que o setor vitivinícola funcione de forma clara, simples e eficaz de forma que a oferta e a procura se equilibrem e assim, preservar as tradições, reforçando estas nas regiões rurais e respeitando o ambiente (Anuário 2018).

A área de vinha plantada em Portugal Continental a 31 de julho de 2018 era de 187.562 ha (Anuário 2018) Fig.1.

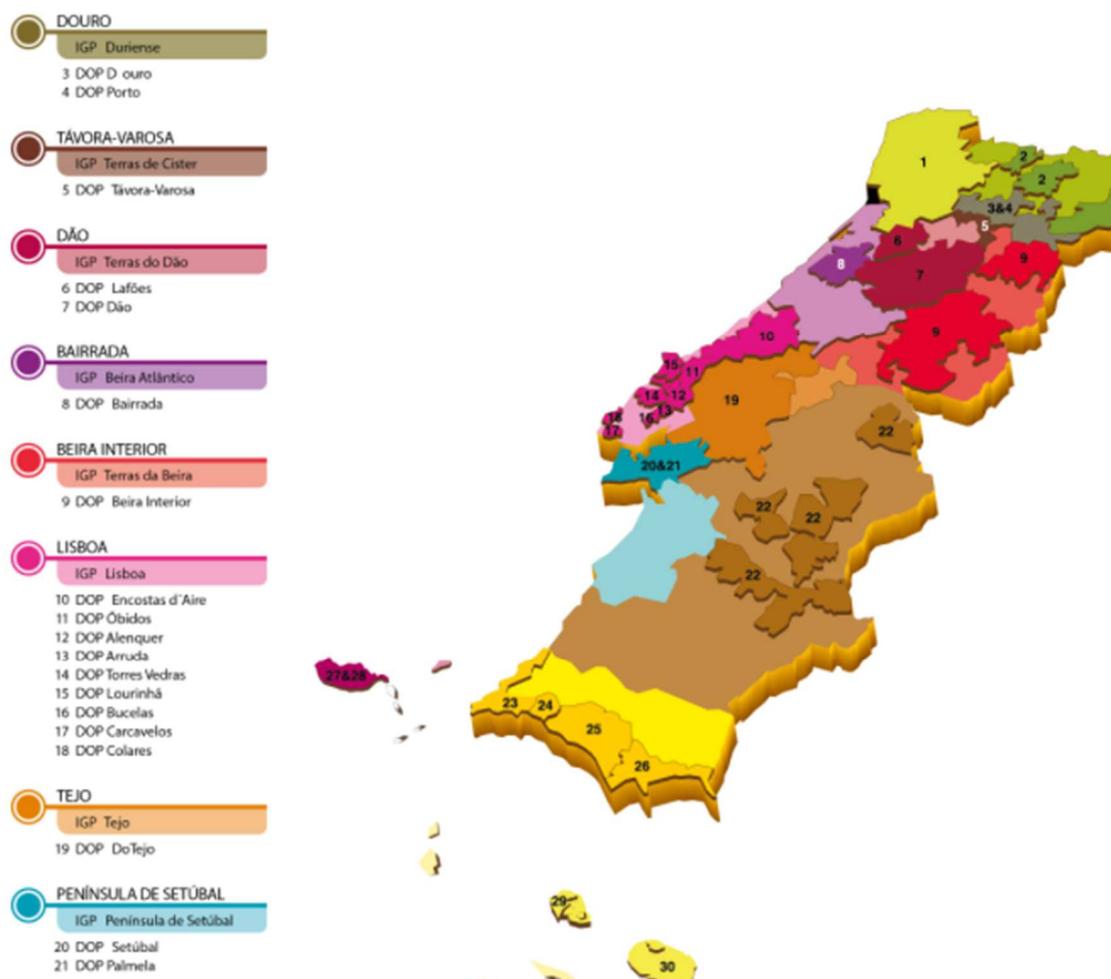


Fig 1 – Regiões Vitivinícolas em Portugal (site OIV)

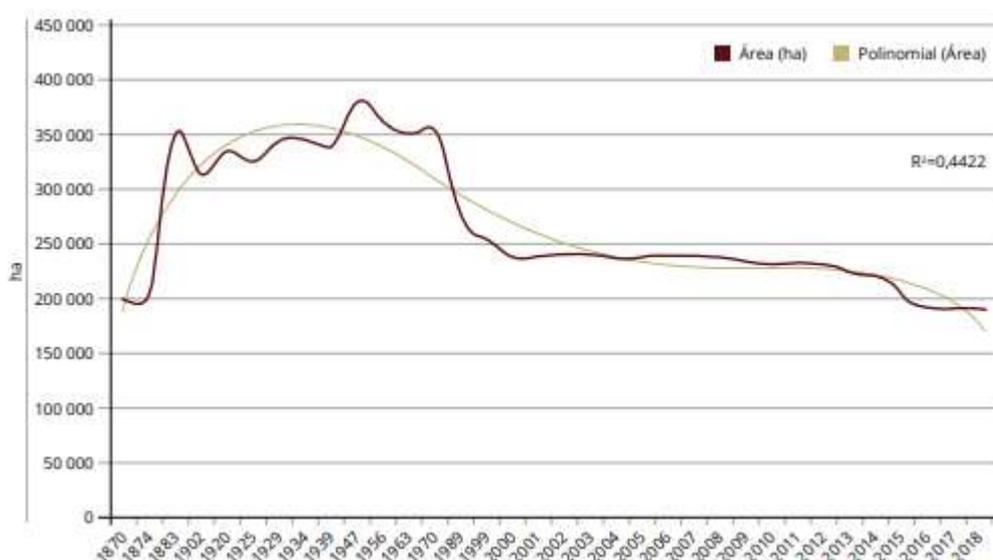


Fig 2 – Gráfico que representa a evolução da área de vinha em Portugal Fonte: (Anuário 2018)

Região	Área (ha)			
	DOP*	IGP*	Sem DOP/IGP	Total
Alentejo	13 831	7 158	3 555	24 544
Algarve	40	423	889	1 352
Beira Atlântico	2 022	196	12 412	14 630
Douro	39 446	66	3 044	42 556
Lisboa	1 016	8 533	8 440	17 989
Minho	16 203	1 061	4 709	21 973
Península de Setúbal	2 760	2 535	1 970	7 265
Tejo	1 473	2 319	8 152	11 944
Terras da Beira	1 371	903	12 836	15 110
Terras de Cister	440	522	1 222	2 184
Terras do Dão	4 357	223	9 896	14 476
Trás-os-Montes	613	399	12 527	13 539
Total Continente	83 572	24 338	79 652	187 562

Fig 3 - Inventário de superfícies vitivinícolas (Anuário, IVV, 2018)

O Alentejo é uma das maiores regiões vitivinícolas Nacionais. Em 2018, a região contava com aproximadamente 24.544 ha de vinha plantada Fig.3.

O Alentejo pode considerar-se uma das mais ricas regiões a nível vitivinícola. É conhecido por ser uma região com características climáticas quentes e secas o que beneficiou muitos investimentos no setor vitivinícola levando à produção de um dos melhores vinhos portugueses e a um reconhecimento internacional dos vinhos alentejanos (Vinhas 2015).

A plantação das vinhas no Alentejo, como já referido em parágrafos acima, é uma atividade que já vem desde o povo romano como podem provar alguns vestígios encontrados em algumas zonas do Alentejo como por exemplo grainhas de uvas que foram descobertas em

A casta sobre qual incidu este trabalho foi a casta Arinto.

A casta Arinto é uma casta branca que atinge uma grande expressão em Bucelas. Os mostos obtidos a partir da casta Arinto são mostos que podem apresentar uma concentração de açúcares que pode ser classificada de média a alta e com um teor elevado de ácidos orgânicos. Os vinhos obtidos a partir desta casta são vinhos que apresentam uma muito boa acidez e em termos de cor apresentam uma cor citrina. Em relação a aromas podem destacar-se notas a frutos citrinos ou a maçã madura ou pêra podendo até chegar a algumas notas florais (Genisheva 2007).

A casta Arinto é uma casta que é reconhecida em todo o país. O Arinto não é das castas mais dominantes no Alentejo embora já exista nesta região há alguns anos. A casta Arinto é considerada uma casta de abrolhamento tardio e é mais suscetível a doenças como o Oídio e mais resistente a outras como o Míldio (Cabrita 2003).

Os cachos destacam-se por serem constituídos por bagos de tamanho médio, uniforme e pouco translúcidos (Cabrita 2003).

Os vinhos que são originados a partir desta casta são vinhos com notas a tender para o frutado e com uma cor mais citrina. Quando se fala em vinhos jovens originados do Arinto as notas são mais frutadas e quando o vinho envelhece as notas tendem mais para o mel (Cabrita 2003).

1.2. Influência do terroir na vitivinicultura

Atualmente muitos produtos agroindustriais podem ser localizados espacialmente. Segundo alguns autores quanto mais o espaço se torna um ponto importante devido às suas características específicas, mais formas há de ser oferecido como mercadoria no mercado a nível mundial. Neste caso fala-se de Terroir, uma palavra de origem francesa, para relacionar um produto ao seu espaço de produção. Representa o ambiente físico para a produção de um produto alimentar, neste caso uvas (Blume et al 2008). O vinho é um produto agroalimentar que desperta diferentes sensações a cada consumidor. Estas diferentes características devem-se ao tipo de casta que compõe esse vinho e também ao tipo de solo onde a uva foi desenvolvida (Blume et al 2008).

Atualmente estão identificados no vinho compostos voláteis tendo muitos deles um impacto olfactivo importante, contribuindo cada um deles de forma variável, por razões qualitativas e quantitativas, para o aroma final do vinho (Bayonove, 1992).

O aroma é desenvolvido ao longo do processo biotecnológico de vinificação. Este é iniciado pelo designado **aroma varietal**, específico da casta de uva, mas também dependente do tipo de solo, do clima, da fitotecnia, do estado sanitário e do grau de maturação da uva. Apesar de o aroma varietal das uvas ser formado por substâncias não aromáticas podem vir a originar moléculas aromáticas por conter essencialmente precursores de aromas como ácidos gordos, glicosídeos, carotenóides e compostos fenólicos (Guerra 2006). Durante a vindima, transporte, prensagem, maceração e clarificação desenvolve-se o **aroma pré-fermentativo** formado fundamentalmente pela presença de álcoois e aldeídos com 6 átomos de carbono, formados pela transformação de lípidos possível graças à ação de enzimas presentes na uva. Durante a fermentação alcoólica desenvolve-se o **aroma fermentativo**, este aroma é originado pelas leveduras e bactérias fermentativas e depende da sua condução, nomeadamente da temperatura e da estirpe de levedura utilizada. O **aroma pós-fermentativo** resulta de transformações ocorridas durante a conservação e envelhecimento do vinho, o aroma resulta de reacções de oxidação e de redução dos compostos existentes no vinho jovem (Guerra 2006).

Os carotenoides destacam-se entre os compostos químicos precursores de aromas, pelo que têm vindo a captar a atenção de inúmeros especialistas químicos levando à sua purificação e caracterização. No grupo dos carotenoides podem destacar-se compostos como o β -ionona, α -ionona, diidroactinidiolida, damascenol e β -ciclocitral os quais na planta têm a função de afastar herbívoros e atrair polinizadores (Uenojo 2007).

Os compostos aromáticos provenientes de carotenoides podem ser formados por reação química dependente de catálise enzimática como as dioxigenases, mas também por fotoxigenação e degradação térmica (Uenojo 2007). Esta sequência de reacções químicas pode ser ilustrada pela obtenção de β -damascenona a partir da neoxantina que sofre uma clivagem oxidativa e o precursor aromático resultante origina uma acetona cuja redução permite obter o produto de interesse (Uenojo 2007), Fig 5.

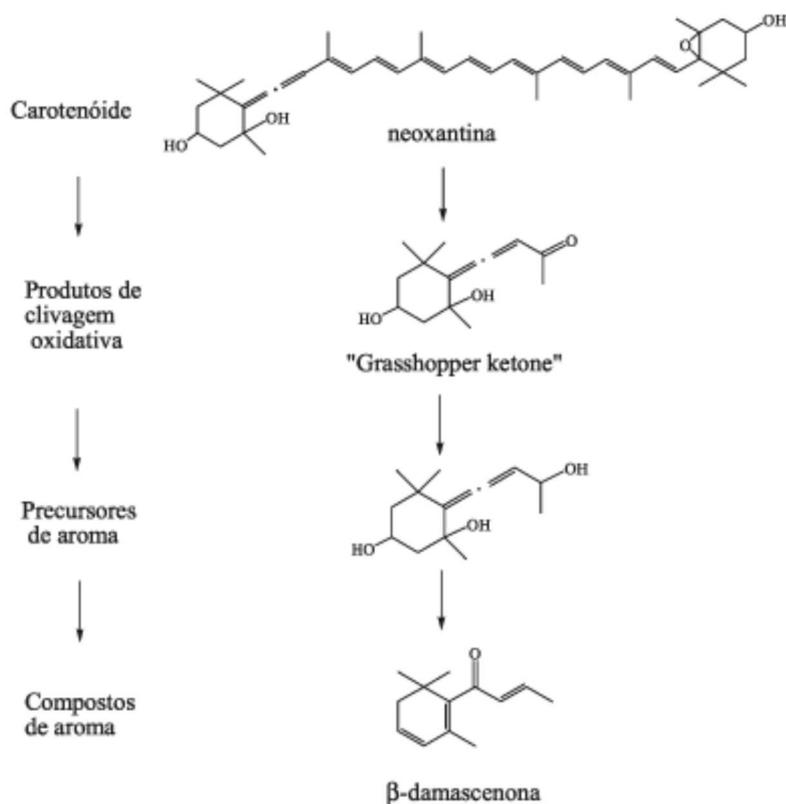


Fig 5- Formação de compostos de aromáticos por meio de clivagem de carotenoides (Uenojo 2007).

O Terroir, como referido, é um termo muito importante pois relaciona todo o ambiente que envolve a vinha e as condições em que esta está cultivada como as características sensoriais do vinho. A qualidade dos vinhos pode ser explicada e relacionada de forma inequívoca com o Terroir que envolve as uvas que constituem determinado vinho. O Terroir acolhe fatores como clima, solo e práticas fitotécnicas e todos estes fatores se relacionam entre si. A maior parte dos vinhos de alta qualidade são constituídos por uvas cultivadas em diversificados climas e por isso torna-se um pouco complexo definir com certeza qual o clima ideal para a produção de vinho relativamente a temperatura, precipitação, e exposição solar, bem como fatores edáficos como a textura, profundidade e constituição mineral do solo (Van Leeuwen et al 2006).

A vinha existe porque o Homem a cultiva e trata dela e por isso é importante ter em consideração o fator humano e a fitotecnia. O Homem também vem recorrendo à genética para selecionar e encontrar as diferentes variedades de videira de forma a conseguir obter vinhos com uma qualidade superior (Van Leeuwen et al 2006). No final do século XVII e XVIII já havia algum conhecimento acerca dos tipos de solo que eram ou não benéficos para a videira e para se fazer a seleção certo do tipo de planta que seria cultivada. Devido a este conhecimento e a esta seleção foi possível criar vinhos de renome e criar uma hierarquia em termos de preços nos diferentes vinhos produzidos (Van Leeuwen et al 2006).

Quase todas as videiras hoje cultivadas e que produzem uvas que incorporam vinhos de alta qualidade são *Vitis vinífera* e estas podem, provavelmente devido a estudos genéticos e à evolução da seleção, sobreviver a temperaturas baixas de -15,8 °C a -20,8 °C. Em relação à maturação cada videira amadurece com quantidades de calor diferentes. Por exemplo para videiras em que as suas uvas amadurecem mais precocemente são necessários cerca de 1200 dias com 10,8 °C sendo estas mais características de zonas de latitudes mais elevadas. Nas zonas mais equatoriais o ritmo de vegetação é contínuo e todas as etapas reprodutivas ocorrem ao mesmo tempo na mesma parcela. Nestas zonas são maioritariamente cultivadas uva de mesa e com pouco potencial enológico (Van Leeuwen et al 2006).

Segundo alguns estudos conseguiu-se estabelecer que as zonas mais adequadas para o cultivo de vinhas para produção de uvas de qualidade mais elevada encontram-se entre latitudes de 35-50° nos hemisférios norte e sul. A característica da precocidade da videira é selecionada geneticamente e é por isso que vai variar entre as diferentes castas de uva (Van Leeuwen et al 2006).

Na Europa e nas regiões vitivinícolas os produtores e detentores de vinhas têm vindo a utilizar o comportamento de maturação para adaptar cada vinha a cada clima e a cada solo de acordo com os diferentes locais. O grande fator limitante relacionado com a produção de uvas e vinho em altas latitudes é o grau de maturação das uvas (Van Leeuwen et al 2006).

No caso de uvas produzidas em latitudes mais baixas, onde o clima se torna um pouco mais quente é possível que as uvas comecem a amadurecer precocemente, ou seja no início do verão. Se esta maturação acontecer muito rapidamente é possível que a expressão aromática dos vinhos seja muito baixa (Van Leeuwen et al 2006).

A forma como o clima varia numa determinada região vitivinícola é designada de região mesoclimática. Quando existe uma variedade no relevo, altitude, aspeto e declive, designa-se como topoclimática. O topoclima pode ser considerado um fator bastante importante em regiões vitivinícolas onde o clima é mais frio e onde a maturação da uva é mais demorada (Van Leeuwen et al 2006).

A grande variedade de microclima numa determinada zona de produção pode dever-se ao tipo de solo. No caso de solos mais secos e com mais pedra estes têm a capacidade de aquecer mais rapidamente ao contrário dos solos mais húmidos que podem levar a um amadurecimento mais precoce do fruto. Os solos que contribuem para um baixo vigor da videira pois podem ser pobres em disponibilidade de água ou nitrogénio leva a uma melhor penetração de luz. Por fim o microclima pode ser controlado com a ajuda de várias atividades e tratamentos da vinha que são realizados pelo produtor (Van Leeuwen et al 2006).

O solo é um dos elementos mais importantes para a produção de uvas e de qualquer fruto ou cereal. Quando os solos são ricos em nutrientes essenciais para o alimento da planta e se forem profundos então muito provavelmente poderão levar a um crescimento saudável da videira levando, conseqüentemente, à obtenção de bons frutos para a produção de excelentes vinhos. Esta questão poderá já não acontecer em solos mais pobres. O enraizamento e a temperatura radicular e a absorção de água são outros dos fatores que irão influenciar a produção de uvas (Van Leeuwen et al 2006).

O tipo de solo está relacionado com o tipo de rochas em que são desenvolvidos. Pelo que, existem várias zonas nas quais a qualidade dos vinhos está relacionada diretamente com a origem geológica do solo onde as videiras estão plantadas (Van Leeuwen et al 2006). De forma a poder ser estudada e entendido o efeito do solo na viticultura é necessário realizar-se uma abordagem agronómica entre o solo e a videira (Van Leeuwen et al 2006).

A disponibilização de nutrientes do solo para a videira o nitrogénio é o que mais influencia o crescimento e a produção da mesma. A absorção do nitrogénio por parte da videira varia de forma considerável de acordo com o conteúdo de matéria orgânica no solo, relação de carbono/nitrogénio na matéria orgânica, renovação de matéria orgânica (Van Leeuwen et al 2006).

A renovação da matéria orgânica no solo depende da humidade nele presente, do pH e da temperatura. Se existir muito calcário ativo esta renovação é feita mais lentamente. O nitrogénio pode ser considerado um elemento do terroir e depende muito de solo para solo. No caso da produção de vinhos brancos é importante que o fornecimento de nitrogénio à videira seja minimamente moderado de forma a conseguir-se obter um vinho de qualidade e para que não se perca o aroma do mesmo (Van Leeuwen et al 2006).

Na produção de uvas e vinho a quantidade de água necessária irá depender da precipitação, capacidade de retenção de água e área foliar. Relativamente à captação de água trata-se de um fator chave para poder ser compreendida a relação do Terroir com a qualidade das uvas. Uma vinha irrigada é uma vinha que irá obter uma maior produção de açúcares e fenóis nos seus frutos. O Terroir, por sua vez, pode ser afetado pela irrigação pois vai desequilibrar os restantes fatores que formam o Terroir (clima, solo e videira) (Van Leeuwen et al 2006).

A interação dos fatores água, nitrogénio e temperatura determina o efeito do solo no Terroir. O controlo da disponibilidade de nitrogénio no solo evita que o processo vegetativo seja exagerado, mas por outro lado tem de ser o suficiente para se conseguir produzir vinho de grande qualidade. Este controlo, segundo Van Leeuwen e Ressaygues, pode ser obtido se for

realizada uma sub-drenagem em solos muito argilosos, sendo estes mais húmidos, escolhendo adequadamente a casta a plantar ou o controlo da casta escolhida em zonas mais secas onde não há irrigação de videiras (White 2020). Segundo estes mesmos autores a expressão do Terroir torna-se mais evidente no momento em que a uva começa a amadurecer. O tempo de maturação é determinado pela temperatura do ar mas a temperatura do solo pode depender do tipo de material que constitui a superfície do solo, a inclinação e o aspeto do terreno. A relação entre água, solo e clima é diferente para todos em todos os locais onde há produção de uvas (White 2020).

As propriedades do solo irão interagir com outras propriedades ambientais circundantes essenciais ao crescimento e desenvolvimento da videira e, também, ao desenvolvimento do fruto. Estas interações vão depender do tipo de casta que é escolhida para plantar num determinado local com determinado tipo de solo (White, 2020).

Entretanto começaram a ser desenvolvidas técnicas mais avançadas que tornavam possível medir a quantidade de nutrientes e outros elementos não essenciais no solo. Relativamente ao processo de absorção da videira foram colocadas três questões essenciais para quantificar a relação videira-solo (Fig. 6)



Fig 6 – 3 Pontos essenciais para ser possível quantificar a relação videira-solo. Círculo 1-Biodisponibilidade de nutrientes (Site Voz do Campo); Círculo 2 – Processo de transporte de nutrientes na videira (Coutinho, Gigavo, revista online campo e negócios); Círculo 3- Variações de clima de ano para ano (site MFMAGAZINE),

O microbioma do solo é de extrema importância para a nutrição da planta e para a sua saúde. As diferenças existentes entre populações microbianas presentes nos mostos foram

associadas ao tipo de uva, a área geográfica onde a mesma foi produzida, clima e saúde da videira e da uva (van Leeuwen et al 2018). A diversidade e o número de microrganismos que têm capacidade de estabelecer um nicho ecológico no solo e na videira estão relacionados com a saúde das uvas e, também, com as características organolépticas de cada vinho. O controle do conhecimento da população microbiana existente num determinado solo e numa planta permite evitar futuros problemas na fermentação e aumento da acidez volátil (van Leeuwen et al 2018).

O factor microbiológico do Terroir contribui não só para a sua qualidade, mas também para as características organolépticas do vinho que é produzido. Como consequência haverá também diferenças a nível sensorial e a nível de exclusividade do vinho. Se existe algo que pode realmente distinguir uma vinha de outra é o seu microbioma (van Leeuwen et al 2018).



As presenças destes organismos nos órgãos vegetais e no solo que os rodeia, têm como principal função a nutrição da planta, proteção da mesma a nível de stresse, no seu crescimento, na produção de frutos e na resistência, ou seja, são os protetores da sua sobrevivência (van Leeuwen et al). O vinho emana o seu sabor e aromas através da produção de metabolitos, muitos deles derivados das uvas e outros modificados por alguns micróbios. A identificação destes organismos é fulcral para testar a forma como eles afetam o perfil sensorial dos vinhos (van Leeuwen et al 2018).

A produção tecnológica do vinho e a sua conservação também influenciam a expressão do Terroir, e torna o microbioma do solo uma componente também determinante para o conceito de Terroir (White 2020). Como já referido o Terroir é um conceito multifatorial. Por isso pode falar-se em Terroir microbiano que engloba toda a população microbiana num determinado local do solo. As videiras na sua rizosfera possuem uma população microbiana única e a partir daqui têm-se vindo a desenvolver vários estudos e pesquisas onde o interesse está no tipo de população de levedura já existente num determinado solo de um dado local, de uma dada planta. Isto permite perceber qual a influência destes mesmos microrganismos nos compostos que são sintetizados durante a fermentação das uvas no processo de vinificação.

Estes microrganismos podem também influenciar o vinho obtido a nível de aromas (White 2020).

A bioinformática permite aceder a bancos de dados de sequências de genes com as mais variadas combinações. Utilizando estas várias combinações é possível testar a capacidade metabólica de cada ser do microbioma de uma dada planta ou do solo que se pretende estudar e conseqüentemente qual o tipo de metabolitos que podem produzir (van Leeuwen et al 2018).

Na sociedade atual o vinho tem vindo a tornar-se um produto com elevado interesse, em particular os vinhos considerados autóctones, ou seja, com propriedades específicas, os quais são muito procurados a nível de colecionadores e entendedores de vinhos (van Leeuwen et al 2018). Na produção destes vinhos é necessário ter presente a influência de fatores físicos e biológicos onde se inclui o solo, a casta e a fauna existente no solo (van Leeuwen et al 2018).

Assim, atualmente é de extrema importancia marcar a distinção entre “vinhos de Terroir” e vinhos considerados de “marca”, uma vez que a designação **Vinho de Terroir** refere-se a um vinho feito com uvas que crescem num determinado local específico e que permanece o mesmo ao longo do tempo condicionando as características do “Terroir” graças às condições edafo-climáticas e às técnicas agronómicas aplicadas à videira. Pelo contrário os **Vinhos de Marca** são vinhos realizados com misturas de uvas de maiores áreas geográficas e de diferentes origens que podem comportar-se de forma diferente de ano após ano. Por sua vez estes vinhos apresentam características que se devem a processos enológicos e misturas (van Leeuwen et al 2006).

Numa tentativa de caracterização do “Terroir” de Borba, sub-regiões vitivinícolas do Alentejo, a Adega de Borba adota anualmente uma rotina na avaliação contínua das uvas que são entregues e depositadas pelos viticultores associados, a qual obriga a avaliação da uva por parâmetros qualitativos como o grau alcoólico provável (GAP) e a acidez total, esta avaliação determina o valor monetário da uva para pagamento ao viticultor (Gaspar et al 2013). Nesta avaliação inicial são analisados vários parâmetros que ditam se a uva é ou não de qualidade e se se enquadra ou não nos limites pedidos. Além disso, ao longo do ano todos os viticultores e as suas vinhas são acompanhados tecnicamente por técnicos da adega e da ATEVA (Associação Técnica de Viticultores do Alentejo) que ajudam em diversas vertentes, mas principalmente na avaliação da vinha e no tratamento contra as diferentes pragas que podem aparecer e diminuir a produção e crescimento das uvas. Como já foi escrito anteriormente o clima, o solo e a rega são fatores que podem vir a influenciar o Terroir pois são fatores que interagem entre si e nem sempre é fácil afirmar que o Terroir interage diretamente com a qualidade das uvas pois a mesma casta de uva pode desenvolver-se em diferentes tipos de solo. Por esta razão tem vindo

a realizar-se um estudo desde 2006 de forma a tentar perceber de que forma os diferentes tipos de solos que fazem parte da sub-região de Borba podem estar relacionados com a qualidade das uvas e por sua vez à qualidade dos vinhos. Com este estudo será também possível classificar os Terroirs da região (Gaspar et al 2013).

Para este estudo é necessária a recolha de elementos que irão ajudar na identificação de cada tipo de solo. Começou-se por recolher amostras de mosto, durante a campanha de vindima entre 2003 e 2012, diretamente do reboque onde o produtor transportou as uvas. Estes mostos foram canalizados para a respetiva cuba e foram filtrados através de um filtro de ar. Após este caminho o mosto foi analisado por FTIR permitindo a determinação de alguns parâmetros como o grau BRIX, acidez total (expressa em g ácido tartárico/L), pH, nitrogénio assimilável e ião potássio.

A segunda etapa deste estudo inclui a recolha de amostras de solo e folhas na campanha vitivinícola de 2012, cerca de 132 amostras de folhas e 126 amostras de solo das vinhas de diferentes produtores associados à Adega de Borba. Para facilitar a recolha da amostra identificaram-se e delimitaram-se as diferentes zonas onde havia diferenças entre idade da vinha, solo e casta. Como curiosidade a Adega de Borba utiliza um Sistema de Informação Geográfica que torna mais precisa a identificação da parcela que se pretende analisar e de onde se pretende tirar as diferentes amostras (Gaspar et al 2013).

Com este estudo realizado pela equipa técnica da Adega de Borba foi possível perceber que os solos de xisto são menos propícios a uma boa produção e têm uma menor capacidade de armazenar água. O contrário acontece com os solos argilo-calcários levam um maior período de tempo para obter açúcares por desidratação. Constatou-se que nos últimos 7 anos as vindimas de uvas vindas de vinhas em solos de xisto acontecem mais precocemente pois atingem o ponto ideal de maturação mais cedo (Gaspar et al 2013).

A análise estatística do resultado das amostras permitiu retirar algumas conclusões respeitantes à influência das características químicas dos solos, das plantas e do fruto. Relativamente aos solos foi possível observar que apenas existiram diferenças entre a Cal ativa, o K^+ disponível, e a quantidade de matéria orgânica em que os solos xistosos possuem menor teor desta (Gaspar et al 2013). Nas plantas foi possível identificar diferenças nalguns nutrientes como o K, B, Mn, Fe, Mg e Zn. Sendo estes nutrientes importantes para a videira, se houver carência dos mesmos, a influência sobre a planta será mais negativa que positiva a nível de qualidade do produto, devido à diminuição da taxa fotosintética (Gaspar et al 2013).

Na Sub-Região de Borba pode dizer-se que existem cerca de 4 Terroirs diferentes que permitem que as mais variadas castas de uvas obtenham características distintas e que sejam

obtidos vinhos únicos. Este estudo concluiu que o fator solo não será o que mais sobressai para as diferenças entre os vários parâmetros de qualidade da uva. Sendo assim é importante ter em consideração o ano de colheita, a disponibilidade de água, casta e condicionantes agronómicas. Os parâmetros qualitativos das uvas não são os suficientes para destacar os Terroirs nesta Sub-Região através da análise dos principais componentes (Gaspar et al 2013).

As uvas de cada produtor associado da adega (atualmente são cerca de 270 produtores), são guiadas e identificadas por um “Sistema de Identificação Geográfica”, ou seja, as uvas são recolhidas de parcelas homogéneas e incorporadas na rastreabilidade da adega. Com esta avaliação pretende-se uma contribuição para esclarecer o conceito de “Terroir”. O “Terroir” é definido como sendo um território com uma dimensão variável, definido pela associação da componente geológica, pedológica e paisagística, na qual a resposta da videira é considerada reprodutível para um dado clima” (Gaspar et al 2013).

1.3. Vinificação de Vinhos Brancos

O processo tecnológico do vinho começa, obviamente na **vindima**. Atualmente a maioria dos produtores de uva já realizam a vindima mecanicamente embora muitos lhe compense a colheita manual. Tanto a colheita mecânica como a manual têm as suas vantagens e desvantagens. Sendo que a colheita mecânica tem um maior impacto na videira e por isso hoje os produtores que fazem vindimas mecânicas têm videiras preparadas para receber a máquina. Não há tanta seleção pelo que para além de colher uvas colhe também mais folhas, mais pau, mas como vantagem apresenta um tempo inferior e esta é quase sempre feita durante a noite para que as uvas na cheguem à adega em bom estado fitossanitário. No caso da vindima manual é uma vindima mais demorada, embora haja mais cuidado na colheita dos cachos (das Neves, et al 2017).

O controlo analítico constitui uma das ferramentas mais importantes durante todo o processo da produção de vinho, no momento, em que, se obtém a matéria-prima, as uvas, e durante todo o processo de vinificação. As uvas são avaliadas relativamente ao seu estado sanitário, o nível de maturação, quantificação de acidez e açúcar, perfil aromático. Esta avaliação torna-se importante uma vez que vai influenciar o nível de qualidade do vinho que o produtor pretende produzir (Shevchuk 2019).

Após a colheita das uvas estas são **transportadas** para adega em condições devidamente adequadas. O processo de produção de vinho continua com a chegada da matéria-prima, a uva, à adega. A uva que chega é pesada e são retiradas amostras de vários pontos do reboque que

transporta a uva as quais são analisadas permitindo a classificação das uvas. Após a chegada à adega, as uvas são descarregadas em tanques ou tegões **esmagadores desengaçadores** e são devidamente selecionadas. Já existem adegas em que todo o processo de seleção de bagos é automático mas ainda existe quem faça esta seleção à mão. No caso da Adega de Borba esta já dispõe de um equipamento que permite a seleção dos bagos um a um por infravermelho permitindo escolher os bagos com as características pretendidas para um determinado perfil de vinho.

De seguida acontece o esmagamento da uva. O esmagamento da uva permite que a pele da uva se rompa (das Neves et al 2017).

A separação do bago da uva das partes lenhosas do cacho influencia muito a qualidade do vinho branco que vai ser produzido pois é das principais etapas onde há movimento mecânico da matéria-prima. Esta é uma etapa que deve ser realizada o mais rapidamente possível pois já irá haver alguma libertação de mosto e o mesmo já estará exposto à ação de agentes bacterianos e a possíveis oxidações. Este tipo de procedimento é feito assim que as uvas são descarregadas nos chamados tegões que têm um esmagador desengaçador em que a intensidade é controlada. A separação das uvas das partes lenhosas do cacho deve sempre ser realizada, caso contrário podem acontecer três processos indesejáveis: alteração na composição química do mosto; gostos amargos e herbáceos; grau de diluição do mosto devido ao baixo teor de açúcar; oxidação (das Neves et al 2017).

O processo de vinificação significa, de forma geral, a extração dos vários compostos das uvas que mais tarde irão dar origem a variados aromas, tem como objetivo extrair tudo o que de bom exista para a qualidade e aroma do vinho e retirar-se tudo o que seja indesejável, por exemplo, defeitos olfativos e gustativos (Garrido 2011). O vinho branco tem um processo de vinificação distinto do vinho tinto. No caso deste último a fermentação do mosto é feita juntamente com as massas e as grainhas das uvas, pelo contrário os vinhos brancos são produzidos apenas pela a fermentação do mosto (Garrido 2011).

Seguem, então, enumeradas as etapas de produção do vinho branco:

1. O desengace das uvas consiste em separar os bagos das uvas do cacho que os suporta. O facto de as uvas serem separadas do cacho facilita o processo de esmagamento (Vinhas 2015).
2. A prensagem dos bagos consiste na extração do mosto lágrima, neste caso, do mosto que existe nas massas da uva. Este processo é realizado por prensas que esmagam a uva retirando o mosto. No caso deste trabalho os mostos analisados tratavam-se de mosto lágrima. Na prensagem é utilizada uma força moderada para que se faça uma extração de forma suave.

No caso dos vinhos brancos este processo acontece antes da fermentação alcoólica. Aqui o mosto é sujeito a um arrefecimento para evitar a oxidação e para que a fermentação alcoólica não ocorra de imediato (Vinhas 2015). No final do dia obtem-se, então o mosto prensa, que é o mosto que se obtém a partir da prensagem de todos os bagos que passaram nas prensas nesse dia. Este mosto realiza também o processo de decantação e antes de passar para a cuba de fermentação passa pelo filtro de vácuo.

3. O esmagamento dos bagos consiste em extrair o mosto que existe nas uvas provocando, assim, o rompimento da película das uvas. O objetivo é conseguir obter um esmagamento para estalar o bago. Este processo provoca um arejamento do mosto e a colocação do açúcar da uva em contacto com as leveduras que se encontram na película das uvas (Vinhas 2015). Nesta fase é ainda adicionado o anidrido sulfuroso que irá proteger o mosto de possíveis oxidações e à competição com outras leveduras indígenas que existem na vinha. Este é também considerado um antisséptico. Se a quantidade deste não for controlado poderá influenciar a atividade das leveduras que foram adicionadas ao mosto levando à sua morte e à paragem da fermentação.
4. A decantação na produção de vinhos brancos acontece antes de o mosto ser trasfegado para as cubas onde irão realizar a fermentação. Este processo apresenta como vantagens a não dependência de uso de clarificantes. A decantação consiste em deixar sedimentar naturalmente as substâncias que turvam o mosto (Maçanita Wines, clube dos vinhos Portugueses)
5. A fermentação alcoólica. É nesta fase que são adicionadas leveduras do género *Sacharomyces*. O controlo da temperatura durante a fermentação é crucial para que não haja crescimento de outras populações microbianas (Rezende et al. Processo de fabricação de vinho.)
6. O processo de trasfega é realizado após a fermentação do mosto, ou seja, quando este já é vinho. Nesta fase o vinho é transferido das cubas de fermentação para os depósitos de armazenamento utilizando mangueiras e bombas para direcionar o vinho (Vinhas 2015).
7. A clarificação do vinho ou colagem consiste na adição aos vinhos de produtos clarificantes que formam pequenos flocos. A formação destes flocos e a consequente sedimentação arrastam consigo as partículas que turvam o vinho tornando-o mais límpido. Os produtos que permitem esta clarificação ou “colas” são proteínas e as que mais se usam são as gelatinas, albuminas ou caseínas. Quando se mistura um vinho branco com uma solução cola, com gelatina, por exemplo, esta solução passado algum tempo irá levar ao aparecimento de alguma turvação no vinho. Essa turvação deve-se à formação dos flocos

que captam as impurezas. Quanto mais impurezas captadas mais pesados os flocos irão ficar e assim inicia-se a sedimentação lentamente (Vinhas 2015).

8. A filtração do vinho faz-se passando o vinho por uma massa porosa para que o vinho se separe das impurezas presas aos flocos. Este processo facilita, assim, a clarificação e a estabilização e, também, a formação de depósitos e desenvolvimento de outros microrganismos malignos para o vinho (Vinhas 2015).
9. A estabilização do vinho tem como objetivo evitar a sua deteriorização e alterações na sua conservação. Trata-se de conseguir uma melhor cor e limpidez e, também, de conservar as características organoléticas do vinho (Vinhas 2015).
10. O embalamento do vinho seja em BIB (Bag-in-box) seja em garrafa é a última etapa para a conservação do vinho. Estes dois tipos de armazenamento permitem que o produto tenha uma boa apresentação à visão do público, um transporte mais fácil e também é a melhor forma de conservar este produto não alterando as suas qualidades gustativas (Vinhas 2015).
11. O engarrafamento dos vinhos é uma das fases que exige um maior controlo no seu decorrer porque é uma fase onde há mais manipulação do produto e onde existe um maior perigo de contaminação física através de resíduos de vidro nas garrafas (Vinhas 2015).

No caso da Adega de Borba existe uma sala de engarrafamento à qual chamam “sala limpa” onde o ar é constantemente filtrado e renovado de forma a impedir possíveis contaminações (Vinhas 2015). Esta sala possui três linhas de engarrafamento com 3 capacidades (3000 garrafas/hora, 6000 garrafas/hora e 9000 garrafas/hora). A adega possui também uma linha para encher bag-in-box (BIB) com uma capacidade para 400 BIB à hora dependendo do tamanho do saco (Vinhas 2015).

Tanto no enchimento das garrafas como do BIB é necessário a garantia de que não existiram quaisquer contaminações (Vinhas 2015).

Durante muitos anos, nas regiões vinícolas, fazia-se a fermentação do vinho apenas utilizando as leveduras indígenas que existem na película da uva que, quando em contacto com o oxigénio começam a sua atividade fermentativa. Mais recentemente houve a necessidade de criar métodos que possibilitam uma fermentação mais rápida e ao mesmo tempo eficiente de forma a obter vinhos de qualidade. Foi então que começaram a surgir as primeiras culturas artificiais de leveduras liofilizadas ativas das estirpes de *S. cerevisiae*, cuidadosamente seleccionadas, para serem adicionadas aos mostos (Moreno-Arribas et al 2005).

Na fase inicial da fermentação as leveduras indígenas ou selvagens como as do género *Bettomyces*, *Cândida* e *Cryptococcus* são as que contribuem para o avanço da fermentação. Ao

ser adicionada uma levedura *S. cerevisiae*, no início da fermentação, as leveduras que não são desta espécie começam a perder competitividade reduzindo a sua atividade e acabam por morrer ao não conseguirem competir com a *S. cerevisiae*. Esta última apresenta-se como uma levedura forte e resistente a ambientes anaeróbios e elevada concentração de etanol e açúcar tornando-se, assim, a levedura dominante (Moreno-Arribas et al 2005).

Vários autores têm vindo a direcionar a sua atenção para os fatores que podem levar a que as fermentações ocorram mais lentamente. A resistência das leveduras às condições dos meios que as rodeiam neste caso, fala-se do mosto, não varia apenas de acordo com a estirpe da levedura mas, também, com o género. Os fatores de vinificação como a temperatura de fermentação, pH e concentrações de açúcares bem como outros nutrientes e enzimas podem afetar o comportamento metabólico da levedura presentes no vinho, nomeadamente a cinética da reprodução celular (Moreno-Arribas et al 2005).

O pH é um fator muito marcante na fermentação ao controlar a população microbiana, logo tem efeito no desenvolvimento e multiplicação da levedura (Steckelberg 2001). O valor de pH ótimo para leveduras *Sacharomyces cerevisiae* esta entre 4 e 5. A um valor de pH superior, o metabolismo da levedura diminui e a sua ação será mais lenta. Podendo deslocar a produção de etanol a sua transformação em ácido acético e assim se observe um odor avinagrado (Steckelberg 2001).

Quando as concentrações de açúcares são mais elevadas no mosto, isto é, no início da fermentação, a levedura só pode metabolizar seguindo o caminho da fermentação. A transformação da glicose em etanol ocorre por um processo designado de glicólise que consiste na destruição da molécula de glicose que ocorre com a produção de piruvato que, posteriormente, dá origem a álcool e etanol, esta é a reação explicada de uma forma simples (Moreno-Arribas et al 2005).

Quando o mosto da uva é inoculado com *S. cerevisiae* o etanol não se forma logo instantaneamente. As condições do meio são anaeróbias e uma pequena fração dos açúcares do mosto, são transformados pela fermentação glicopirúvica, ou seja, em glicerol e piruvato (Moreno-Arribas et al 2005).

Durante a fermentação dos açúcares da uva a levedura, a partir do piruvato, produz uma baixa concentração de compostos voláteis que vão formar o chamado “Bouquê de fermentação” (Moreno-Arribas et al 2005).

A utilização de preparações enzimáticas comerciais para o processo de produção do vinho surgiu com a necessidade de conhecimento das atividades enzimáticas envolvidas na biotransformação do mosto em vinho e da natureza e estrutura das macromoléculas encontradas

nos mostos e nos vinhos. As preparações de enzimas que são formuladas em laboratório ajudam no processo de desenvolvimento natural da fermentação e dão uma ajuda extra às próprias atividades enzimáticas das leveduras. As utilizações destas preparações enzimáticas têm vindo a auxiliar no processo de **filtração e clarificação** do mosto (Moreno-Arribas et al 2005). As pectinases são um grupo de enzimas que hidrolisam compostos pectínicos tais como celulase e hemicelulase que fazem parte da parede celular da célula da uva e funcionam como aderentes entre as células ficando, assim, a parede celular mais consistente. Quando acontece a destruição das estruturas celulares (quando a uva é esmagada), há uma extração das substâncias que se encontram nas partes sólidas da uva principalmente na pele ou na polpa. São essas substâncias que os enzimas pectolíticos vão degradar tornando mais fácil o processo de extração e filtração do mosto e os processos de extração de compostos que podem afetar os aromas do vinho (Moreno-Arribas et al 2005).

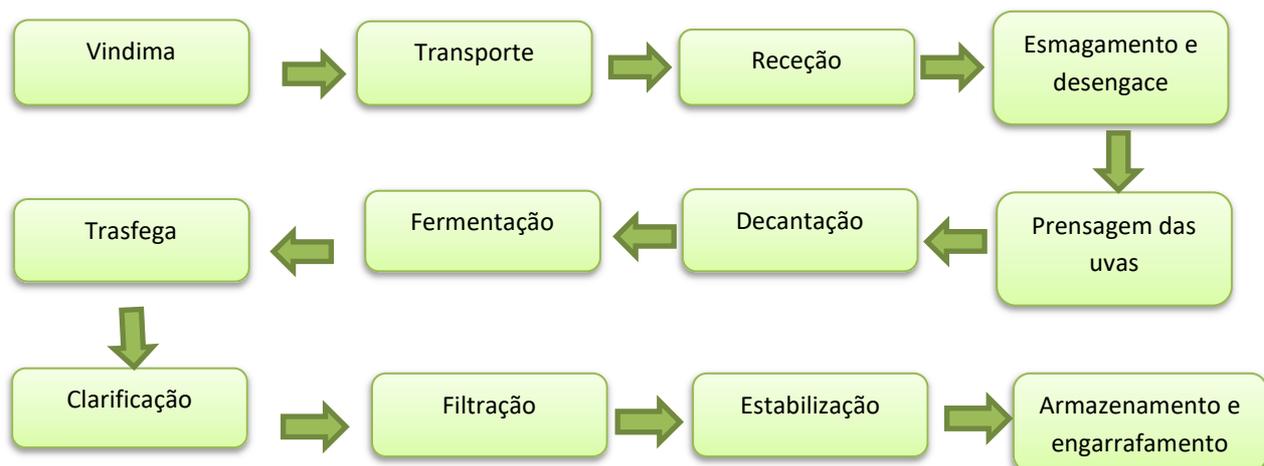


Fig 7 - Esquema dos passos do processo de vinificação de vinhos brancos

A perceção sensorial de um vinho resulta dos ácidos orgânicos e também da acidez total que o vinho apresenta. Um vinho muito ácido pode dizer-se que tem um sabor muito forte e um perfil mais definido. A concentração de ácidos orgânicos no mosto da uva é o principal elemento que ajuda o produtor e o técnico a determinar o estado de maturação da uva (Chidi et al 2018).

A transformação mais importante que ocorre no mosto da uva durante a vinificação é a fermentação alcoólica dos açúcares, principalmente das hexoses como a glicose e a frutose que resultam na produção de etanol e dióxido de carbono (Moreno-Arribas et al 2005, Chidi et al 2018). O processo da fermentação alcoólica, altera a acidez do vinho. Assim, durante o processo de vinificação pode recorrer-se à utilização de diferentes estirpes de leveduras industriais de

forma a conferir comportamentos diferentes levando à obtenção de vinhos diferentes (Chidi et al 2018).

Relativamente aos ácidos orgânicos é importante ter presente que diferentes ácidos orgânicos vão dar origem a diferentes características organoléticas. Por isso a formação de ácidos orgânicos não está apenas ligada à acidez total do vinho e ao pH (Chidi et al 2018). No processo de vinificação há produção de outros ácidos como o málico, o cítrico e tartárico sendo que estes são os ácidos primários nas uvas. Estes também contribuem de forma ativa para a futura acidez do vinho no final do processo. Durante a fermentação alcoólica há também a formação de outros ácidos orgânicos, o ácido succínico, o ácido láctico, pirúvico e acético os quais apresentam importância relevante no futuro perfil do vinho e são nomeadamente responsáveis pelos seus sabores mais frescos (Chidi et al 2018).

Ao longo do amadurecimento da uva a quantidade de açúcar no fruto vai aumentando diminuindo a sua acidez. A sub-região vitivinícola de Borba é uma zona quente durante o período de verão, pelo que as uvas apresentam uma maturação muito mais rápida comparativamente com regiões mais frias. No vinho branco os valores mais baixos de acidez devem-se principalmente à polimerização dos compostos fenólicos que levam à precipitação de pequenas partículas acastanhadas dando uma cor mais escura ao vinho branco, Fig 8.



Fig 8- Uva Branca Madura Fonte: Site Clube dos vinhos Portugueses

Um dos métodos mais utilizado para equilibrar a acidez do vinho é o recurso à população microbiológica. Neste processo a complexidade organolética pode ser comprometida pela deteriorização da uva e deficiente controlo da fermentação levando a alterações indesejáveis no vinho como aromas indesejados e oxidações (Chidi et al 2018).

As leveduras são classificadas como microrganismos eucarióticos e pertencem à classe dos fungos. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais utilizada como modelo eucarionte em investigação, e ganha, cada vez mais aplicações a nível da bioquímica, biotecnologia e na indústria alimentar, produção de alimentos e bebidas fermentadas, bem como na indústria dos biocombustíveis. Essa importância deve-se não só ao fato de serem organismos

que apresentam elevada resistência a condições ambientais adversas, mas principalmente ao seu metabolismo energético respiratório fermentativo alternativo (Steckelberg 2001).

Assim, a transformação de açúcares em moléculas de menor dimensão devido à ação das leveduras ocorre no citoplasma pela via da glicólise, durante a qual uma molécula de glicose é convertida em duas moléculas de ácido pirúvico. Esta molécula pode ser transportada para o interior do mitocondrio onde ocorre o ciclo de Krebs e cadeia respiratória permitindo a sua oxidação com disponibilização de energia e libertação de dióxido de carbono e H₂O, dependente de oxigénio, completando a via respiratória (Steckelberg 2001). Mas, simultaneamente o ácido pirúvico pode permanecer no citoplasma e entrar na via da fermentação alcoólica, sem a intervenção de oxigénio, que permite a rápida libertação de etanol e H₂O, a partir do ácido pirúvico, pela ação dos enzimas piruvato-descarboxilase e álcool-desidrogenase atuam mais rapidamente produzindo (Steckelberg 2001) Fig 9.

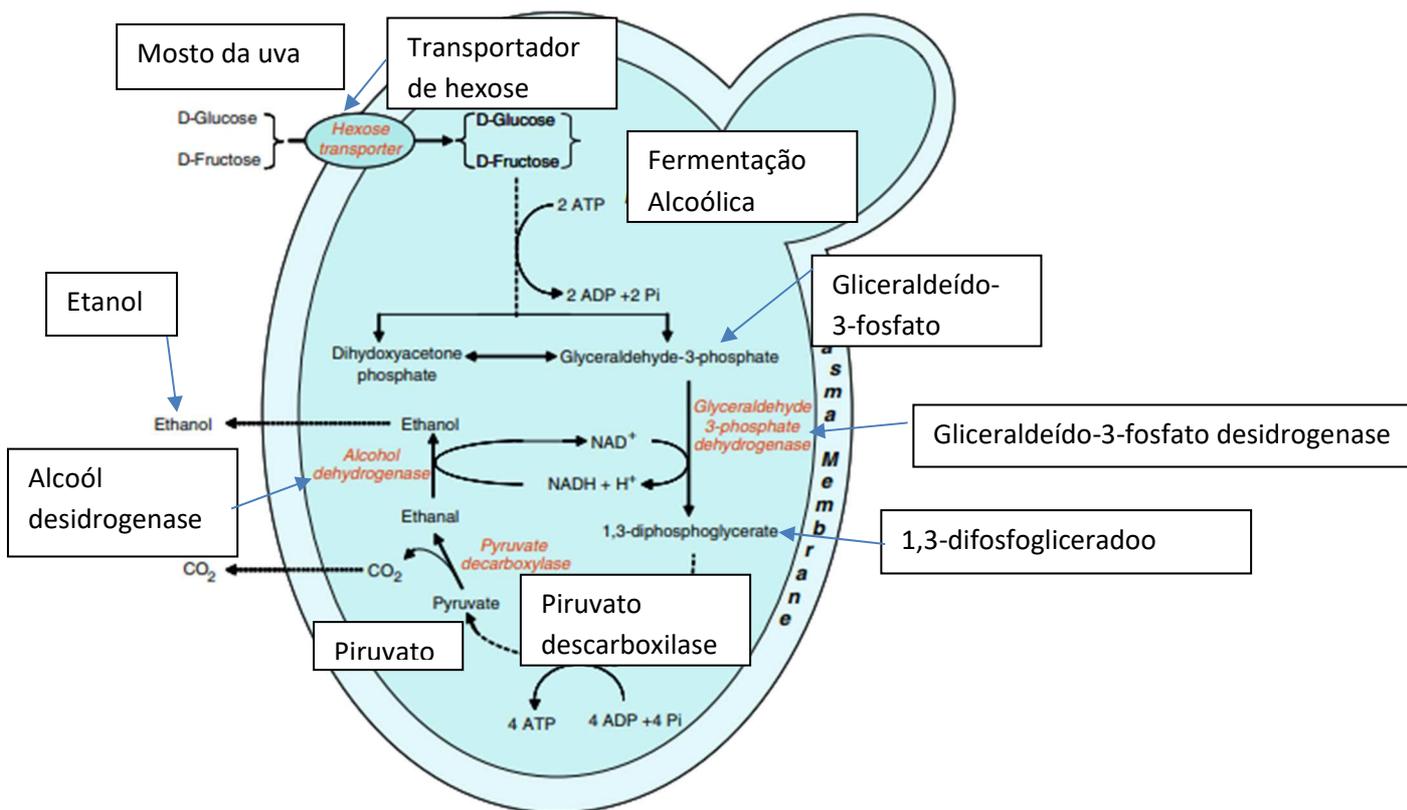


Fig 9 – Via Metabólica da fermentação alcoólica. Via metabólica através da qual é possível transformar a glicose em etanol. (Zamora 2009)

O metabolismo Crabtree deste microrganismo permite que mesmo em condições anaeróbicas não necessita de utilizar as suas reservas respiratórias para iniciar o processo de

metabolização dos açúcares e para promover a produção de biomassa podendo adoptar o metabolismo fermentativo (Fig 10).

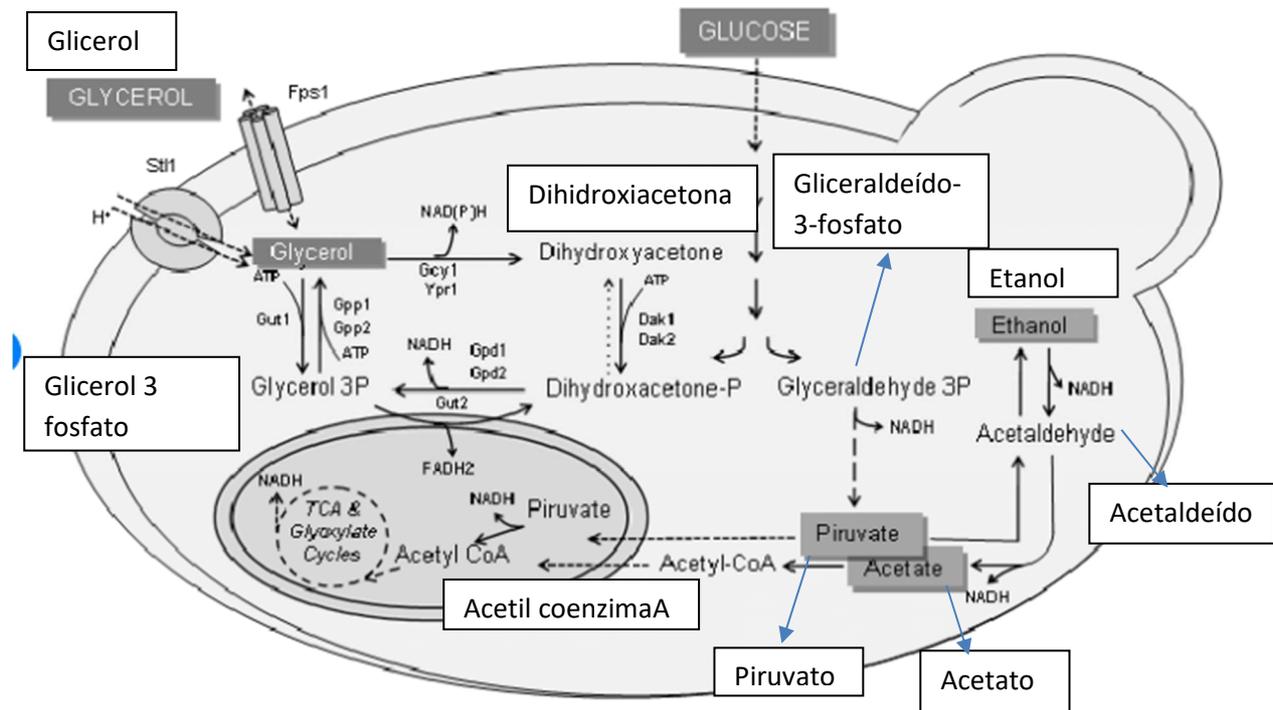


Fig10 – Metabolismo Crabtree. Via metabólica nas leveduras que permite que estas consigam sobreviver tanto em ambientes aeróbios como anaeróbios sem que recorram a mais energia.

Outras das vantagens da utilização desta espécie de levedura é o facto de ela conseguir ir acumulando álcool, que para outras espécies bacterianas poderá ser tóxico, e no caso da *S. cerevisiae* leva-a a conseguir competir por mais açúcares eliminando outros seres microbianos. O álcool leva-a a intensificar o seu crescimento e multiplicação (Parapouli et al 2020).

Na área da investigação este tipo de leveduras destaca-se de muitos outros pelo facto de ser um microrganismo extremamente resistente a grandes concentrações de açúcar e por conseguir levar à produção de compostos aromáticos e voláteis que vão ser determinantes para a obtenção de diferentes perfis de vinho (Parapouli et al 2020).

À medida que a fermentação vai acontecendo as condições de stresse para estes seres unicelulares vão aumentando pois com a produção de CO₂ o ambiente vai ficando cada vez mais anaeróbio e começa o esgotamento das reservas de nutrientes tais como o azoto, lípidos e vitaminas. Na produção de vinho é muito importante que se faça uma boa escolha da estirpe de *S. cerevisiae*, pois essa decisão poderá influenciar a produção de metabolitos que irão determinar as características organolépticas do vinho. São os considerados ácidos superiores o grupo mais importante de compostos que esta levedura produz. A biossíntese destes álcoois é obtida a partir do catabolismo de aminoácidos através da via de Ehrlich, Fig 11.

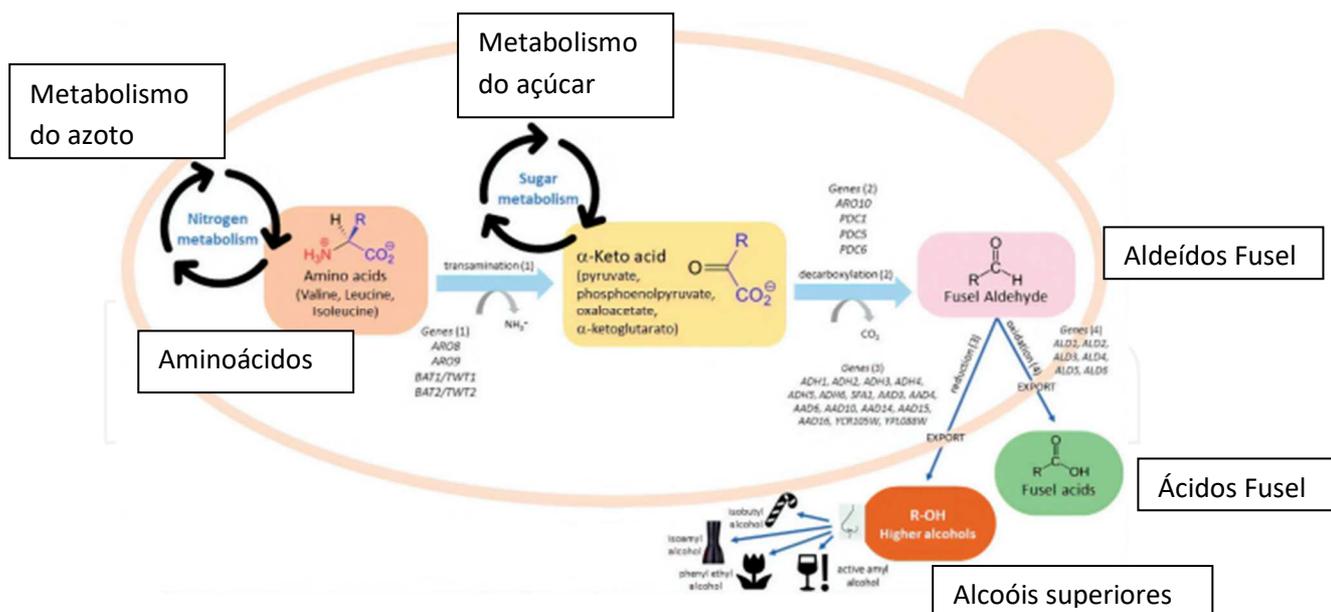


Fig 11-Via de Erilich na formação de álcoois superiores. Via metabólica através da qual as leveduras conseguem obter aromas mais frutados a partir de álcoois superiores e aromas mais florais a partir de ésteres.(Godoy, L., Acuña-Fontecilla, A., & Catrileo, D. (2020ref na lista))

As transaminases, codificadas pelos genes ARO8, ARO9, BAT1 E BAT2, catalizam a desaminação dos aminoácidos com formação de alfa – cetoácidos, os quais são convertidos em aldeídos correspondentes pela ação de descarboxilases (Parapouli et al 2020). Os enzimas álcool desidrogenase, Adh1p, Adh6p e suf1p, vão catalisar a redução de aldeídos nos seus álcoois superiores correspondentes. A biossíntese de ésteres também é desejável, uma vez que estes compostos contribuem para a formação de aromas mais frutados e florais. A levedura *S. cerevisiae* além dos ésteres de acetato de álcoois superiores, produz também os ésteres etílicos de ácidos gordos de cadeia média, conhecidos como ésteres aroma, como o acetato de etilo (aroma a verniz), o acetato de isoamilo (banana e pêra), acetato de isobutilo (banana, acetato de feniltita, rosa, mel, frutado, floral) e o hexonoato de etilo (maçã, banana, violetas) (Parapouli et al 2020).

A ação das leveduras e do seu metabolismo e a quantidade de álcool produzido depende também, obviamente, da quantidade de açúcar que está disponível. As leveduras para realizarem normalmente o processo de fermentação precisam de ser “alimentadas” e nutridas. Por isso os nutrientes enológicos e enzimas adicionadas ao mosto e a temperatura a que são adicionados são dois fatores bastante importantes que influenciam o processo de fermentação (Rollero et al 2015).

. Para além de estarem diretamente ligados à fermentação eles afetam algumas particularidades do metabolismo da levedura principalmente os que se relacionam com a formação de compostos voláteis que são os principais responsáveis pelas características organoléticas do produto acabado, o vinho. O enólogo pode ainda, durante a vinificação adicionar ao vinho antioxidantes como dióxido de enxofre, conhecido como sulfuroso. O processo de fermentação pode ocorrer apenas com a ajuda da microflora indígena da uva que se encontra na película da uva ou então com a adição de outras culturas e fermentos enológicos (Rollero et al 2015).

2. Problemática e objetivos

2.1. Problemática

A Adega de Borba foi fundada em 1955. Sendo uma cooperativa a mesma iniciou a sua atividade com um pequeno grupo produtores associados uma vez que na altura a produção de vinha e, conseqüentemente, vinho era uma atividade muito pouco valorizada ao contrário dos cereais que eram bem mais valorizados. O descontentamento por parte dos produtores fez com que se unissem e lutassem por conseguir um local para poder escoar o seu produto e terem rendimentos com ele. Hoje em dia a Adega de Borba é referenciada como uma das maiores do país e tem vindo a crescer ao longo dos tempos. Atualmente pode contar com cerca de 270 produtores associados que depositam a sua uva na Adega de Borba. O conjunto de todos os produtores associados forma uma área de aproximadamente 2200 hectares.

A Adega de Borba atualmente apresenta dois edifícios distintos. O edifício principal onde são produzidos vinhos brancos e vinhos tintos, onde se pode encontrar a área de engarrafamento (numa sala limpa onde o ar é constantemente filtrado e renovado para que não haja contaminação do produto), a área de rotulagem e formação de paletes, e a linha de bag-in-box.

A adega mais recente é uma adega que apresenta 2 edifícios. O edifício de armazenamento de produto acabado com uma capacidade para 7500 paletes e o segundo edifício que incorpora a sala de barricas, depósitos de inox e área de fermentação de tintos onde existem 2 tipos de cubas de fermentação. As cubas Ganimed e as cubas Delastage. Neste edifício encontra-se também a sala de barricas onde estagiam os vinhos aptos a incorporar garrafeiras, grandes reservas e reservas.

Este trabalho surgiu no âmbito da vindima e na produção de vinhos brancos durante a campanha vitivinícola de 2020 na Adega de Borba. Como já referido anteriormente a produção

de vinho branco é um processo mais complexo que a produção de vinho tinto. Quando as uvas são descarregadas no tégão são desengaçadas e esmagadas e seguem diretamente para a prensa onde é extraído um primeiro mosto. O mosto passa seguidamente para as cubas de decantação, de forma, a que o mosto fique mais limpo e menos turvo. Apenas a seguir da decantação é que o mosto da uva branca segue para as cubas de fermentação onde chega a ficar mais ou menos 10-15 dias sendo que a sua densidade é controlada diariamente todas as manhãs.

Foi-me proposto realizar um estudo sobre a atividade e comportamento fermentativo de diferentes leveduras numa mesma casta branca que neste caso foi o Arinto.

Na campanha vitivinícola de 2020 na Adega de Borba foi-me proposto a realização de um estudo sobre que diferenças poderiam existir na fermentação de mostos de casta Arinto utilizando diferentes leveduras de arranque de fermentação.

Foram então escolhidas 6 cubas de mosto Arinto, cuba 62B, 66B, 68B, 69B, 72B e 78B. Todas estas cubas foram monitorizadas todos os dias no que diz respeito ao controlo de cinética de fermentação, foram realizadas análises ao mosto numa primeira fase antes de a cuba ser tratada e análises no final da fermentação, utilizando o equipamento winescan, quando já se trata de vinho.

Todas as leveduras liofilizadas utilizadas, QA23, Q CITRUS, PERLAGE, Revelation Thiols, Sensy são estirpes de *Sacharomyces cerevisiae*, a levedura que mais se usa na produção de vinho.

2.2. Objetivo Geral

Caracterização da fermentação de distintos mostos e vinho novo da casta branca Arinto intervencionados com diferentes leveduras.

2.3. Objetivos específicos

Verificação de diferenças entre diferentes cubas de mostos brancos a nível de análises principais de mostos para fermentação e análise de açúcares.

3. Metodologia

3.1 Estratégia

A concretização dos objectivos traçados para este trabalho obedeceu ao plano:

Local de Realização: Adega de Borba, durante a campanha vitivinícola de 2020
Laboratório de Bioquímica Analítica, Fase III do Colégio Luís António Verney, Universidade de Évora.

Duração: 1 ano letivo

Modelos Biológicos:

Castas Estudadas:

Arinto

Leveduras utilizadas nos mostos brancos estudados:

- QA23 – Esta foi uma levedura selecionada em regiões de vinho verde em Portugal. Tem como principal vantagem a segurança fermentativa necessitando de baixas quantidades de azoto assimilável. A escolha desta levedura leva à obtenção de vinhos com aromas mais cítricos (como o limão e a toranja). Esta levedura seca designa-se de *Saccharomyces cerevisiae bayanus* (https://www.proenol.com/web/files/fichas/FT0067-07_QA23_PT.pdf?PDF)
- QCitrus – é uma levedura que deve ser utilizada para a obtenção de vinhos com uma grande expressão aromática. Obtêm-se, nos vinhos, aromas mais frutados e florais. Esta levedura é capaz de produzir aromas mais citrinos, com notas a toranja, frutos tropicais e flores quando fermentada a temperaturas um pouca mais baixas. Quando a fermentação se dá entre os 16º e os 20º leva à obtenção de aromas com notas a pêssego e pêra (<https://www.enartis.com/pt/produtos/vinho-pt-pt/leveduras/leveduras-secas-ativas/enartisferm-q-citrus/>).
- Revelation Thiols – Esta levedura é específica para vinhos brancos e rosés que se baseiam na expressão dos tióis varietais que são compostos aromáticos que se encarregam de notas aromáticas características das castas sauvignon blanc. Esta levedura contribui de forma expressiva para a obtenção de aromas mais citrinos e frutados bloqueando as notas mais florais (<https://ioc.eu.com/wp->

[content/uploads/documents/ioc/ft/FT%20LEVURE%20IOOC%20REVELATION%20THIOLS%20\(EN\).pdf](https://www.enartis.com/pt/uploads/documents/ioc/ft/FT%20LEVURE%20IOOC%20REVELATION%20THIOLS%20(EN).pdf).

- Perlage - Esta é uma levedura que foi selecionada para utilização na produção de vinhos espumantes. Obtêm-se vinhos com uma grande firmeza aromática permitindo que as características da casta e do Terroir se expressem. Dá origem a vinhos límpidos e elegantes. Na fase da autólise permite a libertação de uma quantidade de manoproteínas e polissacáridos conferindo volume e estabilidade ao vinho (<https://www.enartis.com/pt/producos/vinho-pt-pt/leveduras/leveduras-secas-ativas/enartisferm-perlage-d-o-c-g/>).
- Sensy – A levedura Sensy é uma levedura seca ativa que foi cruzada com leveduras indígenas e que produzem níveis mais baixos de compostos sulfurados. Foi selecionada pela sua capacidade reduzida de produzir H₂S e SO₂ e, também, de conferir segurança em completar de forma segura a fermentação alcoólica e na libertação dos aromas varietais. Esta é uma boa levedura para ser utilizada na produção de vinhos brancos uma vez que o H₂S leva a obtenção de aromas indesejáveis no vinho e esta levedura tem a vantagem de o produzir em pequenas quantidades. O facto de também produzir baixas quantidades de acetaldeído permite a estabilização da maior parte dos vinhos com quantidade moderadas de SO₂. Tem assim todas as características necessárias para que a fermentação de um vinho branco ocorra sem problemas (https://www.proenol.com/web/files/fichas/FT0590-01_Sensy_PT.pdf?PDF)

Ensaio:

CUBA	CASTA	LEVEDURA
62	Arinto	QA23
66	Arinto	QA23
68	Arinto	QCITRUS
69	Arinto	Revelation Thiols
72	Arinto	Sensy
78	Arinto	Perlage

Fig 12-Cubas com mosto de casta Arinto e as respetivas estirpes de *S.cerevisae* utilizadas em cada uma.

Parâmetros a analisar:

- pH;
- Acidez Total;
- Determinação da concentração de Anidrido Sulfuroso Livre;

- Densidade;
- Temperatura;
- Turbidez (NTU);
- Açúcares redutores

Pelo Winescan (FTIR), análises finais aos vinhos obtidos:

- pH;
- Acidez Total;
- Ácidos Redutores;
- Densidade;
- Extrato Seco;
- Intensidade de cor;
- Índice de Polifenóis Totais;
- Ácido málico;
- Acidez Volátil;
- Teor Alcoólico;

3.2 Procedimento experimental

3.2.1. Monitorização de mostos de uvas brancas

A monitorização dos mostos consiste na criação de uma rotina em que são tiradas pequenas amostras de mosto de cada cuba diariamente. Com a amostra retirada e utilizando o densímetro retira-se um pouco de amostra e regista-se a densidade do mosto e a temperatura a que se encontra nesse dia e a essa hora Fig.17. Toda esta informação sobre as densidades e temperaturas do mosto registam-se, posteriormente num programa informático designado de Vinigest e automaticamente o gráfico da cinética de fermentação vai atualizando.

Para ajudar na monitorização de cada cuba utiliza-se também um programa informático. Este programa possibilita a que o técnico ou o trabalhador consiga perceber se a cuba se encontra à temperatura desejada ou não. Este programa emite, também, alertas de atenção quando algo de errado se passa na cuba com determinado mosto e, assim, é possível atuar-se a tempo para que nada leve à paragem da fermentação do mosto.

Quando o mosto das cubas de decantação é trasfegado para as cubas de fermentação é realizada uma primeira análise completa do mosto. A primeira data de cinética de fermentação corresponde ao 1º dia em que se leu a densidade da cuba. As análises completas da uva dos

mostos brancos foram realizadas no 1º dia em que o mosto foi para a cuba de fermentação. Esta amostra vem devidamente identificada com o número da cuba de onde foi retirada, se é de fermentação ou decantação e quantos litros foram cheios nessa cuba. A análise completa inclui a análise dos parâmetros descritos na secção 3.2.2.

3.2.2. Análise química sumária de mostos brancos

3.2.2.1. Densidade e Temperatura

Estes dois parâmetros foram determinados em simultâneo utilizando um densímetro. A densidade e a temperatura são dois parâmetros importantes para acompanhar a cinética de fermentação dos mostos uma vez que a temperatura é um dos fatores que mais contribui para a atividade das leveduras pois se a temperatura não for controlada pode levar à paragem da fermentação. A temperatura é constantemente controlada automaticamente durante todo o tempo que o mosto permanece na cuba, havendo alarmes de aviso quando algo não está normal e, assim, ser possível intervir atempadamente.

3.2.2.2. pH

O princípio desta determinação baseia-se na diferença de potencial de dois eléctrodos imersos no líquido em análise. Um dos eléctrodos tem um potencial que é função do pH do líquido enquanto o outro tem um potencial fixo que serve de referência (Curvelo-Garcia 1988).

Considera-se que a componente ácida que define as características ácidas dos mostos a vinificar (Curvelo-Garcia 1988). É a partir deste fator que a constituição ácida dos mostos vai enquadrar as características da fermentação alcoólica que a acidez dos mostos e dos vinhos irá desempenhar o seu papel nas definições das condições determinantes ou inibidoras de oxidações, quer enzimáticas quer químicas (Curvelo-Garcia 1988).

O pH é um fator decisivo no controlo do crescimento e desenvolvimento das leveduras. Segundo Curvelo-Garcia (1988), tem-se vindo a considerar que as bactérias têm um crescimento classificado como “bom” na gama dos 3-3,8 de pH.

O limite inferior de pH situa-se dentro dos 3,0. Este pH limite vai depender, claro, das condições e da composição do meio. Uma diminuição no pH leva a obtenção de uma fraca satisfação a nível nutritivo das bactérias lácticas, assim como, ao aumento da sua sensibilidade ao álcool e sulfuroso (Curvelo-Garcia 1988).

É um fator igualmente importante para o controlo de crescimento de bactérias acéticas (pH=3,0 definido como limite para o crescimento destas bactérias) que é relativamente rápido a partir dos 3,2 de pH (Curvelo-Garcia 1988).

O fator pH encontra-se interligado com a toxicidade do álcool. As bactérias acéticas não se conseguem multiplicar quando existe um determinado teor de álcool (Curvelo-Garcia 1988).

Nesta experiência o pH foi medido utilizando um potenciômetro de pH portátil, Fig. 13.



Fig 13. Potenciômetro de pH (fotografia do autor)

3.2.2.3. Acidez total

A acidez total é a soma dos ácidos tituláveis quando se leva o vinho a pH 7 por adição de uma solução alcalina titulável. O princípio do método consiste na adição de uma solução padronizada de hidróxido de sódio ao vinho, ao qual se juntou previamente o corante azul de bromotimol, até ao ponto de viragem de amarelo para verde azulado (OIV, 2009).

Nesta experiência utilizaram-se 10 ml de mosto branco adicionando 3 a 4 gotas de indicador azul bromotimol e realizando a titulação utilizando hidróxido de sódio.



Fig. 14. Determinação da acidez total (fotografia do autor)

3.2.2.4. Anidrido sulfuroso livre

O anidrido sulfuroso livre é determinado através de uma titulação directa pelo iodo. Relativamente à forma combinada, primeiro, procede-se à sua transformação para livre por meio de um alcali e posteriormente, doseia-se a quantidade libertada por oxidação pelo iodo. O anidrido sulfuroso total resulta do somatório das duas formas supracitadas (OIV, 2009).

O dióxido de enxofre é conhecido como um ótimo antioxidante e antisséptico no mundo da vinificação e é o mais recomendado pela OMS (Organização Mundial de Saúde) e OIV (Curvelo-Garcia 1988).

Na atividade enzimática dos vinhos o dióxido de enxofre também representa uma função. A oxidação dos mostos e do vinho deve-se principalmente a enzimas oxidases como as oxidoreduções conhecidas por terem o cobre ligado à molécula. Dentro destas enzimas podem destacar-se as tiranases e as lacases. No caso da lacase considera-se extremamente estável e muito resistente à presença de SO₂ (Curvelo-Garcia 1988).

A ação do sulfuroso sobre estas oxidases não é sempre completa podendo, então, inibir a sua atividade mas mais tarde pode reaparecer se a fração livre de SO₂ desaparecer (Curvelo-Garcia 1988).

O dióxido de enxofre pode ativar ou inativar enzimas. No caso de ativação de enzimas podem destacar-se as proteases das uvas que são ativadas por fracas concentrações de SO₂. A nível de enzimas usadas na vinificação não é notável qualquer efeito (Curvelo-Garcia 1988).

Este composto possui uma atividade antimicrobiana quando é dissolvido em água. Apresenta uma forte atividade antisséptica sobre as bactérias que são responsáveis pela fermentação malolática e por outras doenças provocadas por bactérias nos vinhos como *Pediococcus* e *Lactobacillus*. É também eficaz contra o desenvolvimento de bactérias acéticas como as *Acetobacter* (Curvelo-Garcia 1988).

Para a análise do anidrido sulfuroso livre foi utilizado um método iodométrico. Na elaboração deste método foi utilizado um aparelho que permite a que seja feita uma titulação de forma automática do H₂SO₃ pelo iodo. É gerada uma diferença de potencial necessária à dissociação do iodo e que é aplicada a um par de eléctrodos de platina imersos na amostra, Fig 15. No final da reação de oxidação o iodo que se encontra em excesso é dissociado criando-se uma corrente eléctrica que comanda uma electroválvula inserida na bureta da solução de iodo. Logo que a reação de oxidação se complete a adição de iodo é interrompida (Curvelo-Garcia 1988).



Fig 15. Ilustração da determinação do sulfuroso (fotografia do autor)

3.2.2.5. Turbidez

A turbidez de um mosto é provocada pelas borras das uvas que incorporam (películas, grainhas, restos de substâncias pécnicas, proteínas e outras substâncias coloides). A quantidade de borras de um mosto irá depender da consistência das bagas e do esmagamento que é feito no tegão e na prensa. Se o esmagamento e a prensagem dos bagos for de forma suave a quantidade de borras irá ser menor e a turbidez será menor também. Para que o mosto se torne menos turvo antes de ir para a cuba de fermentação, há que passar por um processo de decantação ou clarificação.

Para analisar este parâmetro foi utilizado um turbidímetro portátil 2100P, Fig. 16.



Fig 16. Turbidímetro (fotografia do autor)

3.2.2.6. Açúcares redutores

De acordo com a norma portuguesa 2223, entende-se por açúcares redutores o conjunto de açúcares com função aldeídica e cetónica que lhes confere poder redutor sobre uma solução cupro – alcalina.

A sua determinação consiste na defecação do vinho (quando necessária) e de seguida redução da solução cupro – alcalina e titulação do excesso de iões cúpricos por iodometria.

O teor em glúcidos redutores foi determinado recorrendo ao método conhecido como DNS (Miller, 1959), o qual permite a sua quantificação pela detecção da presença do grupo carbonilo. Este processo, em condições alcalinas, envolve a oxidação do grupo carbonilo (C=O) do glúcido, e simultaneamente a redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) a ácido 3-amino,5-nitrosalicílico, um produto castanho avermelhado, com absorção máxima a 540 nm (Bittman 1974).

A mistura de reacção constituída pelo padrão ou a amostra, água bidestilada e reagente de DNS, na proporção de 1:1:2. foi aquecida em banho de água em ebulição durante rigorosamente 5 min e imediatamente arrefecida à temperatura ambiente. A leitura da absorvência dos padrões e das amostras foi realizada a 540 nm.

A concentração de glúcidos redutores nas amostras foi determinada por interpolação na curva padrão de glucose construída, num intervalo de concentração de 0-2 mg/mL.

As 3 fases analisadas correspondiam à evolução da fermentação alcoólica. Na primeira fase o mosto apresentava-se com a maior parte dos açúcares e correspondiam ao momento em que cada cuba foi cheia com mostos de Arinto provenientes das vinhas dos produtores associados da Adega de Borba. A segunda fase corresponde ao momento em que o mosto começa a “desdobrar”, isto é, quando as leveduras estão na sua atividade máxima e onde a maior parte dos açúcares começam a ser transformados. A 3ª fase corresponde ao momento final da fermentação em que o açúcar do mosto está transformado em álcool deixando de haver atividade das leveduras pois quanto mais álcool existe no ambiente menos, tolerantes elas ficam à sua presença.

3.2.2.7. Teor alcoólico

O método baseia-se no pressuposto de que o vinho tem uma temperatura de ebulição inferior à da água que está relacionada com o seu teor em álcool. Através da diferença da temperatura de ebulição da água e do vinho, nas mesmas condições, pode-se calcular o teor alcoólico do vinho (Curvelo-Garcia 1988).

Este parâmetro foi analisado no equipamento Winescan, sendo este um equipamento que permite a realização da análise completa dos parâmetros físico químicos do vinho utilizando apenas uma pequena amostra de vinho. O Winescan funciona por FTIR.

3.2.2.8. Intensidade de Cor

Este parâmetro foi analisado no equipamento Winescan. É a fração de compostos fenólicos que tem importância para a maior parte da cor do mosto (Gaspar 2018).

3.2.2.9. Índice de Polifenóis Totais

Este parâmetro foi também analisado por Winescan. É a fração dos compostos não fenólicos que tem mais interferência na análise deste parâmetro (Gaspar 2018).

3.2.3. Acidez volátil

A acidez volátil é constituída por uma parte dos ácidos gordos pertencentes à série acética que se encontra em vinhos, tanto no estado livre como no estado de sal. Esta análise consiste num arrastamento, por corrente de vapor, dos ácidos voláteis de um vinho isento de CO₂ e a sua titulação no destilado com hidróxido de sódio (OIV, 2009).

Este parâmetro foi analisado no equipamento Winescan.

3.2.3.1. Extrato Seco (E.S.T)

Segundo a OIV designa-se de extrato seco total de um vinho o conjunto de substâncias que não chegam a volatilizar (Curvelo-Garcia 1988).

O extrato seco total dos vinhos desde há muito tempo tem sido considerado um dos parâmetros que mais se relacionam com a qualidade (Curvelo-Garcia 1988).

Devem ter-se em consideração alguns aspetos importantes relacionados com a apreciação qualitativa dos vinhos com base no extrato seco. Durante o processo de conservação dos vinhos o teor de extrato seco está sujeito a algumas alterações devidas a fenómenos químicos, físicos e biológicos. Um aumento derivado das perdas de etanol e água e uma diminuição resultante das precipitações diversas de constituintes do extrato, bem como de ações de teor biológico originando açúcares residuais e ácidos fixos (Curvelo-Garcia 1988).

A análise de extrato seco foi realizada no equipamento Winescan

3.2.3.2 Ácido Málico

O ácido málico é um ácido que se encontra facilmente no reino vegetal (Curvelo-Garcia 1988).

Durante a fase de maturação das uvas, a diminuição do teor de ácido málico, devido essencialmente a fenómenos de respiração celular que é ainda mais acentuada que a verificada para o ácido tartárico (Curvelo-Garcia 1988).

A desacidificação dos vinhos e a alteração das suas características organoléticas ácidas resultantes da fermentação láctica que confere ao ácido málico a grande importância que ele tem a nível da qualidade (Curvelo-Garcia 1988).

A evolução do teor de ácido málico, desde o momento, em que, as uvas começam a maturar, até ao envelhecimento do vinho é caracterizada por fenómenos químicos e bioquímicos. A diminuição de ácido málico principalmente numa primeira fase verifica-se durante a maturação das uvas. Por outro lado pode também sofrer outra diminuição durante a fermentação alcoólica (Curvelo-Garcia 1988).

O ácido tartárico segundo (Curvelo-Garcia 1988) é considerado o ácido “específico das uvas” e ao contrário do ácido málico a sua presença no reino vegetal é rara. É considerado o mais importante ácido dos vinhos pelos teores em que se encontra e pelas suas características químicas e organoléticas. O ácido tartárico relaciona-se com os valores de acidez fixa e de pH. Comparado com os ácidos existentes nas uvas o ácido tartárico é um dos mais resistentes a ações bacterianas. A diminuição de concentração de ácido tartárico acentua-se durante a fermentação alcoólica pois começam a precipitar sais de cálcio (tartarato neutro) e de potássio (bitartarato) (Curvelo-Garcia 1988).

A obtenção dos valores para o ácido málico presente no vinho foi realizada com a utilização de um equipamento designado de Winescan.

3.3 Material

Copos;

Pipetas;

Tina de vidro;

Esguicho;

3.4 Equipamento

Eléctrodo de platina (IODO 980); Equipamento utilizado para a determinação da concentração de anidrido sulfuroso livre em mostos. Este equipamento é constituído por um eléctrodo de leitura e um de referência.

Potenciómetro medidor de pH (Medidor digital (pH e EC) Combo waterproof): Neste trabalho utilizou-se um potenciómetro de pH portátil. Este aparelho é constituído por 2 eléctrodos sendo que um será o eléctrodo de leitura e o 2º será o eléctrodo de referência.

Densito (METTLER TOLEDO Densito 30PX): Utilizado para ler a densidade dos mostos e a temperatura no mesmo tempo. A célula de medição é visível e por isso permite ao utilizador identificar potenciais bolhas de ar ou impurezas que poderão levar a erros de leitura.

Apresenta um seringa externa que facilita a recolha de amostras dos recipientes usados.

Turbidímetro: Foi utilizado o medidor de turbidez portátil 2100P HACH. Este aparelho mede a turbidez automaticamente entre os 0,01 e 1000 NTU (Hach company, 1991-1998, livro de instruções do turbidímetro portátil 2100P).

WineScan: Espectrometro de infravermelhos pela metodologia FTIR.

3.5 Reagentes

Reagente ácido sulfúrico;

Molécula: H_2SO_4

Massa Molar: 98,078 g/mol

Reagente Iodato de Potássio;

Molécula: KIO_3 ;

Massa molar: 380,0037 g/mol

Reagente Hidróxido de Sódio;

Molécula: NaOH ;

Massa molar: 39,9971 g/mol

Indicador azul bromotimol (Curvelo, Garcia 1988);

Molécula: $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{BR}_2\text{O}_5\text{S}$

Para obter a solução de azul bromotimol:

1. $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{BR}_2\text{O}_5\text{S}$: 4g
2. Álcool a 96% V/V: 200 ml
3. Água isenta de CO_2 : 200 ml
4. Solução de Hidróxido de sódio a 0,1M a pH7: 7,5 ml para a coloração azul-verde;
5. Água – 100 mL

4. Resultados e Discussão

O vinho é composto por água (70-90%), etanol (8-20%), glúcidos (0,1-20%), ácidos e inúmeras moléculas simples e complexas é por isso que durante a vinificação são adicionadas enzimas que ajudam no desdobramento dessas moléculas de forma, a que o processo acelere. Destas moléculas podem destacar-se os taninos, antocianinas e flavenóides. Na determinação das características químicas dos vinhos recorre-se à química analítica. É necessário ter presente todos os equilíbrios envolvidos, as reações ácido-base. Quando se procede ao controlo analítico dos vinhos é comum e importante avaliar tanto os dados físicos tais como massa volúmica, viscosidade, bem como a quantificação dos ácidos, os glúcidos, os polifenóis, os constituintes voláteis e parâmetros caracterizadores de oxidação. Para além destes dois tipos de controlo deve ser, também, realizado um controlo microbiológico e análise sensorial. Todos estes parâmetros e processo de rastreabilidade tem início nas vindimas a partir do momento em que a uva chega à adega. Todo o processo de produção de vinho torna-se particularmente interessante pois qualquer característica organolética do produto é o resultado da sua composição química e do jogo entre moléculas. Acrescentando, é também de interesse o controlo analítico que poderá ser acompanhado pelo controlo de materiais que se encontram em contacto com os mostos e vinhos, discriminando por exemplo o tipo de rolha e outros produtos utilizados durante a vinificação (Shevchuk 2019).

cuba 62			
Data	Hora	D/Bê	Temp
03/set	09:00	1094	18
04/set	09:00	1091	19
05/set	09:00	1075	19
06/set	09:00	1051	19
07/set	09:00	1033	19
08/set	09:00	1020	19
09/set	09:00	1011	19
10/set	09:00	1005	19
11/set	09:00	999	19
12/set	09:00	996	19
13/set	09:00	993	19
14/set	09:00	991	19
15/set	09:00	991	19
16/set	09:00	991	19

cuba 68			
Data	Hora	D/Bê	Temp
03/set	09:00	1090	19
04/set	09:00	1082	19
05/set	09:00	1053	19
06/set	09:00	1027	19
07/set	09:00	1011	19
08/set	09:00	1000	19
09/set	09:00	994	19
10/set	09:00	991	19
11/set	09:00	991	19

cuba69			
Data	Hora	D/Bê	Temp
03/set	09:00	1091	18
04/set	09:00	1086	19
05/set	09:00	1056	19
06/set	09:00	1026	19
07/set	09:00	1008	19
08/set	09:00	996	19
09/set	09:00	991	19
10/set	09:00	991	19
11/set	09:00	991	19
12/set	09:00	991	19

cuba66			
Data	Hora	D/Bê	Temp
04/set	09:00	1090	18
05/set	09:00	1088	19
06/set	09:00	1073	19
07/set	09:00	1048	19
08/set	09:00	1031	19
09/set	09:00	1016	19
10/set	09:00	1006	19
11/set	09:00	998	19
12/set	09:00	993	19
13/set	09:00	990	20
14/set	09:00	990	19

cuba 76			
Data	Hora	D/Bê	Temp
05/set	09:00	1087	19
06/set	09:00	1062	19
07/set	09:00	1038	19
08/set	09:00	1023	19
09/set	09:00	1011	19
10/set	09:00	1005	19
11/set	09:00	999	19
12/set	09:00	995	19
13/set	09:00	993	20
14/set	09:00	991	19
15/set	09:00	991	19
16/set	09:00	991	19

Cuba 72			
Data	Hora	D/Bê	Temp
05/set	09:00	1090	18
06/set	09:00	1083	19
07/set	09:00	1055	19
08/set	09:00	1034	19
09/set	09:00	1018	19
10/set	09:00	1006	19
11/set	09:00	998	20
12/set	09:00	993	19
13/set	09:00	991	19
14/set	09:00	991	19

Fig 17 –Resultados obtidos através da recolha das densidades diariamente até ao final da fermentação de cada mosto.

- Cinética de fermentação:

Nos gráficos representativos da evolução da fermentação, obtidos a partir dos valores apresentados na Fig17, em cubas com mosto de casta Arinto, em função do tempo e temperatura pode verificar-se que não houve oscilações significativas de temperatura que levassem, assim, a problemas ou até mesmo à paragem da fermentação. No gráfico representativo da fermentação da cuba 62 B, Fig.18, onde foi adicionada a levedura Qa23 pode verificar-se um aumento da temperatura do dia 3 de setembro de 2020 para o dia 4 de setembro de 2020. A partir deste dia a temperatura seguiu controlada nos 19 °C, uma temperatura ideal para que houvesse atividade das leveduras e a fermentação continuasse a desenrolar-se normalmente. A fermentação deste mosto iniciou com uma densidade de 1094 D/Bê. Como mostra o gráfico da Fig.18, a partir do dia 7 de setembro de 2020 a densidade começou a baixar representando assim uma maior atividade das leveduras com 1033 D/Bê como valor referente ao estudo da evolução da cinética em atividade de rotina. A partir daqui a densidade continuou a baixar até aos 991 D/Bê parando a fermentação neste momento.

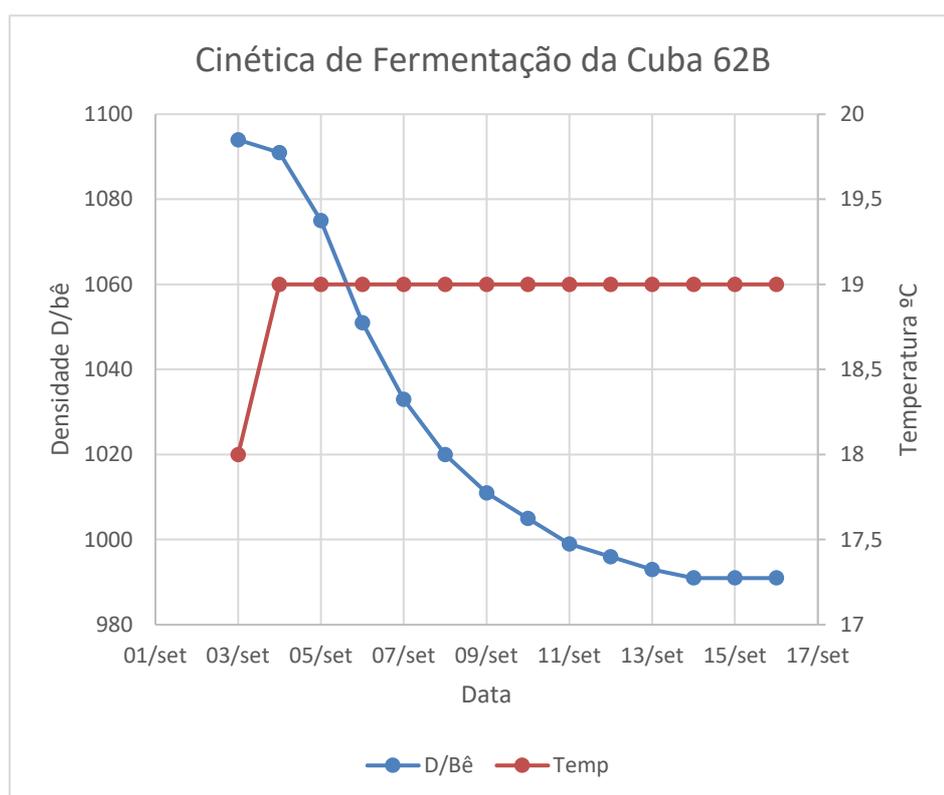


Fig 18 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 62B.

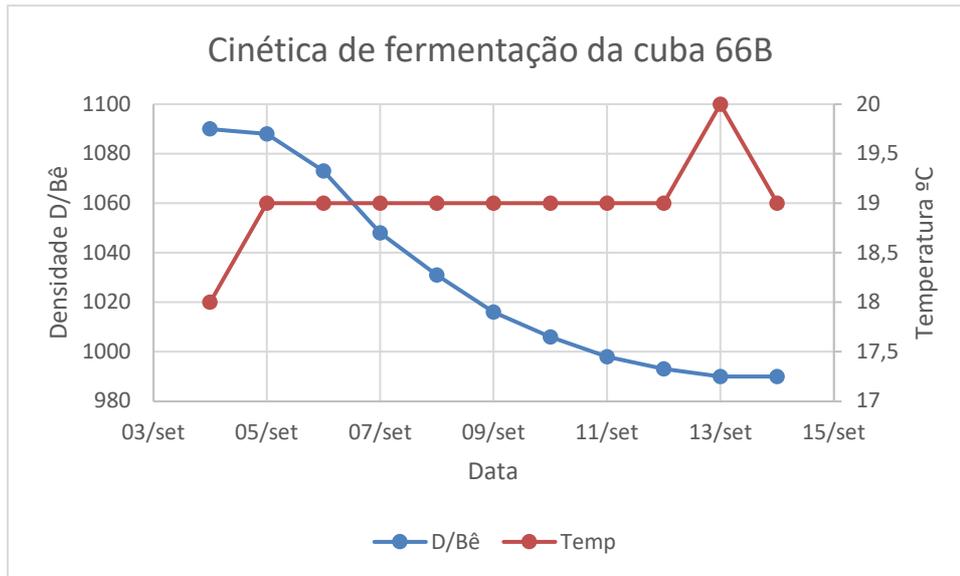


Fig 19 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 66B.

À cuba 66B Fig.19 foi adicionada a levedura QA23. Esta cuba foi cheia no dia 4 de setembro de 2020. Pode ver-se no gráfico da Fig.19 que no dia em que foi cheia iniciou com uma temperatura de 18 °C. No dia seguinte quando foi vista a densidade, a temperatura tinha aumentado para os 19 °C e assim se manteve até ao dia 12 de setembro de 2020. No dia seguinte voltou a subir para os 20 °C. Neste caso houve intervenção na refrigeração para voltar a baixar para os 19 °C para evitar que houvesse problemas na fermentação. A atividade das leveduras no mosto desta cuba encontrava-se no seu auge de atividade no dia 7 de setembro de 2020 sendo que o valor de referência para esta atividade encontrava-se nos 1048 D/Bê e a sua densidade continuou a baixar até aos 990 D/Bê, valor com o qual parou de fermentar, no dia 14 de setembro 2020.

A cuba 68B, Fig.20 não sofreu nenhuma diferença de temperatura, como se pode ver na figura Fig.20. Manteve-se o tempo todo nos 19 °C. No caso desta cuba, onde se utilizou a levedura QCITRUS, a atividade das leveduras neste mosto encontrava-se no auge da sua atividade mais cedo que o mosto da cuba 62B Fig.18 (ambas foram cheias no dia 3 de setembro de 2020), sendo que as leveduras estavam no que da sua multiplicação no dia 5 de setembro de 2020 com uma densidade de 1053 D/Bê, valor observado e referente à evolução da cinética. Em termos de decorrer de fermentação esta desenvolveu-se normalmente até chegar aos 991 D/Bê de densidade no dia 10 de setembro de 2020. Entre estas duas cubas pode concluir-se que ambas foram cheias e tratadas no dia 3 de setembro, mas a cuba 68B Fig.20 onde se utilizou a liofilizada QCitrus fermentou mais rapidamente que a cuba 62B Fig.18.

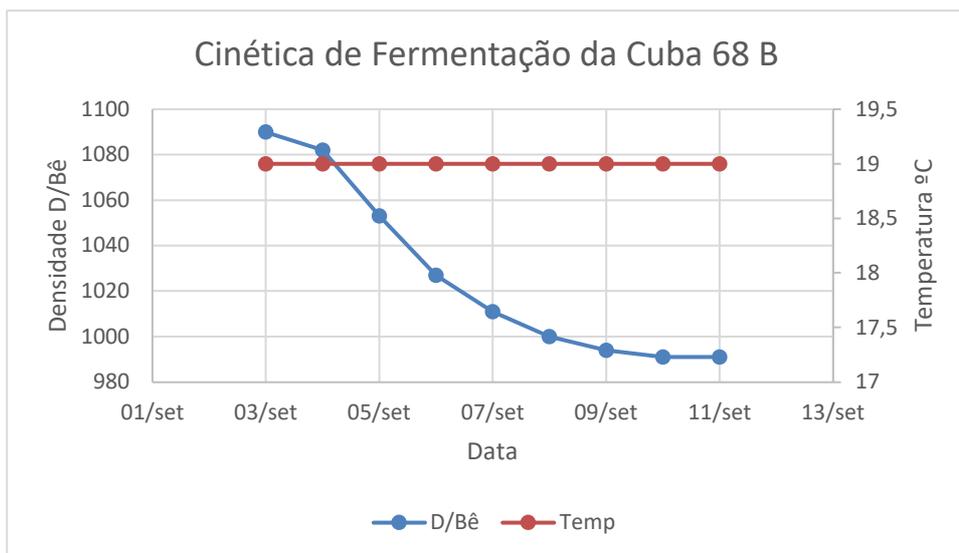


Fig 20 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 68B.

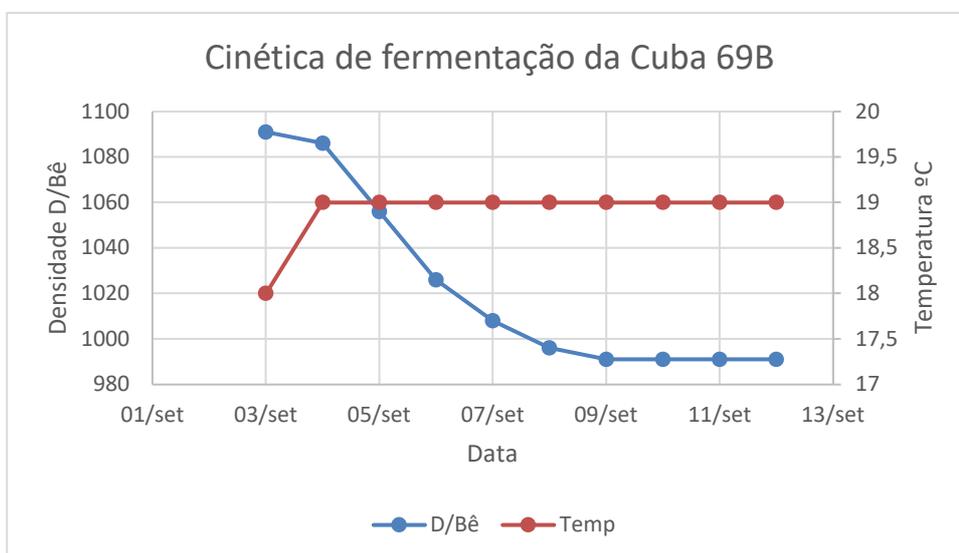


Fig 21 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 69B.

A cuba 69B Fig.21, pode comparar-se às cubas 62B Fig.18 e 68B Fig.20 pois foi cheia e tratada no mesmo dia (3 de setembro de 2020). A este mosto foi adicionada a levedura Revelation Thiols. As leveduras encontravam-se no seu auge de atividade no dia 5 de setembro tal como a cuba 68B Fig.20, com uma densidade de 1056 D/Bê, valor de referência para monitorizar a evolução da cinética, um pouco mais alta que as anteriores. Foi ainda mais rápida a ficar fermentada pois foi terminando a fermentação com 991 D/Bê de densidade no dia 9 de setembro de 2020. Em relação à temperatura, como se pode ver no gráfico da cuba 69B Fig.21, no dia 3 de setembro iniciou com 18 °C e a partir do dia 4 de setembro subiu para os 19 °C mantendo-se assim até ao final da fermentação.

A cuba 72B, Fig.22, foi cheia no mesmo dia que a cuba 78B, Fig.23, e foi-lhe adicionado a levedura Sensy. Este mosto inciou a fermentação no mesmo dia que o mosto da cuba 78B, Fig.23, (5 de setembro de 2020) mas com uma densidade um pouco mais alta com 1090 D/Bê e apresentava uma maior atividade das leveduras também no mesmo dia, 7 de setembro de 2020, mas com uma densidade de 1055 como valor de referência para estudar a evolução da cinética, enquanto, que no mosto da cuba 78B, Fig.23, as leveduras mostravam mais atividade com uma densidade de 1038 D/Bê. Comparando estas duas últimas cubas, a 72B, Fig.22, foi terminando a fermentação mais cedo que a cuba 78B, Fig.23.

Na maior parte da fermentação da cuba 72B, Fig.22, a temperatura esteve nos 19 °C embora no início ter subido dos 18 °C para os 19°C e no dia 11 de setembro ter subido para os 20 °C voltando a descer e a manter-se nos dias seguintes até ao final da fermentação.

Por fim, ao mosto da cuba 78B, Fig.23, foi adicionada a levedura Perlage. A cuba 78B Fig.23, foi cheia no dia 5 de setembro de 2020. Apesar de ter sido cheia um dia mais tarde que cuba 66B, Fig.19, no mosto da cuba 78, Fig.23, as leveduras encontravam-se na sua máxima atividade no mesmo dia que a cuba 66B, Fig. 19, com uma densidade de 1038, valor referente à evolução da cinética D/Bê. Pode concluir-se que o mosto da cuba 78B Fig.23 onde foi adicionada a levedura Perlage transformou açúcares mais rapidamente que a cuba 66B, Fig. 19. A nível de temperatura esta oscilou no dia 13 de setembro de 2020 quando subiu para os 20 °C voltando a descer no dia seguinte. Esta subida de temperatura não alterou em nada a fermentação desenvolvendo-se normalmente até ao momento em que parou a fermentação, dia 15 de setembro de 2020.

A cinética de fermentação do vinho branco depende principalmente da temperatura de fermentação e do teor de açúcar. O controlo do processo de fermentação durante a vinificação dos vinhos é um dos passos mais importantes para se conseguir obter vinhos com uma correta qualidade aromática e sensorial (Martinez et al 1999). A temperatura é o fator que tem vindo a ter mais atenção para o controlo da cinética de fermentação (Martinez et al 1999).

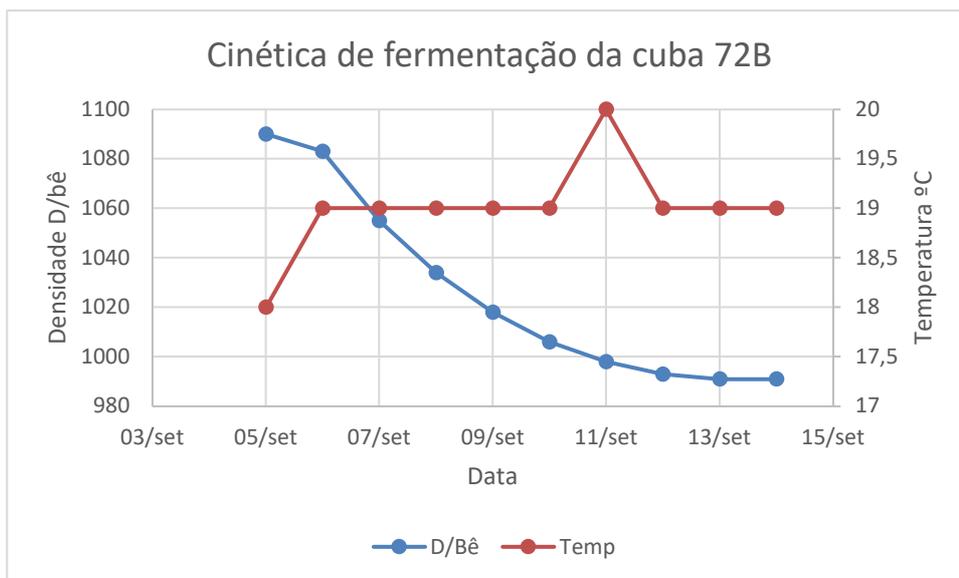


Fig 22 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 72B.

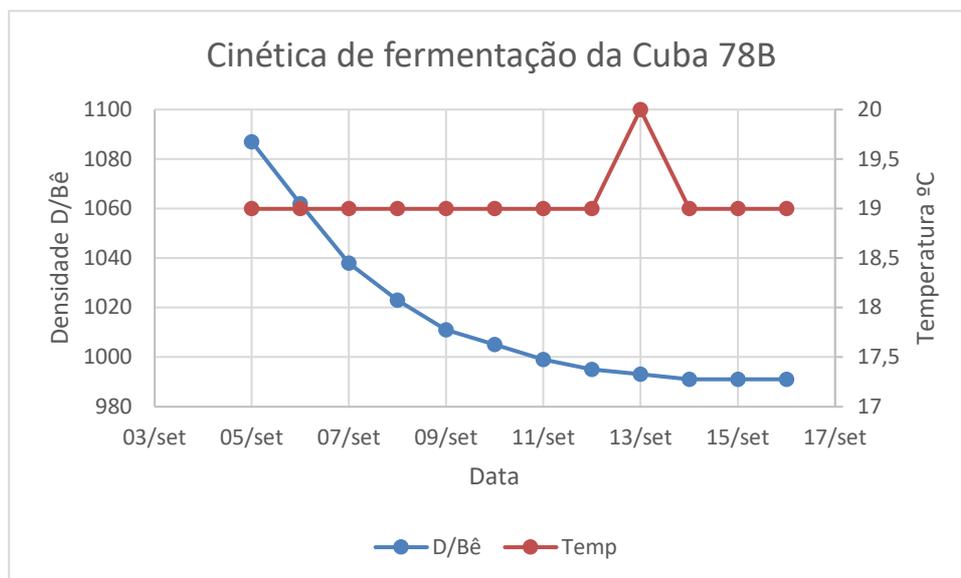


Fig 23 – Gráfico representativo da evolução da fermentação da cuba 78 B.

As culturas iniciadoras de fermentação ou as chamadas culturas starters são microrganismos selecionados com uma atividade metabólica estável e já conhecida. Estas devem ser portadoras de características que são desejadas para produzir alguma bebida ou alimento como a textura, corpo e sabor. Quando este tipo de leveduras são selecionados deve também ter-se em atenção se estes conseguem competir com leveduras indígenas transportadas da vinha (dos Santos et al 2008).

O mosto é um meio de cultura que se caracteriza pela sua riqueza em nutrientes, ao pH mais ácido e à quantidade de açúcares pois apenas determinados microrganismos conseguem sobreviver a estas quantidades de açúcares (Santos et al 2008).

O desempenho da fermentação pode então ser afetado pelo tipo de leveduras liofilizadas que são utilizadas para gerar o arranque da fermentação. As leveduras têm então que ser “alimentadas” para que a sua função se realize normalmente sem problemas. Os nutrientes que lhes são fornecidos devem satisfazer as suas exigências nutricionais. Uma grande quantidade de leveduras presentes no mosto pode levar a um aumento na produção de etanol o que levará a baixar a sua taxa de reprodução (Costa 2017). As leveduras quando em grandes concentrações de açúcares podem sofrer stress osmótico e assim parar a sua atividade (Costa 2017).

Segundo dos Santos, & Gelinski, (2008), estudos que foram realizados desde alguns anos até à atualidade que foram feitos com culturas de arranque de fermentação têm revelado que o stress provocado pelo meio nas condições iniciais de fermentação (açúcares e condições físico-químicas) levam a que seja feita uma seleção da estirpe de *Sacharomyces Cerevisae*, que tenham as melhores características, a utilizar para o determinado tipo de vinho. O facto de as uvas utilizadas serem sempre diferentes e de serem apresentadas em condições diferentes algumas com elevada acidez e grande concentração de açúcares acima da escala faz com que seja possível destacar quais as estirpes de *S. cerevisiae* que se revelam melhores ativadoras de fermentação (Santos et al 2008). É por isso que neste trabalho e verificando as cinéticas de fermentação se pode concluir que os mostos que foram enriquecidos com leveduras diferentes, mas no mesmo dia, tenham revelado uma mais rápida ou mais lenta fermentação, embora tenha ocorrido de forma normal sem paragens no decorrer da fermentação.

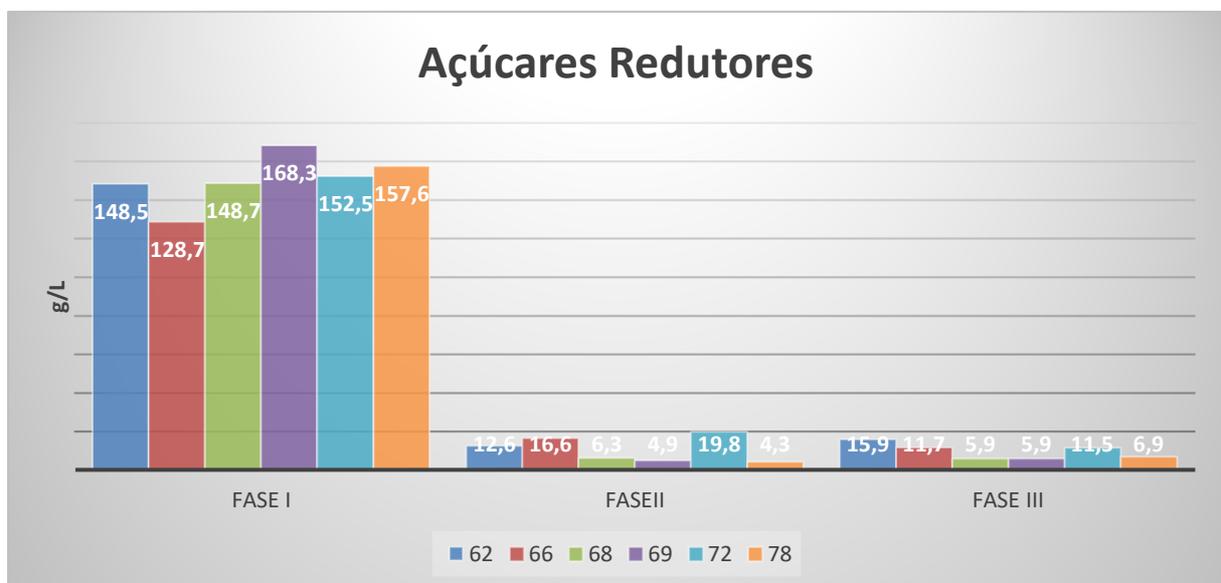


Fig 24 – Gráfico representativo das análises aos açúcares redutores nas cubas 62; 66; 68; 69; 72 e 78 em 3 fases do processo fermentativo

Em relação aos açúcares redutores que foram analisados nas 3 fases no decorrer da fermentação Fig. 24 pode verificar-se entre as fases II e III na cuba 62B, 69B e 78B que há uma

pequena diferença entre elas. Sendo que na fase II seria espectável haver ainda uma maior presença de açúcares o que não aconteceu, acontecendo na fase III uma maior concentração de açúcares. Este resultado pode ter acontecido porque as amostras da fase II podem ter sido retiradas já com uma fermentação mais avançada e por isso os valores em relação à fase III não variam muito. Por outro lado pode ter acontecido que o erro do método tenha sido superior à real leitura da densidade.

No gráfico da Fig. 24, em relação à concentração de açúcares na fase I pode destacar-se o mosto da cuba 69B com uma maior concentração de açúcares e em menores concentrações pode destacar-se o mosto da cuba 66B. Apesar de se tratar de mosto da mesma casta é natural que as concentrações de açúcar não sejam iguais uma vez que a Adega de Borba é constituída por cerca de 270 produtores associados, muitos deles podem ser produtores desta casta e os solos de cada produtor apresentam características diferentes. Sendo o solo um dos fatores que mais contribui para as características e valores dos parâmetros da uva então as diferenças entre os mostos estudados pode dever-se à questão do solo. Por outro lado, há que destacar o clima que varia de ano para ano e o tratamento da vinha ao longo do ano. Por isso uma mesma casta nunca será igual de produtor para produtor e de ano para ano, conseguindo-se também a partir daqui obter-se perfis de vinho diferentes.

Na fase II, podem ver-se diferenças mínimas entre as quantidades de açúcar entre os mostos das cubas 68B e 69B, Fig.24, esta questão pode dever-se ao facto de as duas amostras terem sido retiradas no mesmo dia e à mesma hora e porque, também, em termos de densidade inicial (fase I) não diferiram significadamente entre si, Fig. 24.

Na fase III os mostos das cubas 68B e 69B, Fig.24, também não apresentam diferenças significativas entre si, provavelmente pela mesma razão acima descrita visto que têm diferença de 1 dia na tiragem da amostra.

Os constituintes dos vinhos podem ter uma relação direta com as suas características organoléticas, sendo que são os constituintes químicos do vinho que lhe vão dar sabores e aromas diferentes a cada olfato e paladar. Podem destacar-se compostos que dão origem ao paladar doce, ácido, salgado, cor, nutrição e aroma (Galacho 2007).

Como este ponto do trabalho se refere a açúcares redutores então o paladar doce está a cargo de compostos como o açúcar, álcoois e poliois. Os açúcares existentes no bago e consequentemente no mosto e no vinho são produtos da fotossíntese nas folhas da videira.

Um dos grupos destes açúcares são os simples ou redutores que são as hexoses e pentoses. Em termos qualitativos as hexoses são os compostos mais importantes pois são estes

os açúcares que vão ser transformados em álcool durante a fermentação do mosto e, assim, determinam o teor alcoólico dos vinhos obtidos desse mosto (Galacho 2007).

Em relação às pentoses estas não são fermentáveis e por esta razão os vinhos contam sempre com a presença deles (Galacho 2007).

- Parâmetros físico-químicos:

Olhando para os parâmetros físico-químicos que foram analisados quando as cubas foram cheias (densidade, temperatura, acidez total, grau, NTU e SO₂L) e para os parâmetros finais analisados utilizando o winescan, pode concluir-se que os valores não revelaram diferenças significativas entre si, Figuras 25, 26, 27, 28, 29, 30. É importante reter que os parâmetros das uvas dependem sempre de ano para ano e também do tipo de solo em que a vinha está plantada, pois uma mesma casta plantada em solos diferentes irá apresentar características diferentes, e das condições meteorológicas que fizeram nesse ano sendo a produção de vinha uma atividade sazonal e que depende muito do tempo meteorológico.

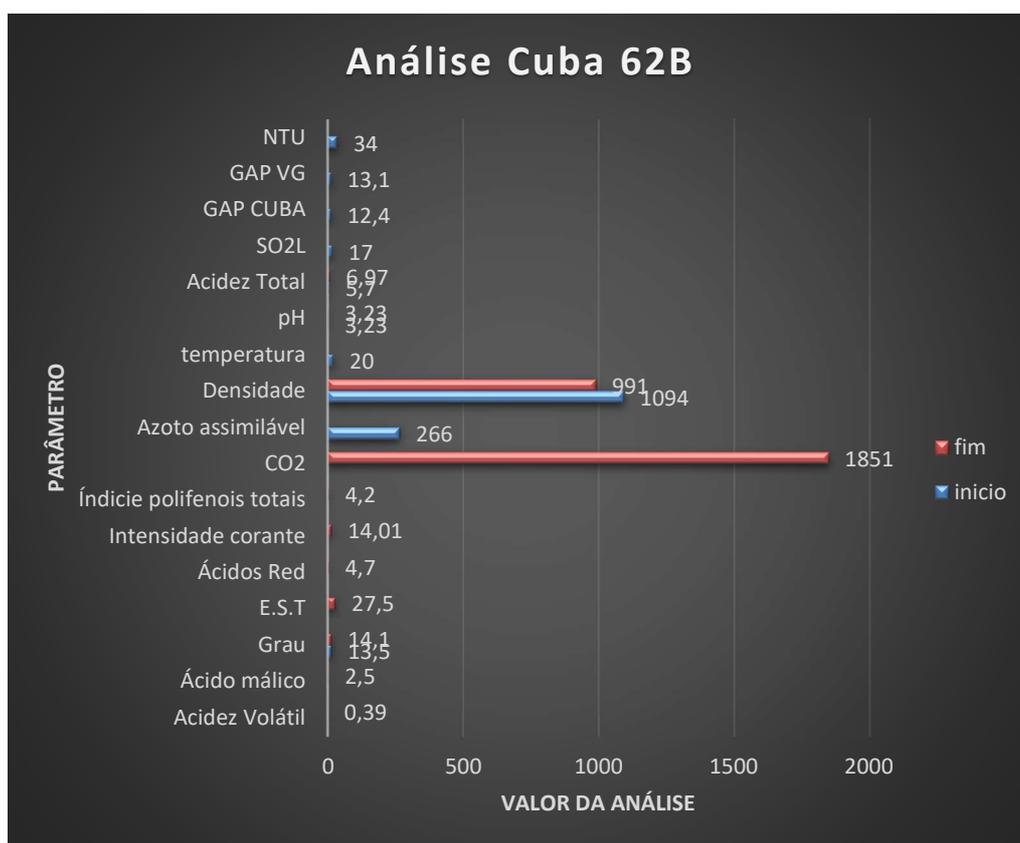


Fig 25 – Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 62B

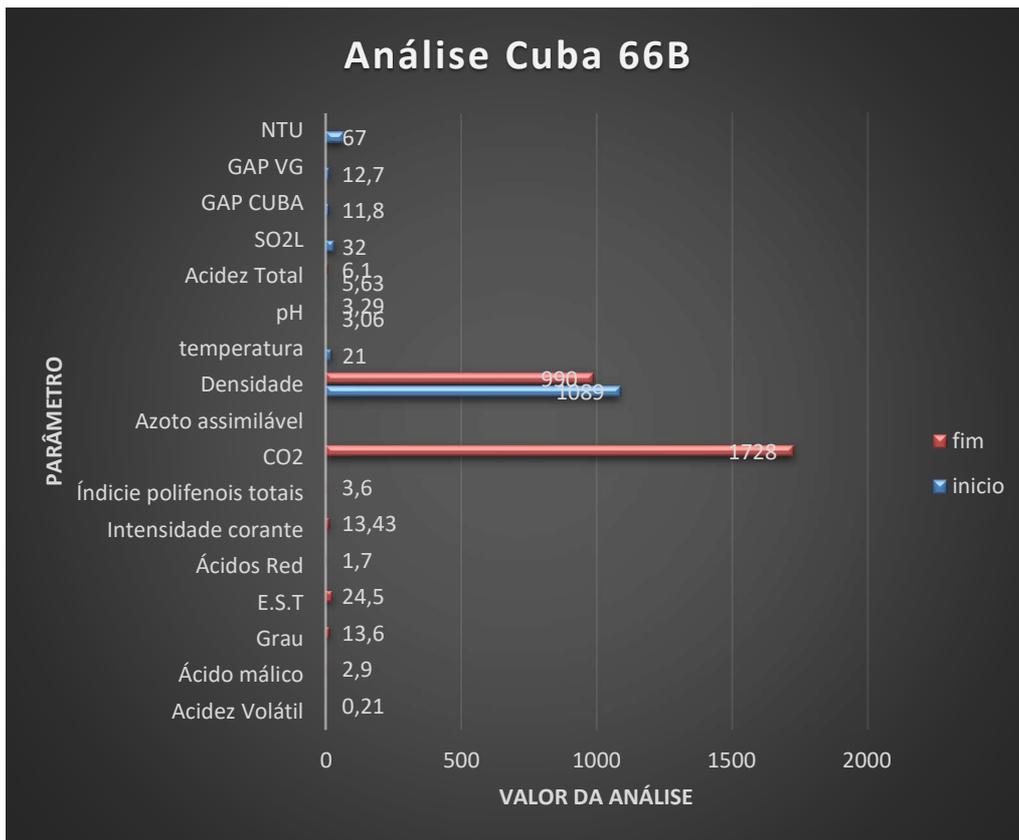


Fig 26 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 66B

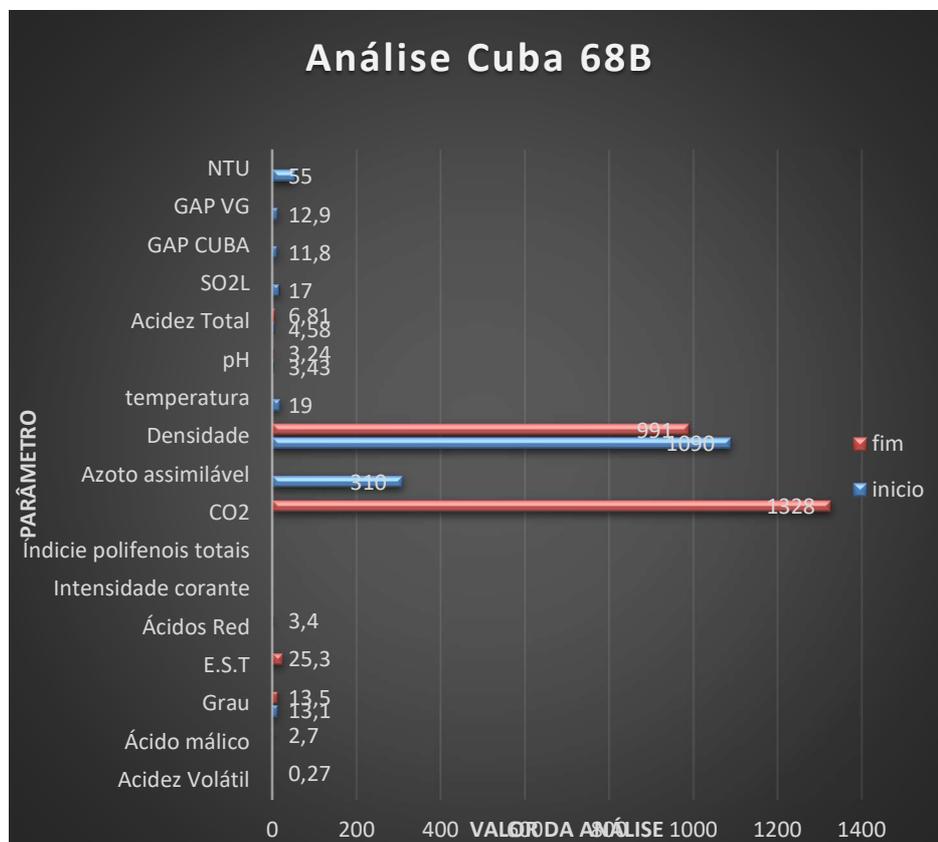


Fig 27 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 68B

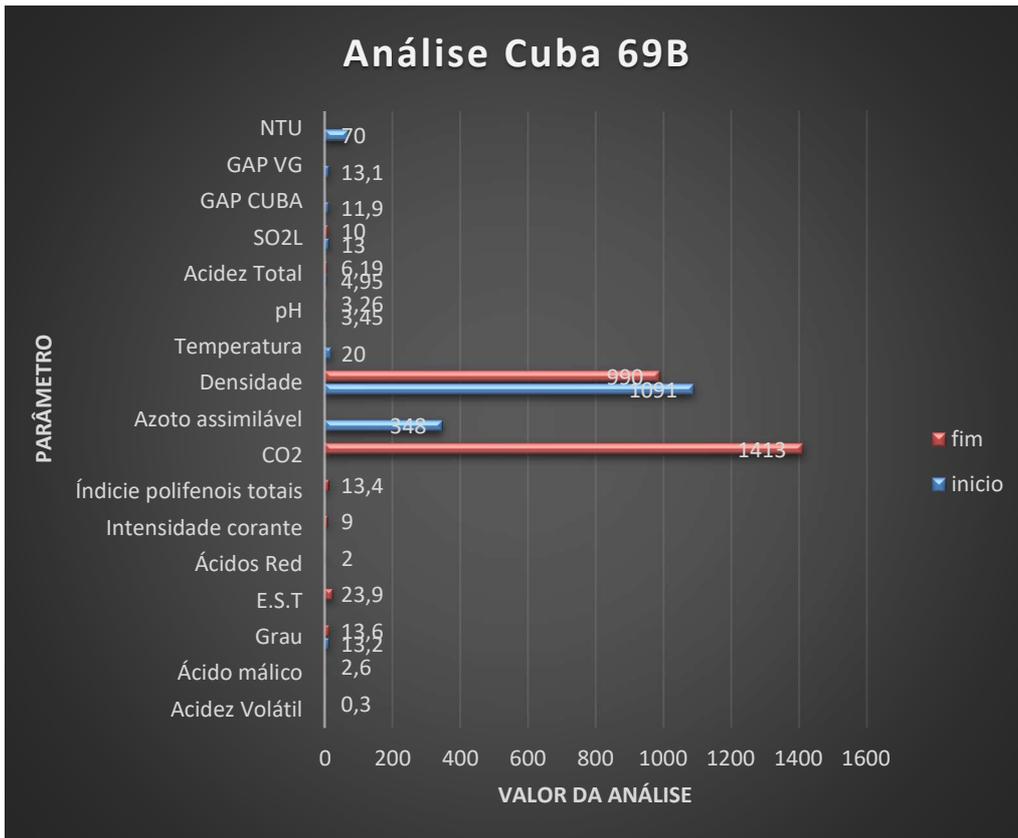


Fig 28 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 69B

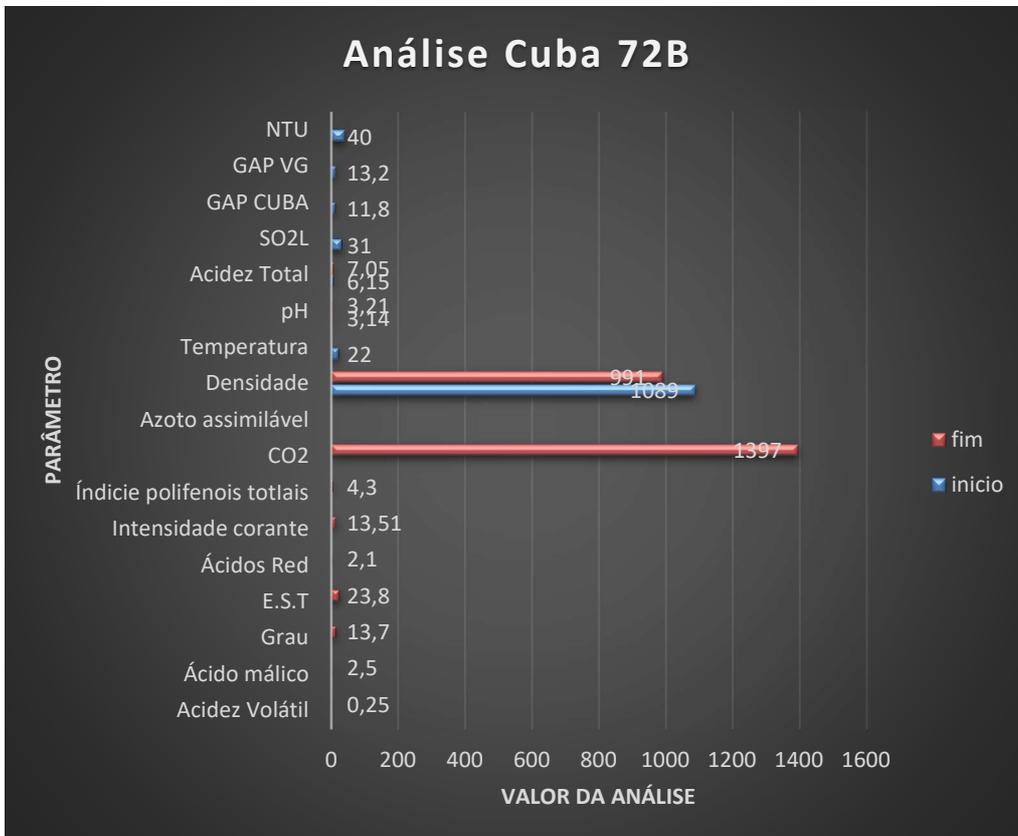


Fig 29 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 72B

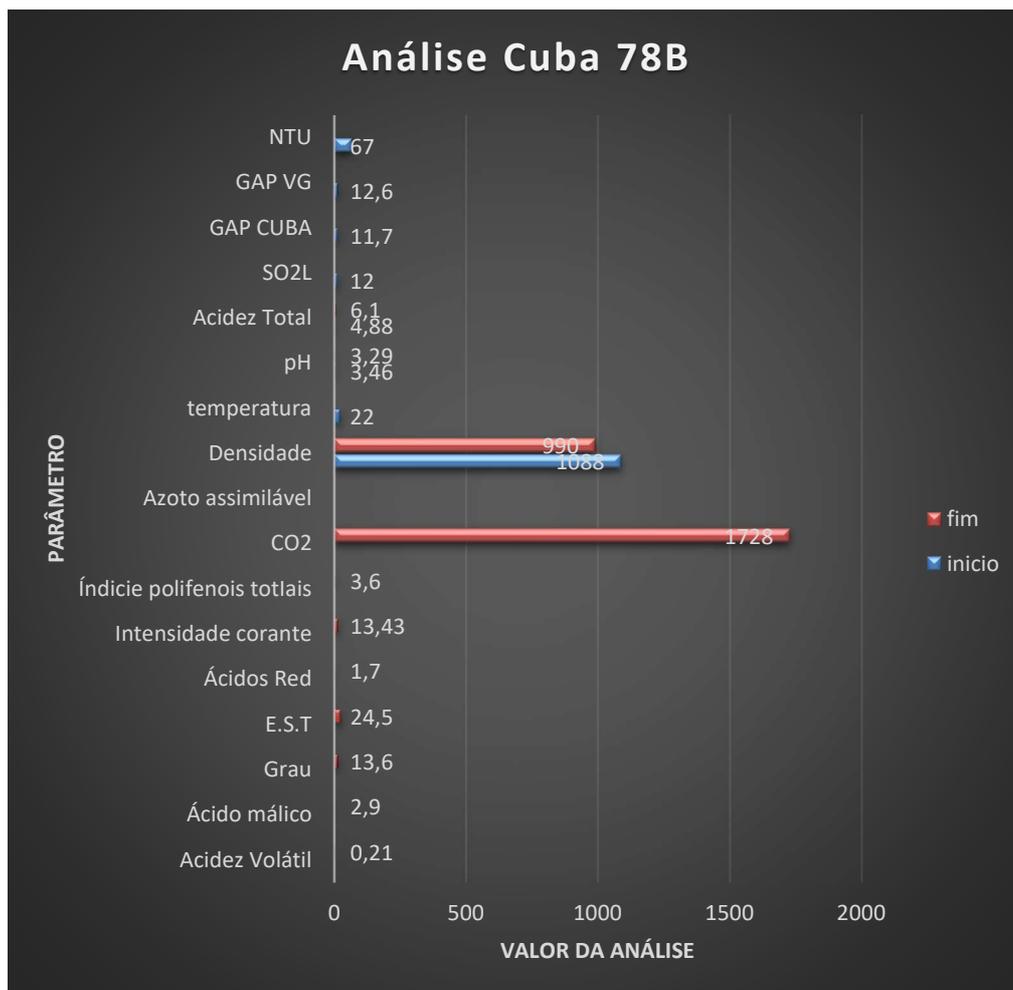


Fig 30 - Gráfico representativo das análises dos parâmetros físico-químicos do mosto da cuba 78

A acidez total de um vinho deve estar entre os os $5,5 \text{ g/dm}^3$ e $8,5 \text{ g/dm}^3$ sendo que no caso dos vinhos brancos estes valores devem estar mais perto do limite superior pois os vinhos brancos querem-se com uma maior acidez (Rosado 2013). Relacionando com os valores de acidez total obtidos nos gráficos representativos das análises Fig.25, Fig.26, Fig.27, Fig.28, Fig.29, Fig.30, pode concluir-se que estes valores se encontram dentro destes limites e que em termos de acidez total todos apresenta (no fim da fermentação) valores acima dos 6 g/dm^3 .

O pH tem uma relação direta com os ácidos orgânicos (que compõem a acidez total). Os vinhos brancos apresentam pH mais baixos em relação aos vinhos tintos e por isso apresentam uma maior acidez. Teoricamente quanto maior for a quantidade de ácidos orgânicos menor será o valor de pH. Segundo o autor (Rosado 2013) os valores de pH para vinhos brancos terão que ser entre 3,1 e 3,4. Em relação aos valores de pH obtidos nas análises finais a maior parte deles encontram-se dentro destes valores.

Outro dos parâmetros que pode ser influenciado pelo pH é o teor em SO_2 . A fração livre de SO_2 nos vinhos é a mais importante pois é a que vai garantir a ação antisséptica. A fração

livre do SO_2 vai aumentando com a diminuição do pH. Desta forma é possível que se faça um equilíbrio de forma, a que, não haja consequências negativas na conservação do vinho. É, também importante, ter em atenção o facto de que um pH muito baixo poderá tornar-se desagradável a nível de características organoléticas e uma quantidade muito grande de SO_2 pode tornar-se tóxica. Para além de ser perigoso para humanos, durante o processo de vinificação, poderá tornar difícil o desenvolvimento das leveduras (Rosado 2013).

Relacionando o SO_2 com outros componentes do vinho estes dependem da temperatura. Quanto maior for a temperatura maior será a fração livre de SO_2 (sendo esta a forma bissulfito) (Rosado 2013).

Segundo os limites legais para o anidrido sulfuroso considera-se que este deve ser inferior ou igual 200 mg/l (IVV, 2018).

5. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho pode concluir-se que várias leveduras em ação em mostos de uma mesma casta, Arinto, não apresentam diferenças significativas no seu comportamento e em relação aos valores dos parâmetros analíticos dos vinhos. Pode ainda concluir-se que existiram pequenas diferenças a nível da duração do tempo da fermentação. Estas diferenças podem não só estar relacionadas com as leveduras como também com outros factores externos tais como (tratamento do solo, tratamento da videira, clima) e a pequenas oscilações de temperatura que possam ter ocorrido durante o processo.

O facto de os mostos estudados serem originados de uvas produzidas por diferentes viticultores e em solos diferentes (argilo-calcários ou xistosos) e de serem tratados de forma diferente, este poderá ser um dos fatores que pode levar à obtenção de vinhos diferentes e com aromas diferentes. Outros dos fatores que mais influencia a qualidade das uvas é o clima. Todos os anos a mesma parcela de vinha poderá originar uvas com características diferentes e, por isso, o vinho nunca é igual de ano para ano e é por isso que, também, poderá haver diferenças no decorrer da fermentação, como mostram os resultados deste trabalho. É importante que os parâmetros químicos enológicos não fujam aos legalmente definidos para os vinhos Portugueses, como pode verificar-se nas análises físico-químicas realizadas ao longo deste trabalho estes parâmetros são semelhantes nos diferentes mostos o que se pode considerar um aspecto positivo na utilização destas estirpes de levedura.

Durante o processo de fermentação de vinho todas as etapas têm a sua importância para que as características finais do produto. No caso do vinho uma das fases que tem mais peso é a fase da fermentação que recorre à utilização de microrganismos. É importante que haja um controlo presente desta atividade microbiana para, que se, houver algum problema durante o processo de fermentação este consiga ser corrigido no tempo certo como por exemplo outras contaminações ao mosto e a produção de compostos indesejáveis. O vinho é considerado um meio muito complexo e a sua constituição deve-se principalmente aos componentes existentes e das suas interações durante o processo de vinificação. Esta interação tem influência na estabilidade química do vinho e na qualidade sensorial. Por esta razão é importante a escolha e seleção da levedura que se quer utilizar para um determinado perfil do vinho tendo em atenção os parâmetros analisados à chegada da uva. A temperatura é um dos fatores que mais deve ser controlado na fase de fermentação pois esta determina a atividade ou não atividade das leveduras. Praticando um controlo durante a vinificação consegue-se, assim obter vinhos de qualidade e com aromas expressivos causando um bom paladar na altura de consumir.

6. Referências bibliográficas

- Anuário, Instituto da Vinha e do Vinho, 2018, site Instituto da Vinha e do Vinho.
- Bayonove, C, (1992). Les composés terpéniques. In: Les acquisitions récentes en chromatographie du vin. ed. by Lavoisier Tec & Doc, Paris, p. 99-119.
- Bittman R. (1974) Analysis of reducing sugars in breakfast cereal and other foods, *Journal of Chemical Education*, 51, 46-47.
- Blume, R., & Pedrozo, E. A. (2008). *A noção de Terroir e sua Influência na Dinamização da Cadeia Produtiva dos Vinhos Finos* (No. 1349-2016-106799).
- Cabrita, M. J. P. D. B. (2003). Caracterização físico-química de uvas e vinhos de castas tradicionais do Alentejo, *Dissertação apresentada para a obtenção para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Agrárias*.
- Carlan, C. U. (2012). Vinho: comércio e poder no mundo antigo In *Práticas Alimentares No Mediterrâneo Antigo*, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, p83.
- Chidi, B. S., Bauer, F. F., & Rossouw, D. (2018). Organic acid metabolism and the impact of fermentation practices on wine acidity: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39(2), 1-15.
- Costa, B. N. (2017). Fermentação alcoólica: principais aplicações e fatores que interferem no processo, *Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia Química do UNIFOR-MG, como requisito parcial para obtenção do título de bacharelato em Engenharia Química*.
- Curvelo-Garcia (2018), Capítulo III, “*Controlo de Qualidade dos Vinhos: química enológica-métodos analíticos. Instituto da Vinha e do Vinho.*”
- Curvelo-Garcia, A. S. (1988). “*Controlo de qualidade dos vinhos: química enológica-métodos analíticos. Instituto da Vinha e do Vinho*”.
- Curvelo-Garcia, Capítulo IV (1988), “*Controlo de Qualidade dos Vinhos: química enológica-métodos analíticos. Instituto da Vinha e do Vinho*”
- Curvelo-Garcia, Capítulo V (1998), “*Controlo de Qualidade dos Vinhos: química enológica-métodos analíticos. Instituto da Vinha e do Vinho*”.
- das Neves, P. M. L., Ferreira, D. N. M. F., & da Rocha Lebres, M. C. A. (2017). Construção de um Protótipo para Efetuar a Monitorização e Controlo do Processo de Fermentação Alcoólica, *Trabalho de Projeto apresentado para a obtenção do grau de Mestre em Automação e Comunicações em Sistemas de Energia*.

- de Freitas, J. V. L. (2011). O Vinho, o Romano e o Bárbaro. *Codex: Revista de Estudos Clássicos*, 3(1), 78-85.
- dos Santos, D., & Gelinski, J. M. L. N. (2008). Culturas iniciadoras de fermentação em vinhos. *Evidência*, 8(1-2), 57-84.
- Ferreira, J. C. T. D. (2004). O vinho e a medicina. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*, 6(1), 49-52.
- Fonseca, S., Jané, M. R. G., & Ibrahim, M. (2012). O vinho no Antigo Egito: uma história mediterrânea. *Mundo Antigo*, 1(1), 139-55.
- Galacho, C. (2007). A Química “Doce” do Vinho. (<https://dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/22717>)
- Garrido, G. S. (2011). *Vinificação de uvas brancas com fermentação e conservação em barrica. Aplicação de dois sistemas de Bâtonnage* (Doctoral dissertation, ISA/UTL).
- Gaspar, L., Ferreira, H., Gato, O., & Barroso, J. (2013). Contribuição para a caracterização dos diferentes. (<http://dspace.uevora.pt/rdpc/>)
- Gaspar, M. J. P. (2018). *Vinificação de brancos em condição de hiperoxigenação* *Dissertação para a obtenção de Grau Mestre em Viticultura e Enologia*
- Genisheva, Z. A. (2007). *Caracterização aromática varietal das castas brancas recomendadas para a produção de vinho verde* (Doctoral dissertation).
- Godoy, L., Acuña-Fontecilla, A., & Catrileo, D. (2020). Formation of aromatic and flavor compounds in wine: A perspective of positive and negative contributions of non-Saccharomyces yeasts. In *Chemistry and biochemistry of winemaking, wine stabilization and aging*. IntechOpen.
- Guarinello, N. L. (1997). A civilização do vinho: um ensaio bibliográfico. *Anais do Museu Paulista: História e Cultura Material*, 5, 275-278.
- Guerra, C. C. (2006). Aromas: parte essencial da qualidade dos vinhos. *Embrapa Uva e Vinho-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)*.
- Martinez, G., López, A., Esnoz, A., Virseda, P., & Ibarrola, J. (1999). A new fuzzy control system for white wine fermentation. *Food Control*, 10(3), 175-180.
- Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- Moreno-Arribas, M. V., & Polo, M. C. (2005). Winemaking biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), 265-286.

- Nikolova, P., Stoyanov, Z., Doncheva, D., & Trendafilova, S. (2018). Wine as a medicine in ancient times. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*, 5(2), 14-21.
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS microbiology*, 6(1), 1.
- Rezende, F. A., dos Santos, B., do Nascimento, I. J., & Candiotto, A. Processo de fabricação de vinho (http://www.fecilcam.br/anais/viii_eepa/arquivos/11-01.pdf);
- Rollero, S., Bloem, A., Camarasa, C., Sanchez, I., Ortiz-Julien, A., Sablayrolles, J. M., ... & Mouret, J. R. (2015). Combined effects of nutrients and temperature on the production of fermentative aromas by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(5), 2291-2304.
- Rosado, A. R. D. S. (2013). *Evolução de parâmetros físicos, químicos e controle microbiológico em vinhos brancos e tintos da Adega Cooperativa de Palmela* (Doctoral dissertation, Faculdade de Ciências e Tecnologia).
- Shevchuk, O. (2019). Caracterização e controlo de qualidade em vinhos, bebidas espirituosas, destilados e vinagres por técnicas de HPLC e Eletroforese Capilar, *Mestrado em Bioquímica, departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências do Porto*.
- Steckelberg, C. (2001). Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas. *Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química*.
- Uenojo, M., Maróstica Junior, M. R., & Pastore, G. M. (2007). Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova*, 30(3), 616-622.
- Van Leeuwen, C., & Seguin, G. (2006). The concept of terroir in viticulture. *Journal of wine research*, 17(1), 1-10.
- van Leeuwen, C., Roby, J. P., & de Rességuier, L. (2018). Soil-related terroir factors: a review. *OENO one*, 52(2), 173-188.
- Vinhas, Patrícia (2014/2015), *Relatório de Estágio do Curso de Licenciatura em Agronomia Tecnologias de Fermentação – Vinificação Casta Syrah*;
- White, R. E. (2020). The value of soil knowledge in understanding wine terroir. *Frontiers in Environmental Science*.

- Zamora, F. (2009). Biochemistry of alcoholic fermentation. In *Wine chemistry and biochemistry* (pp. 3-26). Springer, New York, NY.

Bibliografia de Imagens:

- Godoy, L., Acuña-Fontecilla, A., & Catrileo, D. (2020). Formation of aromatic and flavor compounds in wine: A perspective of positive and negative contributions of non-Saccharomyces yeasts. In *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging*. IntechOpen.
- Zamora, F. (2009). Biochemistry of alcoholic fermentation. In *Wine chemistry and biochemistry* (pp. 3-26). Springer, New York, NY.

Webgrafia;

- <https://www.fishersci.fi/shop/products/mettler-toledo-densito-30px-density-meter/10044682>;
- <https://silo.tips/download/turbidimetro-portatil>
- [https://ioc.eu.com/wp-content/uploads/documents/ioc/ft/FT%20LEVURE%20IOC%20REVELATION%20HIOLS%20\(EN\).pdf](https://ioc.eu.com/wp-content/uploads/documents/ioc/ft/FT%20LEVURE%20IOC%20REVELATION%20HIOLS%20(EN).pdf)
- <https://www.enartis.com/pt/produtos/vinho-pt-pt/leveduras/leveduras-secas-ativas/enartisferm-q-citrus/>
- <https://www.enartis.com/pt/produtos/vinho-pt-pt/leveduras/leveduras-secas-ativas/enartisferm-perlage-d-o-c-g/>
- https://www.proenol.com/web/files/fichas/FT0067-07_QA23_PT.pdf?PDF
- https://www.proenol.com/web/files/fichas/FT0590-01_Sensy_PT.pdf?PDF

Webgrafia de imagens:

- <https://blog.mfrural.com.br/clima-tempo/>
- <https://revistacampoenegocios.com.br/o-fosfito-de-potassio-pode-controlar-o-mildio-da-videira/>
- <https://vozdocampo.pt/2020/10/26/ele-esta-vivo-o-solo-e-muito-mais-do-que-o-que-nos-pensamos/>

- <https://www.clubevinhosportugueses.pt/vinhos/vinhos-da-sub-regiao-de-borba-com-denominacao-de-origem-alentejo/>
- <https://www.oiv.int/>
-