

ARIEL MANSUR SIQUEIRA FURTADO

**EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DAS  
CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DE VINHOS DURANTE A VIDA  
DE PRATELEIRA SECUNDÁRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F992e  
2013

Furtado, Ariel Mansur Siqueira, 1982-  
Evolução da composição físico-química e das  
características cromáticas de vinhos durante a vida de prateleira  
secundária / Ariel Mansur Siqueira Furtado. – Viçosa, MG,  
2013.  
xii, 72 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Paulo Henrique Alves da Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 62-72.

1. Vinho - Armazenamento. 2. Oxidação. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos.  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 663.2

ARIEL MANSUR SIQUEIRA FURTADO

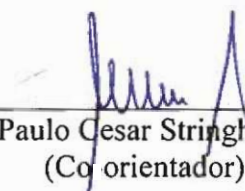
**EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DAS  
CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DE VINHOS DURANTE A VIDA DE  
PRATELEIRA SECUNDÁRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 25 de julho de 2013.



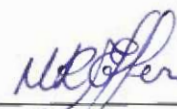
Ellen Silva Lago Vanzela  
(Co orientadora)



Paulo Cesar Stringheta  
(Co orientador)



Edimar Aparecida Filomeno Fontes



Monique Renon Eller



Paulo Henrique Alves da Silva  
(Orientador)

*“As pessoas são como os vinhos: a idade azeda os maus e apura os bons”.*  
*(Marcus Tullius Cicero)*

À minha família e todos que fizeram  
deste desafio uma conquista...

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, Dona Quinha, Nossa Senhora e São José, pela fé e iluminação, que me guiaram através das brumas da incerteza e da desilusão. Obrigado por me mostrarem o caminho certo.

Ao meu pai, Mauro, pelo apoio e orientação, que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À minha mãe, Vera, pelo amor, carinho e compreensão, os quais sem eles nada disto seria possível.

Aos meus irmãos, Jonathan e Jessica, pelo eterno companheirismo e pelo apoio durante este período da minha vida.

Aos meus amigos, pelo companheirismo e por estarem sempre lá por mim. Obrigado por fazerem parte da minha vida.

Ao meu professor e orientador, Paulo Henrique Alves da Silva, pela orientação, experiência, paciência e pela oportunidade que me proporcionou. Seus ensinamentos ficarão eternamente gravados em minha pessoa. Muito obrigado por tudo.

À minha co-orientadora, Ellen Silva Lago Vanzela, pela disponibilidade e boa vontade para me orientar neste trabalho. Obrigado por iluminar os meus pensamentos nos momentos em que as dúvidas pairavam em minha mente.

Ao meu co-orientador, Paulo Cesar Stringheta, e seus orientados, pelos ensinamentos e apoio, que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos demais membros da banca, Edimar Aparecida Filomeno Fontes e Monique Renon Eller, por aceitar este desafio e contribuir para o aprimoramento deste trabalho.

Ao laboratorista, Ademir de Paula Lopes, pelo companheirismo e boa vontade para me ajudar na execução deste trabalho. Aprendi muito com você nesse período. Obrigado por fazer parte disto tudo.

Ao laboratorista, Carlos Antônio Pio, pela disponibilidade e boa vontade em ajudar sempre. Seus conhecimentos e ensinamentos foram fundamentais para a execução deste trabalho.

Aos laboratoristas, José Carlos da Silva e Valério Antônio Poletto, que foram meus guias em seus respectivos laboratórios. Obrigado pelos ensinamentos e orientação.

Ao técnico de manutenção, José Tomaz Perereca, que consegue resolver qualquer problema, qualquer problema mesmo. Aprendi muito com você.

À secretaria de pós-graduação do DTA-UFV, Maria Geralda Campos da Costa e Pollyana Costa C. Sousa, pelo apoio e pelo bom trabalho que vêm realizando no departamento.

A CAPES, pelo financiamento e apoio. Obrigado pela oportunidade de realizar este trabalho.

A todas as pessoas que, de alguma forma, fizeram parte desta longa e cansativa jornada. Tem um lugar muito especial para vocês no meu coração.

Muito obrigado

## **BIOGRAFIA**

ARIEL MANSUR SIQUEIRA FURTADO, filho de Mauro Mansur Furtado e Vera Lúcia de Siqueira Costa Furtado, nasceu em Viçosa - MG, em 10 de Setembro de 1982.

Em Setembro de 2003, iniciou na Universidade Federal de Viçosa o curso de graduação em Engenharia de Alimentos, concluindo em Janeiro de 2009.

Em Agosto de 2010, ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na área de Química, Física e Bioquímica dos Alimentos, submetendo-se à defesa de tese em 25 de Julho de 2013.

## ÍNDICE

RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
2.1 Objetivos gerais .....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
3.1 Composição química do vinho .....	4
3.2 Efeitos da oxidação sobre a os compostos fenólicos e cor do vinho .....	11
3.3 Efeito do tempo e da temperatura durante o envelhecimento e a vida de prateleira secundária do vinho .....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.1 Coleta das amostras .....	19
4.2 Delineamento experimental .....	19
4.3 Métodos utilizados para as análises de caracterização dos vinhos .....	20
4.3.1 Teor alcoólico .....	20
4.3.2 Densidade .....	20
4.3.3 Concentração de sólidos solúveis totais .....	20
4.3.4 Açúcares redutores .....	21
4.3.5 Extrato seco .....	21
4.3.6 Extrato seco reduzido (ESR) .....	21
4.3.7 Relação álcool em peso/extrato seco reduzido (AP/ESR) .....	22
4.3.8 Cinzas .....	22
4.4 Análises físico-químicas de acompanhamento da vida de prateleira secundária dos vinhos .....	23
4.4.1 Acidez livre, fixa e total .....	23
4.4.2 pH .....	24
4.4.3 Antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais .....	24
4.4.4 Polifenóis totais .....	25
4.4.5 Capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) .....	25
4.4.6 Contribuição das antocianinas poliméricas à cor .....	27
4.4.7 Características cromáticas .....	28
4.4.8 Sulfito livre, combinado e total .....	29

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
5.1 Caracterização físico-química dos vinhos .....	30
5.2 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a acidez volátil, fixa e total e do pH dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária .....	31
5.3 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a concentração de antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais e do conteúdo de polifenóis totais dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária .....	35
5.4 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a capacidade antioxidante dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária medida pelos métodos DPPH e ABTS .....	40
5.5 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre as características de cor dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária .....	41
5.5.1 Avaliação das características cromáticas dos vinhos branco e tinto pelas coordenadas cromáticas: Espaço CIE L*a*b* .....	41
5.5.2 Avaliação das características cromáticas do vinho tinto medida por análise de copigmentação e polimerização de antocianinas .....	47
5.5.3 Avaliação das características cromáticas do vinho tinto medida pelos índices $A_{420}$ $A_{520}$ e $A_{620}$ .....	49
5.6 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a concentração de sulfito livre, combinado e total dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária .....	53
6. CONCLUSÃO .....	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62

## RESUMO

FURTADO, Ariel Mansur Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Evolução da composição físico-química e das características cromáticas de vinhos durante a vida de prateleira secundária.** Orientador: Paulo Henrique Alves da Silva. Co orientadores: Ellen Silva Lago Vanzela e Paulo Cesar Stringheta.

Sabe-se que os vinhos podem ser estocados em garrafas durante vários anos sem sofrer significativas diferenças em suas propriedades físico-químicas. Mas a partir do momento que essa garrafa é aberta, há uma modificação no perfil das reações químicas que ocorrem no vinho, levando à ocorrência de alterações físicas, químicas e sensoriais em um curto intervalo de tempo. A composição físico-química e as características cromáticas de vinhos das variedades de uva Riesling e Merlot, foram estudadas durante a vida de prateleira secundária, que corresponde ao período de tempo entre a abertura da garrafa e o seu consumo tardio, a fim de se avaliar diferenças que ocorrem devido à influência da temperatura de estocagem, do tempo e da aeração sobre diversas variáveis de qualidade. As amostras foram separadas em diferentes tratamentos, com diferença na temperatura de estocagem (5 e 20°C) e na aplicação de agitação manual da garrafa (sem e com agitação) a fim de se intensificar os efeitos da oxidação através da incorporação forçada de oxigênio nas amostras. As amostras de vinho branco e tinto atenderam às exigências da legislação brasileira quanto ao teor alcoólico, sólidos solúveis totais, acidez volátil e total, cinzas, sulfitos e a relação TA/ESR, sendo classificados como vinhos finos secos. Não foi verificado efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem sobre nenhum tratamento do vinho branco. A temperatura de estocagem exerceu efeito ( $p < 0,05$ ) basicamente sobre as variáveis que influenciam na cor dos vinhos tintos, como a concentração de antocianinas polimerizadas, a intensidade de cor e a tonalidade, além das variáveis cromáticas  $a^*$ ,  $C^*$ ,  $H^*$  e os índices  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  e  $A_{620}$ . As amostras estocadas a 20°C apresentaram uma maior variação nestas variáveis, indicando que a temperatura é um fator que influencia na qualidade do vinho durante a vida de prateleira secundária, sobretudo no vinho tinto. O tempo exerceu influência ( $p < 0,05$ ) sobre a acidez volátil, fixa e total dos vinhos brancos e tintos, além das variáveis cromáticas  $b^*$  e  $C^*$ . Foi observado também efeito do tempo sobre a concentração de antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais e sobre o conteúdo de polifenóis totais no vinho tinto. As alterações nessas classes de compostos influenciam nas características de cor dos vinhos tintos. Também foram influenciadas pelo tempo as variáveis cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $H^*$  do vinho tinto, além dos índices  $A_{420}$ ,

$A_{520}$  e  $A_{620}$ , a densidade, intensidade e tonalidade de cor, a cor decorrente de antocianinas polimerizadas e a percentagem de contribuição dos taninos e antocianinas monoméricas à cor. A agitação não foi um fator determinante nas alterações ocorridas, uma vez que não se observou efeito ( $p > 0,05$ ) deste fator sobre as variáveis estudadas. Os resultados obtidos neste estudo indicam que o vinho sofre significativas alterações na sua composição físico-química durante a vida de prateleira secundária, sendo mais pronunciada em vinhos estocados em temperaturas maiores.

## ABSTRACT

FURTADO, Ariel Mansur Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2013. **Evolution of the physical-chemical composition and the color characteristics of wine during secondary shelf life.** Adviser: Paulo Henrique Alves da Silva. Co-advisers: Ellen Silva Lago Vanzela and Paulo Cesar Stringheta.

It is well known that wines can be stored in bottles during several years without suffering significant differences in their physical-chemical properties. But the moment that the bottle is opened, modifications on the profile of the chemical reactions in the wine occur, leading to physical, chemical and sensorial alterations in a short period of time. The physical-chemical composition and the chromatic characteristics of wines from grape varieties Riesling and Merlot were studied during secondary shelf life, which corresponds to the period of time between the opening of the bottle and its late consumption, with the intent of evaluating differences that occur due to the influence of the storage temperature, time and aeration upon several quality parameters. The samples were separated in different treatments, with difference in the storage temperature (5 and 20°C) and in the use of manual agitation of the bottle (without and with agitation) with the intention of intensifying the effects of oxidation through the forced incorporation of oxygen in the samples. The samples of white and red wines attended to the requirements of the Brazilian legislation as for alcohol content, total soluble solids, volatile and total acidity, ash, sulfites and the relationship TA/ESR, being classified as dry fine wine. No effect ( $p > 0,05$ ) was verified upon the storage temperature of any of the treatments of white wine. The storage temperature has shown effect basically upon the variables that influence the color of red wines, like the concentration of polymeric anthocyanins, the color intensity and tonality, besides the chromatic variables  $a^*$ ,  $C^*$ ,  $H^*$  and the indices  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  and  $A_{620}$ . The samples stored at 20°C presented a larger variation on these variables, indicating that the temperature is a factor that influences the quality of wines during secondary shelf life, especially on red wines. The time exercised influence ( $p < 0,05$ ) on the volatile, fixed and total acidity of white and red wines, besides the chromatic variables  $b^*$  and  $C^*$ . This effect was also observed on the content of monomeric, polymerized and total anthocyanins and the total polyphenolic content of red wine. The changes that occur on these classes of compounds influence the color characteristics of red wine. The chromatic variables  $L^*$ ,  $a^*$  and  $H^*$  of the red wine samples were also influenced by time, besides the indices  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  and  $A_{620}$ , the color density, intensity and tonality, the color due to

polymerized anthocyanins and the percentage of the contribution of tannins and monomeric anthocyanins to the color. The agitation was not a determinant factor on the changes that occurred in the wines, since there was no effect ( $p > 0,05$ ) of this factor upon the variables studied. The results obtained in this study indicate that wine suffers significant alterations in their physical-chemical composition during secondary shelf life, being more pronounced on wines stored under higher temperatures.

## 1. INTRODUÇÃO

O vinho é uma das bebidas mais antigas e tradicionais do mundo. Sua origem remonta há muitos milênios, mas somente após os estudos de Louis Pasteur, cientista francês considerado o pai da microbiologia moderna, que o processo de elaboração e qualidade de vinhos ganhou um grande impulso científico. A partir de então, foram realizados muitos estudos e trabalhos que contribuíram significativamente para que o setor vitivinícola atingisse os elevados patamares em que se encontra hoje no Brasil e no mundo.

O vinho possui uma composição química muito complexa, constituída principalmente por água, etanol, álcoois superiores, ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos, cetonas e compostos fenólicos. Estes grupos abrangem dezenas ou centenas de compostos químicos que, além de contribuírem individualmente para a qualidade dos vinhos, interagem entre si ao longo da sua maturação e envelhecimento, formando uma série de outros compostos que continuamente modificam as características físico-químicas e sensoriais da bebida. A diversidade destes compostos está relacionada com o tipo de uva, com o processo de elaboração do vinho e com as condições de armazenamento da garrafa. O oxigênio desempenha um papel fundamental nestes processos. Além de ser um elemento vital para a atividade das leveduras durante a fermentação alcoólica, participa ativamente da evolução do aroma, do sabor e da cor do vinho, através de reações de oxidação durante os períodos de maturação e envelhecimento.

O envelhecimento de vinhos em garrafas é uma prática relativamente recente, que surgiu apenas no século XVII. Até então, os vinhos já foram armazenados em diversos tipos de recipientes, entre eles vasilhames de couro, barro e cerâmica, e também nos tradicionais barris de madeira, onde era possível conservar o vinho por um período maior de tempo. Hoje em dia a garrafa de vidro é o principal recipiente utilizado para o envelhecimento e comercialização de vinhos, e é possível encontrar vinhos em garrafas de diversos tamanhos, formatos e cores. Entretanto, um antigo problema perdura até os dias de hoje: após a abertura da garrafa e exposição do vinho ao oxigênio, a ocorrência de alterações físico-químicas e sensoriais se dá em muito pouco tempo, levando o vinho a uma acentuada perda de qualidade.

É muito comum abrir uma garrafa de vinho e não consumi-la inteiramente. Após a abertura da garrafa, as reações químicas oxidativas se intensificam e os vinhos rapidamente perdem as suas características físico-químicas, sensoriais e nutricionais,

tornando-se impróprios para o consumo em um curto intervalo de tempo. Este tempo que se estende após a abertura de uma garrafa de vinho é conhecido como vida de prateleira secundária.

Até o momento há uma carência de relatos sobre as alterações nas características enológicas de vinhos brancos e tintos brasileiros durante a vida de prateleira secundária. Como vários vinhos brasileiros são comercializados em garrafões de grande volume, como o garrafão de 4,6 litros, estudos com essa ênfase tornam-se necessários para ajudar na conservação das características do produto durante o seu período de consumo.

Desta forma, o estudo do comportamento de vinhos durante a vida de prateleira secundária se constitui em uma importante ferramenta para melhor compreender o impacto da oxidação sobre a sua composição físico-química e de suas propriedades sensoriais. Este trabalho visou o estudo das alterações físicas e químicas que ocorrem em vinhos brancos e tintos brasileiros, das variedades de uva Riesling e Merlot, respectivamente, possivelmente associados à sua oxidação durante a vida de prateleira secundária, submetidos a diferentes condições de estocagem.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

Avaliar a composição físico-química e as características cromáticas de vinhos durante a vida de prateleira secundária, sob diferentes condições de estocagem.

### **2.2 Objetivos específicos**

Realizar a caracterização físico-química de vinhos brasileiros elaborados com as variedades de uva Riesling e Merlot, por meio de análises clássicas de teor alcoólico, densidade, concentração de sólidos solúveis totais, açúcares redutores, extrato seco e cinzas.

Avaliar a acidez volátil, fixa e total, o pH, o conteúdo de polifenóis totais, antocianinas monoméricas, poliméricas e totais, a capacidade antioxidante, a concentração de sulfito livre, combinado e total e as características cromáticas dos vinhos a partir das variáveis de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), bem como utilizando análises espectrofotométricas durante 16 dias da vida de prateleira secundária de vinhos estocados a 5°C e 20°C, sem e com agitação manual da garrafa durante 5 minutos por dia.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Composição química do vinho

No Brasil, a Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004, é a legislação vigente no que diz respeito à qualidade de vinhos. Essa legislação altera os dispositivos da lei nº 7.678, de 8 de Novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização de vinhos e derivados da uva e do vinho, e define o vinho como a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples de uva sã, fresca e madura (BRASIL, 1988b; BRASIL, 2004). Em uma definição bioquímica, o vinho é uma bebida fermentada que provém exclusivamente do mosto de uvas frescas, transformado inicialmente pela ação de leveduras e posteriormente por bactérias maloláticas, em um processo simbiótico (PEREIRA, 2007). Ainda segundo o autor, o vinho é uma bebida de grande complexidade química devido à natureza das moléculas presentes.

O constituinte majoritário do vinho é a água, representando cerca de 85 % do seu volume total. Como principal constituinte, a água exerce um papel fundamental no estabelecimento das características físicas, químicas e sensoriais do vinho. Além de governar as características básicas de escoamento do vinho, a água é um componente essencial presente em muitas reações químicas envolvidas durante o desenvolvimento e crescimento das uvas, a fermentação do mosto e o envelhecimento da bebida (JACKSON, 2008).

O etanol, produzido durante a fermentação alcoólica, constitui-se como o álcool mais importante do vinho. Posteriormente à água, é o composto mais abundante presente no vinho, sendo de fundamental importância para a estabilidade, envelhecimento e para as suas características sensoriais. Além de inibir a ação de micro-organismos indesejáveis na fermentação, age como um solvente para a extração de pigmentos e taninos durante a vinificação de uvas tintas e é capaz de dissolver compostos voláteis durante a fermentação e maturação do vinho, evitando a perda destes compostos durante estes processos (JACKSON, 2008).

Os aldeídos, por sua vez, são importantes contribuintes para a qualidade sensorial dos vinhos. A sua presença se relaciona com o grau de aeração a qual foi submetido o vinho. No vinho branco, por exemplo, quando é detectada uma concentração de aldeídos acima de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , infere-se que este foi arejado ou oxidado. Já o vinho tinto chega a apresentar concentrações de aldeídos menores que 50

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  em razão da presença de taninos e antocianinas, os quais ajudam a impedir a oxidação do etanol e glicerol em aldeídos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

O acetaldeído é um aldeído derivado da reação de oxidação do etanol e é um importante intermediário nas reações químicas que ocorrem no vinho tinto, que podem resultar em alterações de cor e de aroma (OLIVEIRA et al., 2011). Tradicionalmente, é considerado um elemento que possui um sabor e odor ofensivo, transmitindo amargor e um aroma oxidado ao vinho. Entretanto, Escudero et al. (2002) e Kilmartin (2009) mostraram que a sua concentração não varia muito durante a oxidação e que ele não é responsável pelo sabor e aroma de vinhos deteriorados.

Os compostos fenólicos constituem um grande grupo de substâncias complexas que são de particular importância para as características sensoriais e cromáticas do vinho, especialmente no vinho tinto, uma vez que estão presentes em concentrações mais altas que nos vinhos brancos ( $1$  a  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $0,2$  a  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente) (KILMARTIN, 2009; KARBOWIAK et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011). Estes compostos presentes no vinho podem ser oriundos das próprias uvas, pelo metabolismo de micro-organismos ou até mesmo extraídos da madeira dos barris durante a maturação (JACKSON, 2008).

Os compostos fenólicos dos vinhos podem ser agrupados em dois grandes grupos, em função da sua estrutura de carbono: os flavonoides e os não flavonoides. Do primeiro grupo fazem parte os flavan-3-óis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas. Ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos, além de outros derivados fenólicos, como os estilbenos (figura 1) (MONAGAS et al., 2006; LOPES et al., 2007; KARBOWIAK et al., 2010). Nos vinhos tintos, os compostos predominantes são os ácidos fenólicos, resveratrol, flavonóis, procianidinas (taninos) e antocianinas. Estes compostos contribuem para o sabor, o aroma e a cor dos vinhos (MONAGAS et al., 2005).

O perfil dos compostos fenólicos presentes em vinhos é dependente de uma série de fatores que incluem a espécie e a variedade da uva, localização do plantio, sistema de cultivo, clima, solo, forma de extração dos compostos fenólicos e tipo de processo empregado, bem como também são influenciados pelas reações químicas e enzimáticas que se iniciam com o esmagamento das uvas e ocorrem durante todo processo de elaboração, maturação e envelhecimento dos vinhos. Monagas et al. (2006) estudaram a evolução de compostos fenólicos durante o envelhecimento de vinhos tintos e observaram que houve uma diminuição na concentração de polifenóis totais,

sugerindo que estes compostos participam de numerosas reações químicas, formando estruturas mais complexas que influenciam na cor dos vinhos. Resultados similares foram observados por Recamales et al. (2006) após envelhecimento de vinhos brancos engarrafados por 1 ano. Segundo os autores essa diminuição do conteúdo de compostos fenólicos está relacionada com as mudanças de cor observada nos vinhos.

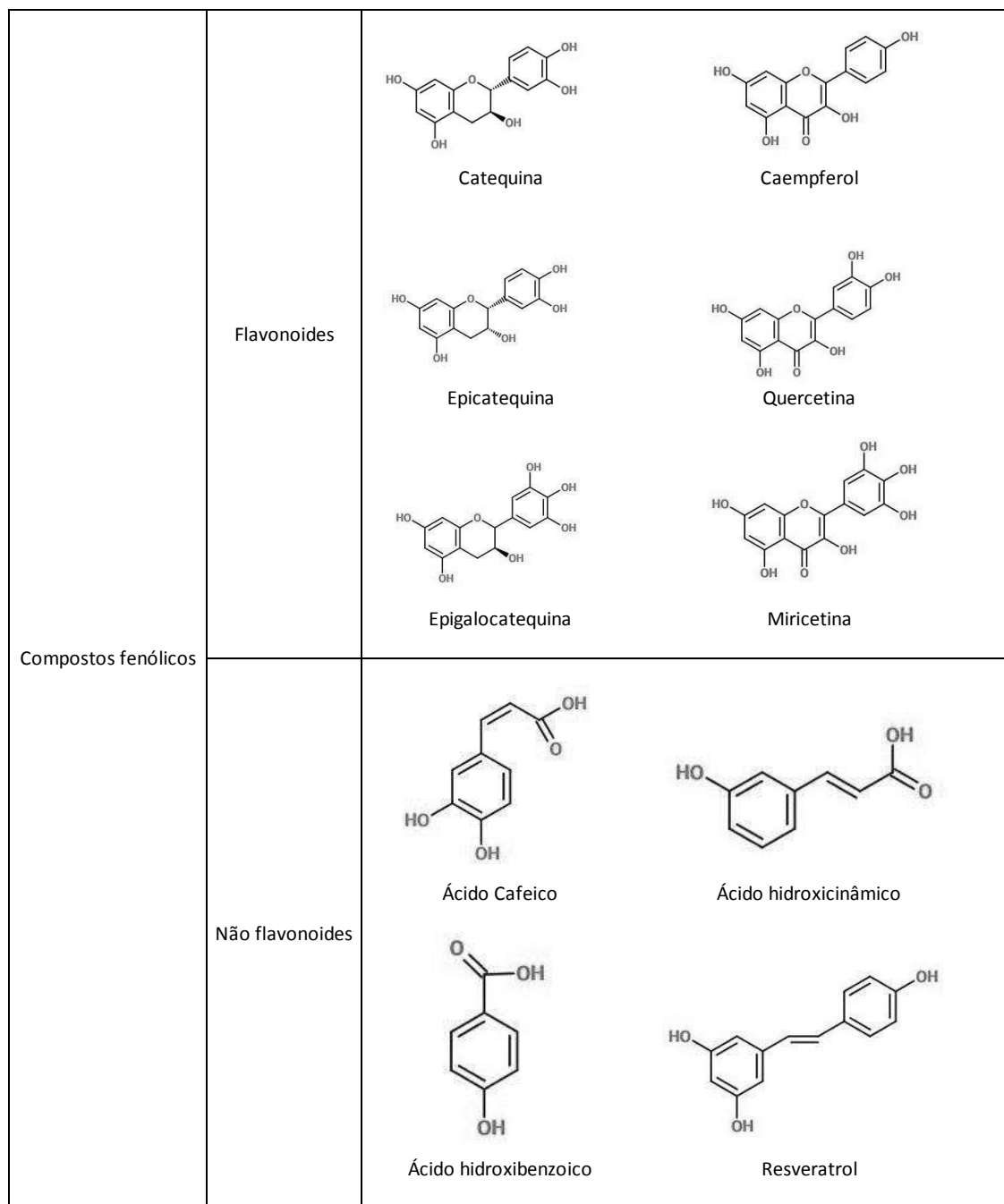


Figura 1 - Exemplos de compostos fenólicos presentes em vinhos

Os taninos são compostos fenólicos que exercem influência sobre a cor e a sensação de adstringência dos vinhos. Essas substâncias se complexam com as mucoproteínas existentes na saliva promovendo a sensação tátil bucal da adstringência

(AMERINE et al., 1983). Mas além dos taninos, existem outros compostos fenólicos responsáveis pela coloração de vinhos, as antocianinas.

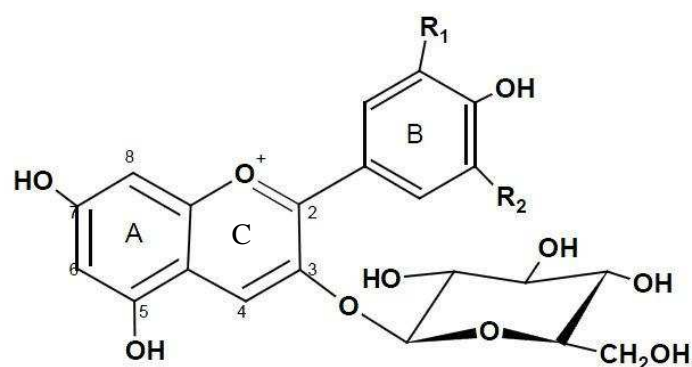
As antocianinas estão majoritariamente presentes em vinhos tintos. Isto porque o processo de elaboração desses vinhos é realizado com a presença da casca da uva, local onde são encontrados esses pigmentos. No caso dos vinhos brancos, o processo de vinificação é realizado sem a presença das cascas e a cor amarelada típica desses vinhos é determinada pela oxidação de compostos fenólicos durante a fermentação e envelhecimento do vinho (AMERINE et al., 1986). A coloração amarelada dos vinhos brancos está diretamente relacionada com a região de procedência da uva, com a tecnologia de vinificação empregada, com o grau de oxidação e com o período de envelhecimento do vinho (LONA, 1996; CASTILHOS et al., 2011).

A estrutura básica das antocianinas é a aglicona, denominada antocianidina. Na literatura já foram mencionadas 23 antocianidinas que diferem entre si pelo número e posição dos grupos hidroxilas e/ou metoxilas. Porém, nas uvas é mais frequentemente encontrada a cianidina, a peonidina, a delfinidina, a petunidina e a malvidina. Na natureza, de uma forma geral, estas antocianidinas encontram-se unidas a uma ou mais moléculas de açúcar, sendo a glicose o açúcar majoritário, por meio de uniões hemiacetálicas. De acordo com o número de açúcares ligados a antocianidina, as antocianinas formadas podem ser classificadas como mono, di e triglicosídeos, sendo as posições mais frequentes de união entre estas moléculas a C-3 do anel C e a C-5 do anel A (figura 2) (MALACRIDA et al., 2006; LOPES et al., 2007; CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009; KARBOWIAK et al., 2010; RODRIGUES, 2011).

Diversas pesquisas são focadas na determinação da composição e do conteúdo de antocianinas presentes nas uvas e nos vinhos. Diferenças qualitativas marcantes entre as antocianinas das uvas de *Vitis vinífera* e as uvas americanas e híbridas complexas são relatadas na literatura. Nas uvas de *Vitis vinífera* e nos vinhos correspondentes são identificadas predominantemente as antocianinas monoglicosiladas, enquanto a presença de antocianinas diglicosiladas é característica dominante das espécies americanas e híbridas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003; GUERRA, 2005).

As antocianinas são os principais pigmentos responsáveis pela tonalidade vermelho-azulada dos vinhos tintos (ESPARZA et al., 2006). Suas formas monoméricas são as responsáveis pela cor vermelho-púrpura ou azulada dos vinhos tintos jovens e contribuem para o desenvolvimento dos pigmentos poliméricos vermelhos durante o envelhecimento (LÓPEZ et al., 2008; SANTOS, 2011). Isto

porque as antocianinas originalmente encontradas nas uvas são relativamente instáveis e rapidamente reagem com outros compostos do mosto, bem como com outros procedentes das leveduras ou gerados durante o armazenamento em barris de madeira, dando lugar a novos pigmentos com diferenciadas estruturas químicas (VIVAR-QUINTANA et al., 2002; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2005). Diversas reações químicas decorrentes desta oxidação e a posterior polimerização dos produtos oxidados são responsáveis por alterações significativas nas características sensoriais dos vinhos (LI et al., 2008).



Aglicona (Estrutura do anel B)	Substituição glicosídica (substituição nas posições 3 e 5)	Acilação (esterificação das hidroxilas do açúcar)
$R_1 = R_2 = H$	Pelargonidina	Ácidos cinâmicos
$R_1 = OH, R_2 = H$	Cianidina	p-cumárico
$R_1 = R_2 = OH$	Delfinidina	Ferúlico
$R_1 = OCH_3, R_2 = H$	Peonidina	Caféico
$R_1 = OCH_3, R_2 = OH$	Petunidina	
$R_1 = R_2 = OCH_3$	Malvidina	Ácidos alifáticos
	D-glicose	Acético
	D-galactose	Malônico
	D-xilose	Succínico
	L-ramnose	
	L-arabinose	
	Rutinose	
	Soforose	
	Sambubiose	
	Gentiobiose	

Figura 2 - Estrutura química das antocianinas com possíveis uniões hemiacetálicas nas posições C3 do anel C e C5 do anel A (MALACRIDA et al., 2006)

As interações moleculares das antocianinas com outros compostos afetam a sua estabilidade e, desta forma, contribuem para a enorme variedade de cores que estes pigmentos exibem (HEREDIA et al., 1998). Dentre elas, a copigmentação intermolecular consiste numa interação molecular por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre as antocianinas e outras moléculas (não coradas) que atuam como copigmentos, que incluem os taninos, ácidos fenólicos, alcaloides, aminoácidos e ácidos orgânicos. Este processo resulta em uma intensificação da cor (efeito hiperacrômico) que poderá ser acompanhada por um deslocamento do

comprimento de onda máximo para valores superiores (efeito batocrômico), isto é, do vermelho para o azul (DAVIES et al., 1993; FERNANDES, 2007; SANTOS, 2011; LAGO-VANZELA et al., 2013).

Embora seja um fenômeno tipicamente aquoso, a copigmentação determina a intensa cor vermelho-púrpura nos vinhos jovens. Sugere-se que seja o primeiro passo para a subsequente e mais estável ligação covalente, levando à formação de antocianinas poliméricas, que são os principais pigmentos presente nos vinhos envelhecidos. Essa evolução das antocianinas monoméricas para as poliméricas significa a perda da intensidade da cor vermelha e uma mudança da tonalidade do vermelho para o vermelho-púrpuro, e deste para o vermelho-amarelado (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2005; SANTOS, 2011).

Durante o envelhecimento dos vinhos a oxidação dos compostos fenólicos também pode levar a mudanças nos níveis de capacidade antioxidante, como uma consequência das mudanças no seu equilíbrio redox (KALLITHRAKA et al., 2009). A capacidade antioxidante é a propriedade do vinho mais estudada com relação aos benefícios que o consumo de vinhos pode proporcionar à saúde humana. Ela tem sido atribuída ao conteúdo de compostos fenólicos presentes, principalmente à fração de flavonoides (antocianinas, flavonóis e flavanóis) (RIVERO-PÉREZ et al., 2008).

A capacidade antioxidante pode ser medida através do monitoramento da inibição da oxidação de um substrato sensível. Após a oxidação do substrato, sob condições padrões, a extensão da oxidação é medida por métodos químicos, sensoriais ou instrumentais. Como se trata de várias reações e mecanismos, um único teste não reflete toda a capacidade antioxidante de um sistema. Dessa forma, para determinar um perfil completo da capacidade antioxidante, é importante trabalhar com mais de um método (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; LI, et al., 2009; LIMA, 2012). Os métodos mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante incluem a capacidade de absorbância do radical oxigênio (ORAC), o poder de redução (FRAP) e o poder em sequestrar radicais livres, como os testes de ABTS e DPPH.

A acidez também é uma variável importante para a determinação da qualidade do vinho (RIZZON et al., 1999). A acidez do vinho é decorrente, principalmente, da presença de alguns ácidos, como o tartárico, o acético, o málico e o cítrico. A sua divisão em acidez volátil, acidez fixa e acidez total se faz necessária para distinguir as propriedades sensoriais do vinho (JACKSON, 2008).

A acidez volátil está associada à presença de ácido acético em vinhos, que se dá principalmente por ser um subproduto da fermentação de leveduras e bactérias. A

sanidade do vinho está veiculada aos baixos teores de acidez volátil, indicando a ausência de ataques bacterianos que, porventura, possam promover a oxidação do álcool existente no meio ou a degradação do ácido cítrico, açúcares e glicerol (ZOECKLEIN et al., 1995). A acidez volátil é representada pelos ácidos da série acética, além de ácidos graxos como o ácido fórmico, butírico e propiônico. Segundo Bartowsky et al. (2008), quando presente em concentrações acima de  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , o ácido acético transfere um aroma indesejável em alguns tipos de vinho de mesa seco.

A acidez fixa se refere a todos os ácidos orgânicos que não estão incluídos nesta categoria de ácidos voláteis. Nas uvas, os ácidos tartárico e málico constituem mais de 90 % da acidez fixa (JACKSON, 2008). Quantitativamente, esses ácidos controlam o pH do vinho e desempenham um papel fundamental na preservação do baixo valor de pH e da estabilidade da cor de vinhos tintos. O pH, por sua vez, é importante para manter os compostos fenólicos em equilíbrio, entre as formas de fenol e o ânion fenolato. Devido ao alto valor de  $\text{pK}_a$  (9 a 10), a forma protonada é favorecida no pH normal do vinho (3,4 - 3,6). Desta forma, vinhos com maiores valores de pH são mais susceptíveis a problemas relacionados com oxidação (KILMARTIN, 2009; KARBOWIAK et al., 2010).

Os açúcares redutores apresentam-se como substâncias que não foram transformadas em álcool etílico pela ação das leveduras no processo fermentativo, sendo, em sua maioria, pentoses da classe das xiloses e arabinoses (AMERINE et al., 1986). Esses açúcares são responsáveis pela doçura do vinho que, no caso de vinhos secos, não pode ultrapassar o limite de  $5,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (BRASIL, 2004).

O extrato seco é uma das propriedades físico-químicas dos vinhos que, em geral, se relaciona com os compostos que são responsáveis pelo corpo e estruturação da bebida. O extrato seco pode ser utilizado como uma importante característica para avaliar o vinho de uma determinada região vitícola, a qualidade da uva e o sistema de vinificação (RIZZON et al., 1996; CASTILHOS et al., 2011).

O dióxido de enxofre é o conservante químico mais utilizado na indústria de vinhos. Devido ao seu efeito antioxidante e antimicrobiano, ele é adicionado inicialmente ao mosto para inibir as enzimas que catalisam reações de oxidação e que, conseqüentemente, causam o escurecimento de vinhos (COETZEE, 2011). Este composto reduz a ocorrência de reações de escurecimento em vinhos. Reage, por exemplo, com o peróxido de hidrogênio e o acetaldeído, que são necessários para a ocorrência de reações de condensação, e também reage prontamente com antocianinas, inibindo a produção de pigmentos poliméricos (DANIELEWICZ, 2007).

Parte do sulfito adicionado pode se ligar reversível ou irreversivelmente a outras moléculas presentes na matriz, como aldeídos, cetonas, açúcares, taninos e proteínas, originando diferentes formas combinadas de sulfito, o que resulta em uma diminuição das concentrações de dióxido de enxofre livre e total dos vinhos durante o tempo. O sulfito combinado é normalmente representado pela proporção do aditivo que está na forma de adutos hidroxissulfonados, formados pela reação de grupos carbonilas com o íon  $\text{HSO}_3^-$  (LI et al., 2008; SALACHA et al., 2008; KILMARTIN, 2009; OLIVEIRA et al., 2011).

A fração do sulfito que não se liga a outros compostos do vinho é definida como sulfito livre, constituindo uma mistura de  $\text{SO}_2$  molecular, íons sulfito e íons bissulfito em um equilíbrio químico dinâmico. Essa fração é convertida rapidamente em dióxido de enxofre molecular quando o vinho sulfitado é acidificado (MACHADO et al., 2006). A reatividade dos sulfitos deve-se à elevada nucleofilicidade do íon bissulfito (WEDZICHA, 1992).

### **3.2 Efeitos da oxidação sobre os compostos fenólicos e cor do vinho**

Muitos dos constituintes do vinho são susceptíveis à oxidação durante o seu processo de elaboração, maturação e envelhecimento (LI et al., 2008). A oxidação é um processo onde ocorre a transferência de elétrons entre duas espécies, uma que será reduzida e outra que será oxidada. O oxigênio é o principal precursor de reações de oxidação de vinhos (DU TOIT et al., 2006; GÓMEZ-PLAZA et al., 2011).

Sob condições normais de temperatura e pressão, o oxigênio existe como um elemento gasoso, representando 20,9 % da atmosfera terrestre. A forma mais estável do oxigênio, também conhecida como oxigênio triplete ( $^3\text{O}_2$ ), é um di-radical contendo dois elétrons em orbitais moleculares diferentes com rotações paralelas. Nesta configuração eletrônica o oxigênio não consegue reagir diretamente com a maioria das moléculas orgânicas, embora ele possa reagir com radicais livres presentes no meio (KARBOWIAK et al., 2010).

A forma mais reativa do oxigênio é o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), formado pela excitação do oxigênio triplete por uma fonte química, térmica ou luminosa. Embora não seja um radical livre, esta espécie de oxigênio é altamente eletrofílica e facilmente estabelece ligações químicas com outras moléculas através de reações de oxidação (KARBOWIAK et al., 2010). Como agente oxidante, o oxigênio pode ser reduzido a diversos intermediários até formar  $\text{H}_2\text{O}_2$  e depois água. Essa reação leva à formação

dos radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e peróxido ( $O_2^{2-}$ ), que têm maior potencial oxidante que o  $O_2$  e, por conseguinte, podem ser reduzidos diretamente por alguns dos compostos presentes no vinho (DU TOIT et al., 2006).

Dentre os constituintes do vinho, os mais prontamente oxidáveis são os compostos fenólicos (LI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011). Esses compostos são excelentes doadores de hidrogênio e, conseqüentemente, atuam como antioxidantes na tentativa de estabilizar os radicais instáveis produzidos durante o processo de oxidação. No entanto, as reações de oxidação que ocorrem durante o processo de elaboração e envelhecimento de vinhos podem ser de origem enzimática ou não enzimática, dependendo do mecanismo inicial da reação (RECAMALES et al., 2006; KARBOWIAK et al., 2010).

A oxidação enzimática dos compostos fenólicos presentes, tanto em uvas tintas quanto em uvas brancas, ocorre principalmente nos estágios iniciais da vinificação em decorrência da presença natural de enzimas oxidativas pertencentes à classe das oxirredutases. As principais enzimas envolvidas neste processo são a polifenol oxidase (PPO) e a peroxidase (POD). Estas enzimas podem catalisar reações oxidativas na etapa de esmagamento, onde o mosto entra em contato com o oxigênio e o desenvolvimento de pigmentos escuros torna-se potencializado (OLIVEIRA et al., 2011).

A PPO é um termo genérico utilizado para representar três diferentes enzimas: lacase, catecolase e cresolase, sendo as duas últimas também conhecidas, quando atuando em conjunto, como tironase. A atividade da catecolase é particularmente alta em uvas tintas (RAPEANU et al., 2006; NÚÑEZ-DELICADO et al., 2007) enquanto escassos relatos são observados na literatura quanto à cresolase (ESPÍN et al., 1995; SELINHEIMO et al., 2007). Já a lacase encontra-se presente nas frutas, em grande parte, devido a contaminações fúngicas (ANISZEWSKI et al., 2008). A reação da cresolase catalisa a o-hidroxilação de monofenóis a o-difenóis enquanto a reação da catecolase catalisa a desidrogenação de o-difenóis a o-quinonas (KOBAYASHI et al., 1987; RAPEANU et al., 2006).

Os flavonoides o-difenóis glicosilados (tal como antocianinas e flavonóis) e procianidinas não estão usualmente envolvidos de forma direta nas reações catalisadas pela catecolase. Em contrapartida, estes compostos podem ser oxidados diretamente pela lacase ou pela peroxidase. Além disso, os o-difenóis glicosilados podem ser hidrolisados por  $\beta$ -glicosidases para suas respectivas agliconas, que são substratos potenciais para outras enzimas como a catecolase, a peroxidase e/ou a lacase,

acelerando o processo de degradação dos compostos. Após a fermentação alcoólica, a atividade da PPO decresce e as reações químicas que levam ao escurecimento de vinhos estão mais relacionadas com a oxidação não enzimática (RECAMALES et al., 2006).

A oxidação não enzimática, também denominada oxidação química, ocorre com mais frequência no vinho durante as etapas de maturação e envelhecimento. Essa reação direta do oxigênio com os compostos orgânicos é muito improvável devido à acidez do vinho. No entanto, na presença de metais de transição, principalmente o ferro e o cobre, a energia de ativação para a ocorrência dessa reação decresce e torna-se possível iniciar a reação, desencadeando todo o processo de oxidação (DU TOIT et al., 2006). Os o-difenóis, principalmente o ácido cafeico, catequina, antocianinas e ácido gálico são considerados os compostos mais susceptíveis de sofrer oxidação não enzimática no vinho. Estes compostos são oxidados a o-quinonas e radicais livres são produzidos, ao passo que o oxigênio é reduzido a peróxido de hidrogênio (figura 3) (KARBOWIAK et al., 2010)

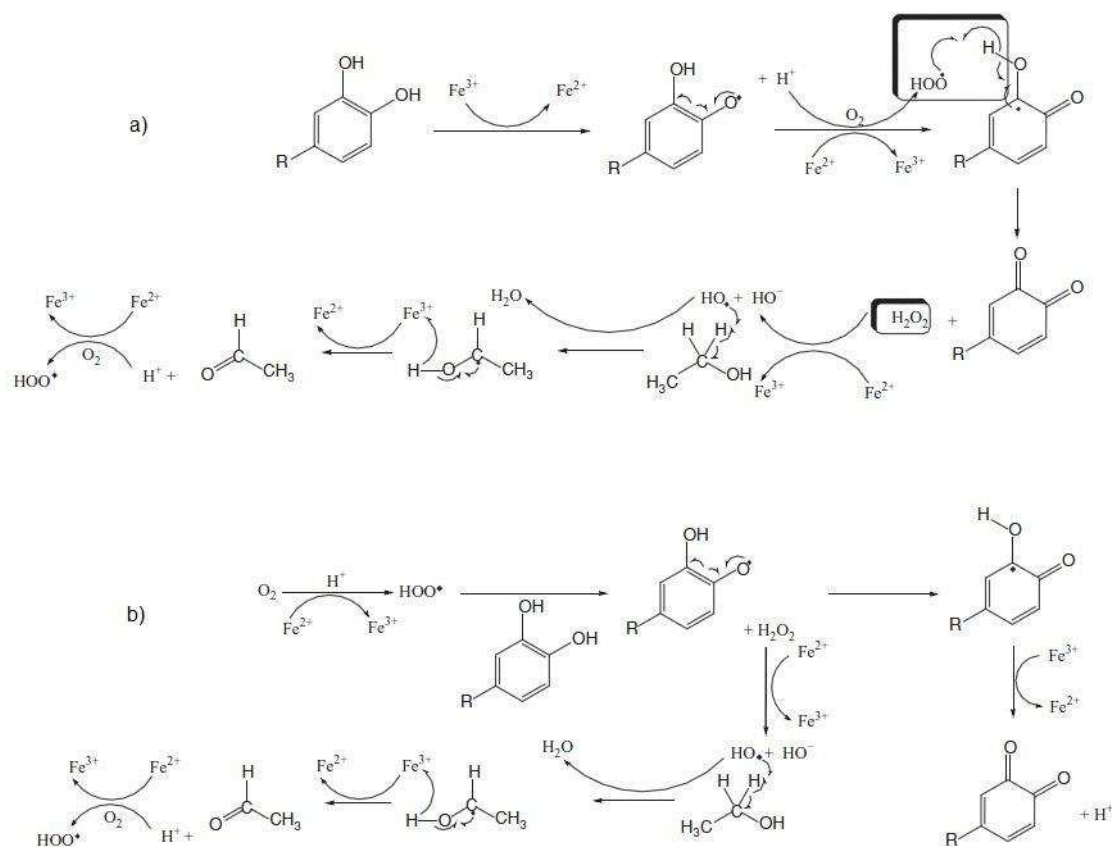


Figura 3 - Oxidação não enzimática de um o-difenol na presença de metais de transição (a) e induzida pelo oxigênio (b), resultando na formação de quinonas, acetaldeído e peróxido de hidrogênio (KARBOWIAK et al., 2010)

As quinonas, por sua vez, são compostos instáveis capazes de oxidar espontaneamente outras substâncias da uva e do mosto (metais, aminoácidos e proteínas), que não são substratos para as enzimas oxidativas (oxidação acoplada), formando novos compostos (KARBOWIAK et al., 2010). Os dímeros e polímeros produzidos durante a oxidação têm potencial redox menor do que os compostos fenólicos que os originaram, o que os tornam mais propensos a sofrerem oxidação adicional, acelerando as reações de polimerização dos compostos fenólicos (LI et al., 2008). Nesse processo, os dímeros e polímeros formados podem sofrer novos rearranjos estruturais através de reações de condensação, que levam à formação de pigmentos escuros e insolúveis de melanina (KARBOWIAK et al., 2010).

Enquanto isso ocorre, mais  $H_2O_2$  é produzido e mais etanol é oxidado a acetaldeído, na presença de metais de transição, e alguns compostos fenólicos que originalmente não são facilmente oxidáveis podem sofrer oxidação através de uma dessas moléculas reativas formadas nesse processo (KARBOWIAK et al., 2010). As reações de escurecimento ocorrem mais rapidamente em vinhos jovens, onde há uma maior presença de polifenóis monoméricos que reagem com acetaldeído e ácido glioxílico, promovendo reações de condensação (MCRAE et al., 2012).

Os flavan-3-óis e antocianinas estão dispostos em uma forma não polimerizada em vinhos jovens. Durante o envelhecimento dos vinhos, esses compostos sofrem várias reações diferentes de polimerização, onde o oxigênio desempenha um papel fundamental (LEE et al., 2011). Em vinhos tintos, por exemplo, essas reações são tipicamente caracterizadas pelo progressivo desaparecimento de antocianinas monoméricas e pelo aparecimento de complexos envolvendo taninos e outras moléculas polimerizadas. Essas reações são responsáveis por modificações na cor dos vinhos (FULCRAND et al., 2005; MONAGAS et al., 2005).

A cor, de uma maneira geral, é um conceito de difícil caracterização objetiva. Em 1976, a Comissão Internacional de Iluminação, também conhecida como CIE, do francês Commission Internationale de l'Eclairage, estabeleceu normas, aceitas hoje internacionalmente, destinadas à definição de cor. Estas normas fazem referência às características dos iluminantes (iluminante D65), às condições de observação (observador CIE64, de 10° de campo visual) e às curvas espectrais de sensibilidade do olho normal para três estímulos luminosos convencionalmente denominados X, Y e Z (SANTOS, 2011).

A partir daí foi estabelecido um sistema tridimensional com três coordenadas, conhecido como o espaço CIE  $L^*a^*b^*$ , representado na figura 4. A coordenada  $L^*$

indica a luminosidade e varia de 0 (preto) a 100 (branco), a coordenada  $a^*$  indica os tons que variam do verde ( $-a^*$ ) ao vermelho ( $+a^*$ ) e a coordenada  $b^*$  indica os tons que variam do azul ( $-b^*$ ) ao amarelo ( $+b^*$ ).

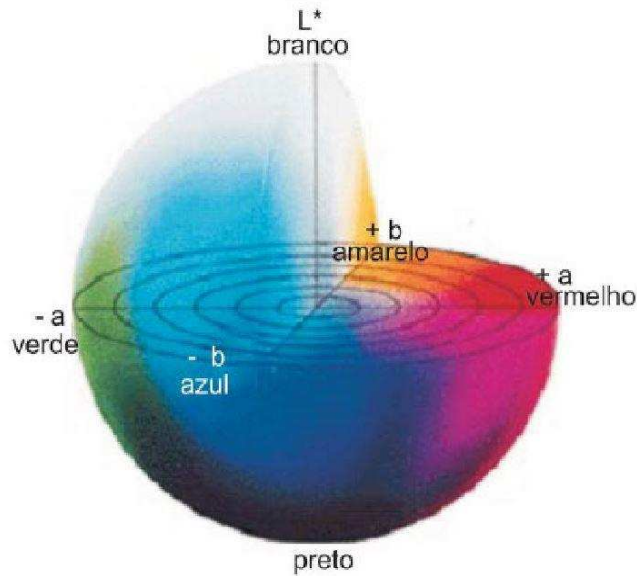


Figura 4 - Sistema tridimensional de cores: Espaço CIE  $L^*a^*b^*$

Com os valores de  $a^*$  e  $b^*$  podem-se calcular os parâmetros de cromaticidade ( $C^*$ ) e hue ( $H^*$ ), representados na figura 5. A cromaticidade, também chamado de cromia ou saturação, expressa a pureza da cor. Cores com baixa saturação são denominadas pálidas enquanto que as cores com alta saturação são denominadas saturadas. O hue, também chamado de ângulo de tonalidade, é o que caracteriza a qualidade da cor, que está associada ao comprimento de onda do espectro visível (SANTOS, 2011).

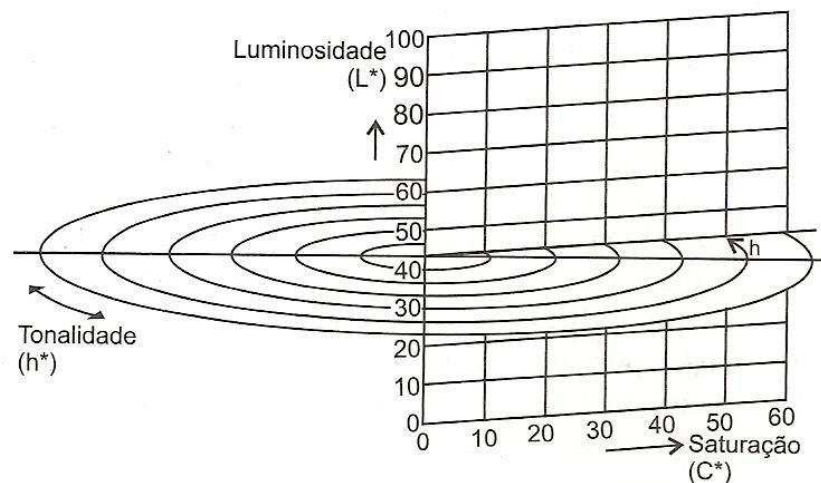


Figura 5 - Representação gráfica da cromaticidade ( $C^*$ ) e do hue ( $H^*$ )

A cor dos vinhos tintos é definida principalmente pelas antocianinas e por compostos monoméricos e poliméricos. Durante a maturação e o envelhecimento, os compostos fenólicos estão sujeitos a diversas transformações químicas devido a reações de oxidação, condensação, polimerização e complexação com outros compostos, tais como proteínas, polissacarídeos ou metais. As antocianinas e os taninos vão sendo progressivamente transformados em pigmentos oligoméricos e poliméricos mais estáveis e com características físico-químicas distintas dos seus precursores, contribuindo para a alteração das características sensoriais e da cor dos vinhos (MONAGAS et al., 2005; SANTOS, 2011).

### **3.3 Efeito do tempo e da temperatura durante o envelhecimento e a vida de prateleira secundária do vinho**

O vinho é um sistema muito complexo, capaz de modificar a sua composição química de diversas maneiras durante o período de envelhecimento. Em condições ótimas de umidade e temperatura, os vinhos podem ser conservados em garrafas em função de sua variedade, do tempo de envelhecimento e das condições de estocagem. A temperatura ideal de armazenamento das garrafas situa-se entre 10°C e 15°C, sendo que temperaturas mais elevadas aceleram o envelhecimento dos vinhos e temperaturas menores retardam a sua evolução (SAMPAIO, 2008; KALLITHRAKA et al., 2009). De maneira análoga, essas condições podem ser determinantes para o desenvolvimento das características do vinho durante a vida de prateleira secundária. Embora a maioria dos estudos que envolvem a oxidação de vinhos está relacionada com a maturação e o envelhecimento de vinhos (DE BEER et al., 2005; MONAGAS et al., 2006; KALLITHRAKA et al., 2009), alguns estudos já descreveram alterações em vinhos durante a vida de prateleira secundária (MAYÉN et al., 1997; FU et al., 2009; LEE et al., 2011).

O armazenamento do vinho em garrafas é um importante fator para a evolução da qualidade de vinhos tintos, porém, em vinhos brancos pode contribuir para a deterioração da sua qualidade e a alterações de cor, devido às reações de escurecimento (KALLITHRAKA et al., 2009). Em vinhos brancos, o escurecimento é caracterizado pelo aparecimento progressivo de uma coloração marrom-amarelada que pode ser caracterizada pela sua absorvância a 420 nm ( $A_{420}$ ) (FU et al., 2009; KARBOWIAK et al., 2010).

De Beer et al., (2005) observaram alterações no conteúdo de polifenóis totais e na capacidade antioxidante de vinhos brancos e tintos em diferentes temperaturas (0, 15 e 30°C) durante 12 meses de estocagem em garrafa. Durante este período houve uma diminuição no conteúdo de polifenóis totais e na capacidade antioxidante das amostras. Os autores observaram que o decréscimo do conteúdo de polifenóis totais ocorreu mais rapidamente nas amostras estocadas em temperaturas maiores. A temperatura também teve um efeito significativo na concentração de antocianinas. O aumento da temperatura acelerou o decréscimo do conteúdo de antocianinas monoméricas e totais nas amostras.

Monagas et al. (2006) estudaram a evolução do conteúdo de compostos fenólicos em vinhos tintos durante 26 meses de envelhecimento em garrafas e observaram uma diminuição na concentração de antocianinas totais e de polifenóis totais durante este período. O decréscimo da concentração de antocianinas totais observado nas amostras se deve à participação das antocianinas monoméricas em numerosas reações de condensação e de hidrólise durante a estocagem na garrafa.

Kallithraka et al. (2009) estudaram a qualidade de vinhos brancos engarrafados durante nove meses e compararam os resultados com o modelo de envelhecimento acelerado proposto por Sigleton e Kramling (1976), que consiste na leitura da  $A_{420}$  de vinhos estocados em banho-maria a 55°C. Eles observaram que a maioria dos compostos fenólicos diminui sua concentração com o tempo, enquanto que uma pequena fração se mantém inalterada. Alguns compostos, como o ácido gálico, aumentaram a sua concentração. Este decréscimo na concentração de polifenóis totais pode ser causado por um aumento de reações de condensação e polimerização, pois esses processos são parcialmente reversíveis devido a reações de hidrólise ácida que resultam em compostos monoméricos. Temperaturas elevadas também podem contribuir para a degradação de compostos fenólicos.

Mayén et al. (1997) estudaram a evolução de compostos fenólicos em vinhos brancos engarrafados estocados a 50°C durante 14 semanas, sendo que a partir da 12ª semana os vinhos foram abertos, a fim de se avaliar os efeitos durante a vida de prateleira secundária, e observaram um aumento do índice de polifenóis totais durante todo o período avaliado, inclusive durante a vida de prateleira secundária. Também observaram um ligeiro aumento no índice  $A_{420}$  até a 12ª semana de estocagem, porém, após a abertura das garrafas, houve um aumento acelerado deste índice até a 14ª semana, indicando que as reações de escurecimento ocorrem mais intensamente em vinhos quando expostos em condições aeróbicas.

Fu et al. (2009) avaliaram o efeito da temperatura (22, 35 e 45°C), do tempo (48, 30 e 15 dias) e do tipo de embalagem (Bag-in-Box) na qualidade de vinhos brancos durante a vida de prateleira secundária e observaram um maior aumento nos valores da  $A_{420}$  nas amostras de vinhos estocados em temperaturas maiores. Esse comportamento provavelmente se deve à condensação de compostos fenólicos, formando pigmentos escuros que modificam a cor dos vinhos.

O aumento da  $A_{420}$  já foi observado em estudos anteriores e tem sido correlacionado com a diminuição das concentrações de  $SO_2$  livre e total (WATERS et al., 1996; GODDEN et al., 2001). Fu et al. (2009) observaram uma forte correlação positiva entre a  $A_{420}$  e a concentração de  $SO_2$  livre com o aumento da temperatura de estocagem, indicando que o desenvolvimento de cor ficou mais fortemente relacionado à diminuição da concentração de  $SO_2$  livre em temperaturas maiores, quando comparado com temperaturas ambientais.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Coleta das amostras**

Vinhos finos das variedades de uva branca Riesling e de uva tinta Merlot foram adquiridos diretamente dos produtores, em garrações de vidro de 4,6 litros. Os vinhos foram produzidos em São Marcos, Rio Grande do Sul.

### **4.2 Delineamento experimental**

Todos os garrações de vinho foram abertos e mantidos abertos por um período de 16 dias. Os tratamentos a que foram submetidos os vinhos, em função dos objetivos experimentais, estão descritos abaixo. A agitação dos vinhos foi realizada manualmente, de maneira vigorosa e uniforme durante 5 minutos, sempre realizado no mesmo horário de cada dia, durante todo o período experimental.

- B<sub>1</sub> - Vinho branco estocado a 5°C sem agitação
- B<sub>2</sub> - Vinho branco estocado a 5°C com agitação
- B<sub>3</sub> - Vinho branco estocado a 20°C sem agitação
- B<sub>4</sub> - Vinho branco estocado a 20°C com agitação
- T<sub>1</sub> - Vinho tinto estocado a 5°C sem agitação
- T<sub>2</sub> - Vinho tinto estocado a 5°C com agitação
- T<sub>3</sub> - Vinho tinto estocado a 20°C sem agitação
- T<sub>4</sub> - Vinho tinto estocado a 20°C com agitação

As análises físico-químicas foram divididas em dois grandes grupos. Ao primeiro fazem parte as análises de caracterização do vinho, que tem como objetivo fazer uma caracterização físico-química dos vinhos estudados, que foram realizadas logo após a abertura dos garrações de vinho. Ao segundo grupo fazem parte as análises de acompanhamento da vida de prateleira secundária do vinho, que tem como objetivo quantificar as principais alterações que ocorrem nos vinhos durante este período.

Para a realização das análises de acompanhamento da vida de prateleira secundária dos vinhos, foram coletadas, em dias pré-determinados, 500 mL de vinho de cada tratamento. Estas análises foram realizadas nos dias 0, 1, 2, 4, 8, 11 e 16, sendo o

dia 0 o dia da abertura das garrafas. As análises de capacidade antioxidante dos vinhos foram realizadas nos dias 3, 8 e 14, e para a sua realização foram coletadas dos respectivos garrafões apenas 50 mL de amostra.

O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado disposto em parcelas subdivididas, sendo na parcela um fatorial 2 x 2 com os fatores agitação (sem e com) e temperatura de armazenamento (5°C e 20°C) e na subparcela o tempo de estocagem (0, 1, 2, 4, 8, 11, 16 dias) para cada tipo de vinho (branco e tinto). Todo o experimento foi realizado em três repetições.

### **4.3 Métodos utilizados para as análises de caracterização dos vinhos**

As análises físico-químicas dos vinhos foram realizadas no Laboratório de Produção e Qualidade de Bebidas Alcoólicas (LPQB), Laboratório de Biomoléculas e Bioprocessos (LBB) e no Laboratório de Corantes e Pigmentos Naturais, localizados no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa.

#### **4.3.1 Teor alcoólico**

O teor alcoólico é definido pelo número de litros de etanol contidos em 100 litros de vinho, a 20°C, e foi determinado pelo método oficial picnométrico, de acordo com a International Organisation of Vine and Wine (OIV) (OIV, 2012), sendo expresso em °GL.

#### **4.3.2 Densidade**

A densidade é a massa de vinho por unidade de volume, a 20°C, e foi determinada pela leitura direta de um densímetro imerso no vinho, conforme descrito pela OIV (2012), sendo expressa em g·cm<sup>-3</sup>.

#### **4.3.3 Concentração de sólidos solúveis totais**

O conteúdo de sólidos solúveis totais, expresso em °Brix, foi determinado utilizando um refratômetro portátil tipo Brix da marca Ningoo Utech, com escala de 0 a 32 °Brix, segundo Pereira (2007).

#### **4.3.4 Açúcares redutores**

O conteúdo de açúcares redutores foi determinado por método espectrofotométrico, utilizando o DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) como agente oxidante, como proposto por Miller (1959), com o auxílio de um espectrofotômetro da marca Micronal, modelo B542, para a leitura das absorvâncias a 540 nm. Cada mol de açúcar redutor presente na solução forma 1 mol de 3-amino-5-nitro salicilato. Portanto, através da quantificação da luz absorvida a 540nm pelo 3-amino-5-nitro salicilato, pode-se determinar a concentração de açúcar redutor presente na solução.

Em um tubo de ensaio, foi adicionado 1 mL de amostra e 3 mL da solução de DNS previamente preparada. Após homogeneização, esta mistura foi levada para um banho-maria a 100°C por um período de 5 minutos e depois refrigerado em banho de gelo e adicionado de 16 mL de água destilada. Em seguida foram realizadas as leituras da absorvância a 540 nm das amostras. Uma curva de calibração foi construída utilizando a glicose como padrão, e o conteúdo de açúcares redutores foi expresso em  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de glicose.

#### **4.3.5 Extrato seco (ES)**

O extrato seco dos vinhos foi determinado pelo método direto, segundo a metodologia preconizada pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL), que consiste em obter o extrato seco por meio da pesagem do resíduo após a evaporação do vinho em banho-maria a 100°C durante três horas e secagem em estufa a 105°C até peso constante, utilizando uma balança digital de precisão com quatro casas decimais, sendo expressa em  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (IAL, 2008).

#### **4.3.6 Extrato seco reduzido (ESR)**

O extrato seco reduzido corresponde ao extrato seco menos os açúcares totais excedentes de  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , o sulfato de potássio quando excedente de  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , cloreto de sódio quando excedente de  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , o manitol quando estiver presente e todas as substâncias químicas eventualmente adicionadas ao vinho (RIZZON, 2010). O extrato seco reduzido foi calculado (eq. 1) segundo IAL (2008), expresso em  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

$$ESR = ES - (AT - 1,0) \quad (\text{eq. 1})$$

Onde:

ES - Extrato seco ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )

AT - Açúcares totais ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )

#### 4.3.7 Relação álcool em peso/extrato seco reduzido (AP/ESR)

A relação álcool em peso/extrato seco reduzido representa a relação entre os compostos voláteis e os compostos fixos. Essa relação contribui para indicar o excesso de chaptalização efetuado no vinho durante o seu processo de elaboração (RIZZON, 2010). Esta relação foi calculada (eq. 2) segundo IAL (2008).

$$\frac{AP}{ESR} = \frac{TA \times 8}{ESR} \quad (\text{eq. 2})$$

Onde:

TA - Teor alcoólico (% v/v)

ESR - Extrato seco reduzido ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )

#### 4.3.8 Cinzas

As cinzas correspondem ao resíduo da incineração do extrato do vinho após a sua evaporação. A incineração é conduzida de forma que todos os cátions são convertidos em carbonatos ou outros sais inorgânicos anidros (OIV, 2012). Foram utilizados 25 mL de amostra, as quais foram colocadas em cadinhos de platina, previamente secos a  $600^{\circ}\text{C}$  por 1 hora. Os cadinhos contendo as amostras foram incinerados em uma mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  durante 5 horas e depois resfriados em um dessecador e pesados em balança de precisão com quatro casas decimais. O conteúdo de cinzas dos vinhos foi determinado segundo a OIV (2012) e expresso em  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (eq.3).

$$Cinzas = \frac{P_f - P_i}{V} \quad (\text{eq. 3})$$

Onde:

$P_f$  - Peso da cápsula com a cinzas da amostra

$P_i$  - Peso da cápsula vazia

V - Volume da amostra

#### **4.4 Análises físico-químicas de acompanhamento da vida de prateleira secundária dos vinhos**

Para o acompanhamento da composição físico-química dos vinhos durante a vida de prateleira secundária, foram realizadas as seguintes análises.

##### **4.4.1 Acidez volátil, fixa e total**

A acidez do vinho é uma combinação da acidez fixa e da acidez volátil e corresponde à soma dos ácidos tituláveis quando se neutraliza o vinho até pH 8,2 - 8,4 com solução alcalina. O método consiste em uma titulação das amostras de vinho com uma solução padronizada de NaOH 0,1 N. A acidez fixa, volátil e total das amostras foi determinada segundo a metodologia descrita pela OIV (2012).

A acidez volátil foi determinada utilizando um destilador eletrônico enoquímico da marca Gibertini. Colocou-se no balão de destilação do equipamento 20 mL da amostra, que foi aquecida com injeção direta de vapor, onde foi recolhido, em um erlenmeyer, 250 mL do destilado. Este destilado foi então titulado com uma solução padronizada de NaOH 0,1 N, utilizando uma solução de fenolftaleína 1% como indicador, até atingir até o aparecimento de uma coloração rosa, indicando o ponto final da titulação. A acidez volátil foi expressa em termos de  $\text{meqL}^{-1}$  de ácido acético e calculado segundo a equação 4.

$$\text{Acidez Volátil} = \frac{v \times N \times f \times 1000}{V} \quad (\text{eq. 4})$$

Onde,

v - Volume de NaOH gasto na titulação

N - Normalidade da solução de NaOH

f - Fator de correção da solução de NaOH

V - Volume da amostra

A acidez total foi determinada por titulação com uma solução padronizada de NaOH 0,1 N. Em um erlenmeyer de 250 mL foram adicionados 5 mL de amostra, 100 mL de água destilada e 3 gotas do indicador azul de bromotimol 4 g·L<sup>-1</sup>. Esta mistura foi titulada até o ponto de viragem, caracterizado pelo aparecimento de uma cor azul. A acidez total é calculada segundo a equação 4, e é expressa em meq·L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, que é o principal ácido do vinho.

A acidez fixa foi determinada pela diferença entre a acidez total e a acidez volátil, sendo expressa em meq·L<sup>-1</sup> de ácido tartárico.

#### **4.4.2 pH**

A leitura de pH foi realizada diretamente pela leitura em um potenciômetro digital da marca Digimed, modelo DM-20, segundo a metodologia proposta pela OIV (2012).

#### **4.4.3 Antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais**

As antocianinas totais correspondem à soma das frações de antocianinas monoméricas e as antocianinas polimerizadas. O conteúdo de antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais foi determinado pela metodologia descrita por Boulton (1996), com modificações. Este método considera os possíveis efeitos do etanol e do valor ótimo de pH para a observação da copigmentação de vinhos tintos (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2003). Para a realização destas análises foi utilizado um espectrofotômetro da marca Thermo Spectronic, modelo Biomate 5.

As amostras inicialmente foram ajustadas para pH 3,6 utilizando soluções de HCl 2 mol·L<sup>-1</sup> ou NaOH 2 mol·L<sup>-1</sup>, e posteriormente centrifugadas por 3000 rpm durante 15 minutos. Na sequência esta metodologia se divide em duas partes. Na primeira parte (A<sub>1</sub>), a amostra foi diluída em uma proporção de 1:10 com vinho sintético (uma solução hidroalcoólica a 12 °GL contendo 5 g·L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, ajustado para pH 3,6) e foi realizada a leitura de sua absorvância a 520 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de percurso óptico. Na segunda parte (A<sub>2</sub>), foi adicionado, em um tubo de ensaio, 4 mL da amostra e 320 µL de uma solução de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 5%. Em seguida foi realizada a leitura de sua absorvância a 520 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de 1 mm de percurso óptico. Os resultados foram expressos em mg·L<sup>-1</sup> e calculados segundo as equações 5, 6 e 7.

$$\text{Antocianinas monoméricas} = (A_1 \times 4) - A_2 \quad (\text{eq. 5})$$

$$\text{Antocianinas polimerizadas} = A_2 \times 1,08 \quad (\text{eq. 6})$$

$$\text{Antocianinas totais} = A_1 \quad (\text{eq. 7})$$

#### 4.4.4 Polifenóis totais

Os polifenóis totais representam o conjunto de todos os compostos fenólicos do vinho. Estes compostos absorvem consideráveis radiações ultravioletas (UV), com comprimentos de onda mínimos de 280-282 nm. Isto é devido, essencialmente, à absorção dos núcleos benzênicos, característicos dos compostos fenólicos, nesta faixa de comprimento de onda. A medida da absorção em ultravioleta a 280 nm, portanto, se constitui em uma estimativa válida do conjunto dos compostos fenólicos totais. O conteúdo de polifenóis totais dos vinhos foi determinado através de método espectrofotométrico, segundo metodologia descrita por Fu et al. (2009), expresso como índice de polifenóis totais (IPT).

Para a realização desta metodologia, foi utilizado um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo UV-1601PC. As amostras foram diluídas em uma proporção de 1:100 com água destilada e foram realizadas as leituras das absorvâncias a 280 nm utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de percurso óptico. A concentração de polifenóis totais foi obtida diretamente multiplicando-se a absorvância obtida pelo fator de diluição da amostra.

#### 4.4.5 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante dos vinhos foi determinada empregando-se as metodologias de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e do radical catiônico ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico). Para a realização destas análises foi utilizado um espectrofotômetro da marca Thermo Spectronic, modelo Biomate 5.

A determinação da captura do radical DPPH por antioxidantes foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Espín et al. (2000) e Pukalskas et al. (2002), com modificações. Este método se baseia em um ensaio fotométrico onde o radical livre DPPH, que em solução alcoólica possui uma coloração roxa intensa, se reduz na

presença de moléculas antioxidantes, formando o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, que não apresenta coloração.

Inicialmente foi preparada uma série de 5 diluições diferentes de cada amostra com metanol 80 %, em balões volumétricos de 10 mL. Na sequência foram separados 5 tubos de ensaio, cada um para uma diluição diferente, onde foram adicionados 0,1 mL da diluição contendo a amostra e uma alíquota de 2,9 mL de uma solução de DPPH 0,06 mM. Cada tubo foi homogeneizado e deixado em repouso por um período de 25 minutos. Após este tempo foi realizado a leitura das absorvâncias a 515 nm, obtendo uma curva analítica para cada amostra de vinho.

Para a quantificação da capacidade antioxidante pelo método DPPH foi preparada uma curva analítica utilizando uma solução de Trolox 0,93 mM como padrão. Os resultados foram calculados utilizando as curvas analíticas das amostras e do Trolox, sendo expresso em equivalentes de Trolox ( $\text{TEAC } \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

A determinação do radical catiônico ABTS foi realizada segundo a metodologia descrita por Oliveira (2011), com modificações. Este método é baseado na habilidade dos antioxidantes de inativar o radical catiônico  $\text{ABTS}^{+\cdot}$ , que é gerado após uma reação eletroquímica, enzimática ou química, utilizando o persulfato de potássio. Este radical sofre uma diminuição na sua absorvância quando na presença de espécies antioxidantes, o que permite quantificar a capacidade antioxidante de vinhos através desta metodologia.

Para esta determinação foi preparado uma solução de radical ABTS, que consiste em uma mistura de partes iguais de uma solução estoque de ABTS 7 mM com uma solução de Persulfato de potássio 2,45 mM. Esta solução foi preparada 16 horas antes do início das análises e deixado em repouso no escuro em temperatura ambiente. No momento da análise, este radical foi diluído em etanol 80% até atingir uma absorvância de  $0,700 \pm 0,005$  a 734 nm.

Foram preparadas uma série de 5 diluições diferentes de cada amostra com etanol 80%, em balões volumétricos de 10 mL. Na sequência foram separados 5 tubos de ensaio, cada um para uma diluição diferente, onde foram adicionados 0,5 mL da diluição contendo a amostra e uma alíquota de 3,5 mL da solução de radical ABTS previamente preparada. Cada tubo foi homogeneizado e deixado em repouso por um período de 6 minutos. Após este tempo foi realizado a leitura das absorvâncias a 734 nm, obtendo uma curva analítica para cada amostra de vinho.

Para a quantificação da capacidade antioxidante pelo método ABTS foi preparada uma curva analítica utilizando uma solução de Trolox 0,2 mM como padrão.

Os resultados foram calculados utilizando as curvas analíticas das amostras e do Trolox, sendo expresso em equivalentes de Trolox (TEAC  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ).

#### 4.4.6 Contribuição das antocianinas poliméricas à cor

Wrolstad (1976) descreveu métodos para determinar a densidade de cor, a cor decorrente de antocianinas poliméricas e a percentagem de contribuição de taninos e de antocianinas monoméricas para a cor. Esses métodos baseiam-se em cálculos e em poucas leituras de absorvância do vinho (MALACRIDA et al., 2006). As leituras das respectivas absorvâncias foram obtidas através de um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo UV-1601PC, utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de percurso óptico.

A densidade de cor foi determinada pela soma das absorvâncias das amostras a 420 e 520 nm. O primeiro comprimento de onda absorve os produtos de escurecimento e o segundo constitui o comprimento de máxima absorção das antocianinas. Assim é possível avaliar a contribuição das antocianinas e também de seus produtos de degradação para a cor do vinho (MALACRIDA et al., 2006). A turbidez é corrigida pela subtração das absorvâncias a 520 nm e 420 nm pelas absorvâncias a 700 nm, conforme descrito na equação 8.

$$\text{Densidade de cor} = [(A_{520} - A_{700}) + (A_{420} - A_{700})] \quad (\text{eq. 8})$$

A cor polimérica corresponde à contribuição das antocianinas poliméricas e dos pigmentos marrons provenientes de reações de escurecimento enzimático, reação de Maillard e degradação de antocianinas. Essa medida baseia-se no fato de que os pigmentos polimerizados são resistentes ao branqueamento com bissulfito. Somers (1971) mostrou que os pigmentos poliméricos de taninos são resistentes à ação descolorante do sulfito. Desta forma, após a adição de bissulfito de sódio, a soma das absorvâncias nos comprimentos de onda 420 e 520 nm correspondem à cor polimérica (WROSTAD, 1976; MALACRIDA et al., 2006). A turbidez é corrigida pela subtração das absorvâncias a 520 nm e 420 nm pelas absorvâncias a 700 nm, conforme descrito na equação 9.

$$\text{Cor polimérica} = [(A_{520} - A_{700}) + (A_{420} - A_{700})] \quad (\text{eq. 9})$$

A percentagem de contribuição dos taninos e de antocianinas monoméricas para a cor foi determinada calculando-se a relação entre a contribuição das antocianinas poliméricas à cor e a densidade de cor, conforme descrito na equação 10.

$$\% = \frac{\text{Cor polimérica}}{\text{Densidade de cor}} \times 100 \quad (\text{eq. 10})$$

#### 4.4.7 Características cromáticas

As características cromáticas dos vinhos, segundo o espaço CIE L\*a\*b\*, foram realizadas com a utilização de um colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston, VA), equipado com iluminante D65 e ângulo de observação 10°, que calcula os valores de L\*, a\* e b\* diretamente, de acordo com a metodologia descrita por Oliveira (2011). Com os resultados obtidos da leitura do equipamento, foi possível calcular o croma (C\*) e o ângulo de tonalidade (H\*), também conhecidos como coordenadas esféricas, conforme descrito nas equações 11 e 12.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{eq. 11})$$

$$H^* = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{eq. 12})$$

A intensidade de cor (IC) e a tonalidade (Ton) foram determinadas segundo metodologia descrita por Rizzon (2010). Os índices foram analisados em um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo UV-1601PC, realizando as leituras de absorvância a 420 nm ( $A_{420}$ ), 520 nm ( $A_{520}$ ) e 620 nm ( $A_{620}$ ), com uma cubeta de quartzo de 1 mm de percurso óptico e calculados conforme as equações 13 e 14.

$$IC = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad (\text{eq. 13})$$

$$\text{Ton} = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (\text{eq. 14})$$

A intensidade de cor corresponde à quantidade de cor do vinho, tendo em conta a contribuição do amarelo, vermelho e azul à coloração total (RIBÉREAU-GAYON, et al., 2006) e a tonalidade é indicativa do desenvolvimento da cor para tons laranja, sendo obtida pela razão entre as absorvâncias medidas nos comprimentos de onda de 420 e 520 nm (RIBÉREAU-GAYON, et al., 2006).

#### 4.4.8 Sulfito livre, combinado e total

A determinação de sulfitos nos vinhos foi realizada pelo método Ripper, segundo Amerine et al. (1980), que consiste na determinação direta da concentração de sulfito livre e total em uma amostra através da titulação com uma solução de iodo 0,02 N, utilizando uma solução de amido 1% como indicador, em meio ácido. Os resultados foram expressos em  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{SO}_2$ .

Na determinação do sulfito livre pipetou-se 50 mL de vinho, 5 mL de uma solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:3 e 5 mL do indicador em um erlenmeyer, que foi rapidamente titulado com a solução de iodo até o aparecimento de uma coloração azul, caracterizando o ponto final da titulação. A concentração de sulfito livre nas amostras foi determinada conforme descrito na equação 15.

$$SO_2 \text{ livre} = \frac{v \times N \times 32}{V} \times 1000 \quad (\text{eq.15})$$

Onde,

v - Volume de iodo gasto na titulação

N - Normalidade da solução de iodo

V - Volume da amostra

Na determinação do sulfito total pipetou-se 20 mL de vinho e 25 mL de uma solução de NaOH 1 N em um erlenmeyer, que foi homogeneizado e deixado em repouso por um período de 10 minutos. Após esse tempo, adicionou-se 10 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:3 e 5 mL do indicador, que foi rapidamente titulado com a solução de iodo. A concentração de sulfito total nas amostras foi determinada conforme descrito na equação 16. A concentração de sulfito combinado foi determinada pela diferença entre as concentrações de sulfito total e sulfito livre.

$$SO_2 \text{ total} = \frac{v \times N \times 32}{V} \times 1000 \quad (\text{eq.16})$$

Onde,

v - Volume de iodo gasto na titulação

N - Normalidade da solução de iodo

V - Volume da amostra

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização físico-química dos vinhos

A composição físico-química dos vinhos analisados está representada na tabela 1. O teor alcoólico dos vinhos finos das variedades de uva Riesling e Merlot (branco e tinto, respectivamente) está de acordo com valores preconizados pela legislação brasileira. Sabe-se que o teor alcoólico produzido durante o processo fermentativo está diretamente vinculado ao teor de açúcares fermentescíveis existentes na matéria-prima (MAZZOCHI et al., 1994).

Tabela 1 - Valores médios (desvio-padrão) das características físico-químicas das amostras de vinhos brancos e tintos

Determinações analíticas	Vinho Branco	Vinho Tinto	Limites preconizados pela legislação brasileira <sup>b</sup>
Teor alcoólico (% v/v)	12,51 ± 0,26	12,02 ± 0,43	8,6 - 14
Densidade (g·cm <sup>-3</sup> )	0,9878 ± 0,0003	0,9930 ± 0,0002	-
Sólidos solúveis totais (°Brix)	2,2 ± 0,03	3,2 ± 0,02	máximo de 5 g·L <sup>-1</sup>
Açúcares redutores (g·L <sup>-1</sup> )	1,59 ± 0,05	2,09 ± 0,03	-
Extrato seco (ES) (g·L <sup>-1</sup> )	19,54 ± 0,3	30,10 ± 0,43	-
Extrato seco reduzido (ESR) (g·L <sup>-1</sup> )	18,34 ± 0,31	27,90 ± 0,43	-
TA/ESR <sup>a</sup>	5,46 ± 0,06	3,45 ± 0,11	máximo de 6,7 e 5,2 (vinhos brancos e tintos, respectivamente) mínimo de 1 g·L <sup>-1</sup> e 1,5 g·L <sup>-1</sup> (vinho brancos e tintos, respectivamente)
Cinzas (g·L <sup>-1</sup> )	2,31 ± 0,31	2,81 ± 0,48	

<sup>a</sup> TA/ESR = Relação entre teor alcoólico em peso e extrato seco reduzido

<sup>b</sup> BRASIL, 1988a, 1991, 2004

No vinho, os açúcares redutores apresentam-se como substâncias que não foram transformadas em álcool etílico pela ação das leveduras no processo fermentativo, sendo, em sua maioria, pentoses da classe das xiloses e arabinoses (AMERINE et al., 1986). As baixas concentrações de açúcares redutores dos vinhos (valores inferiores a 5 g·L<sup>-1</sup>) sugerem que, durante a vinificação, a fermentação do açúcar foi praticamente completa, isto é, quase todo açúcar presente foi transformado em álcool. Em decorrência disto e com base na legislação brasileira, os vinhos estudados classificam-se como vinhos finos secos (BRASIL, 2004).

O extrato seco é uma das principais propriedades físico-químicas do vinho, pois está diretamente relacionado às suas propriedades de corpo e de estrutura. Segundo Zoecklein et al. (1995), o vinho seco com teor de extrato seco inferior a 20 g·L<sup>-1</sup>

apresenta-se leve ao paladar. Por outro lado, o vinho seco com  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  ou mais é considerado encorpado. Nesse contexto, as amostras de vinho branco analisadas podem ser consideradas leves e de pouco corpo enquanto que as amostras de vinho tinto podem ser consideradas encorpadas. Tal constatação pode ser atribuída à maior solubilização das substâncias sólidas das uvas tintas nas etapas de maceração e fermentação alcoólica que, para os vinhos finos, é mais prolongada quando comparada aos vinhos de mesa e que raras vezes ocorre com os vinhos brancos.

Assim como o extrato seco, os teores de extrato seco reduzido foram maiores nas amostras de vinho tinto. Embora a legislação brasileira não estabeleça limites para o extrato seco de vinhos, ela estabelece um limite máximo para a relação álcool em peso/extrato seco reduzido (TA/ESR) (BRASIL, 1988a). A TA/ESR das amostras de vinhos brancos e tintos apresentaram-se dentro dos limites legais preconizados pela legislação brasileira. A quantidade de extrato seco reduzido de um vinho é geralmente influenciada pela cultivar, pelo estado de maturação da uva, pelo procedimento utilizado na vinificação e pela idade do vinho. A maturação deficiente da uva é um fator determinante no baixo teor de açúcar dos mostos e conseqüentemente no baixo teor de extrato dos vinhos (RIZZON et al., 1982).

As cinzas correspondem aos elementos minerais presentes no vinho e representam aproximadamente 10% do valor do seu extrato seco reduzido (RIZZON et al., 2003). O conteúdo de cinzas dos vinhos branco e tinto se apresentou acima do mínimo estabelecido pela legislação brasileira e, portanto, estão enquadrados dentro dos limites legais estabelecidos.

## **5.2 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a acidez volátil, fixa e total e do pH dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária**

As características de acidez do vinho branco estão representadas na figura 6. Não foi observado influência da temperatura de estocagem e agitação ( $p > 0,05$ ) sobre a acidez volátil das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária (figura 6a). Foi observado apenas efeito ( $p < 0,05$ ) do tempo de estocagem. Houve uma diminuição da acidez volátil do vinho branco durante a vida de prateleira secundária. De uma forma geral, a sanidade do vinho está relacionada aos baixos teores de acidez volátil. Os resultados observados durante todo o período de estocagem estão próximos

aos relatados para vinhos finos (4,8 - 7,6 meqL<sup>-1</sup>) (HERMOSÍN- GUTIÉRREZ et al., 2005; RIZZON et al., 2011).

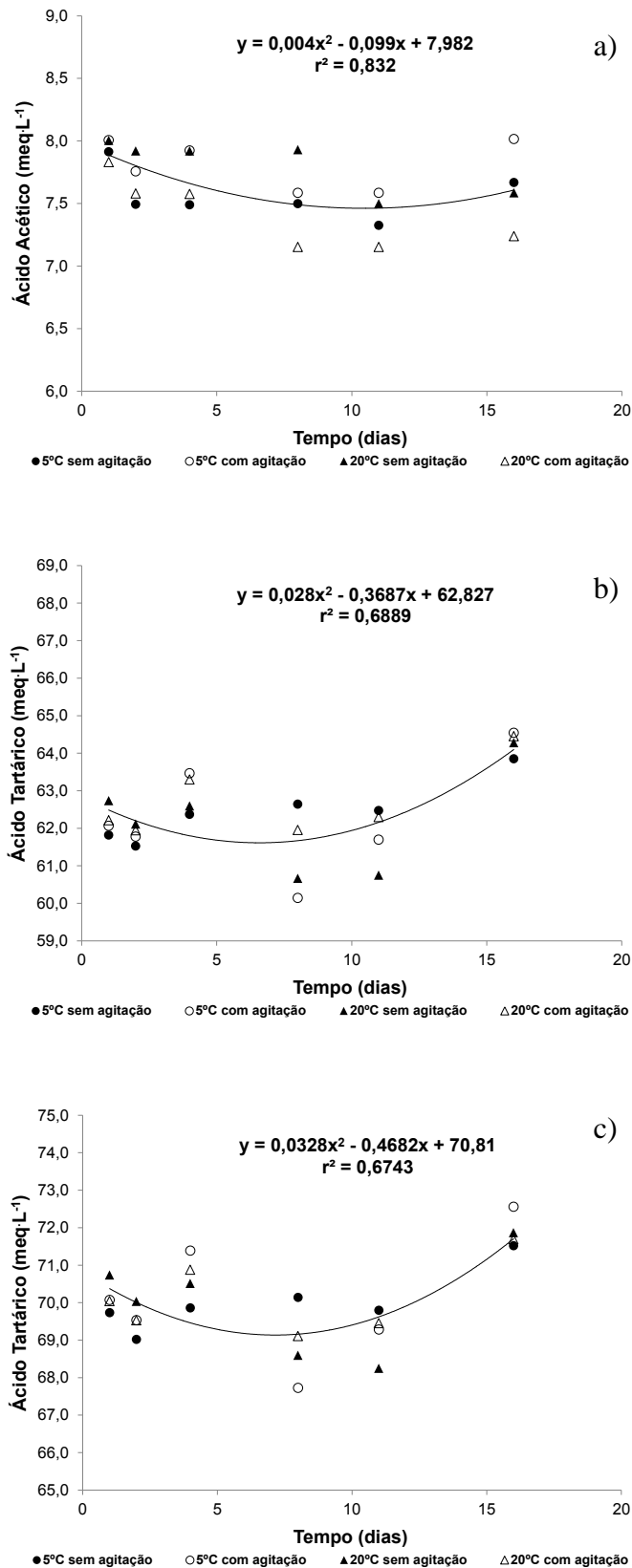


Figura 6 - Variação da acidez volátil (a), fixa (b) e total (c) das amostras de vinho branco submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Embora não tenham sido realizadas análises microbiológicas, os resultados sugerem que ao final de 16 dias de vida de prateleira secundária, os vinhos ainda apresentavam boa qualidade microbiológica. Nesse período, os vinhos ainda apresentavam teores de acidez volátil dentro dos limites legais preconizados pela legislação brasileira, que é de, no máximo, 20 meqL<sup>-1</sup> expresso em ácido acético (BRASIL, 1988a).

Não foi observado influência ( $p>0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre a acidez fixa das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária. Houve apenas efeito ( $p<0,05$ ) do tempo de estocagem sobre esta variável durante este período (figura 6b). Foi observado um comportamento semelhante para todas as amostras ao fim do período de estocagem, onde elas apresentaram um aumento nesses valores comparados com o tempo inicial.

Não foi observado efeito ( $p>0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre a acidez total das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária (figura 6c). Houve apenas o efeito ( $p<0,05$ ) do tempo de estocagem com relação a esta variável. Segundo Carraro et. al. (2010), os valores de acidez total, considerados normais, variam em um intervalo muito amplo. Geralmente a acidez total diminui com o envelhecimento dos vinhos. Durante a vida de prateleira secundária do vinho branco, houve uma ligeira diminuição de sua acidez total até o 8º dia, e depois foi constatado um aumento desta variável em todas as amostras. Os valores de acidez total dos vinhos brancos apresentaram-se dentro dos limites preconizados pela legislação brasileira durante a vida de prateleira secundária, que devem estar entre 55 e 130 meqL<sup>-1</sup> (BRASIL, 1988a).

As características de acidez do vinho tinto estão representadas na figura 7. Houve influência ( $p<0,05$ ) do tempo sobre a acidez volátil das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 7a). Não foi observado efeito ( $p>0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre esta variável do vinho tinto durante este período. A acidez volátil do vinho tinto se apresentou menor ao final do período de estocagem em todas as amostras, que se mantiveram dentro dos limites legais preconizados pela legislação brasileira (BRASIL, 1988a) durante o período analisado.

Foi observado efeito ( $p<0,05$ ) do tempo sobre a acidez fixa das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 7b). A temperatura de estocagem e a agitação não exerceram influência ( $p>0,05$ ) sobre esta variável. Observa-se que houve uma diminuição da acidez fixa em todas as amostras até o 7º dia da vida

de prateleira secundária, e depois um posterior aumento da acidez fixa até o final do período analisado, atingindo valores maiores do que os iniciais.

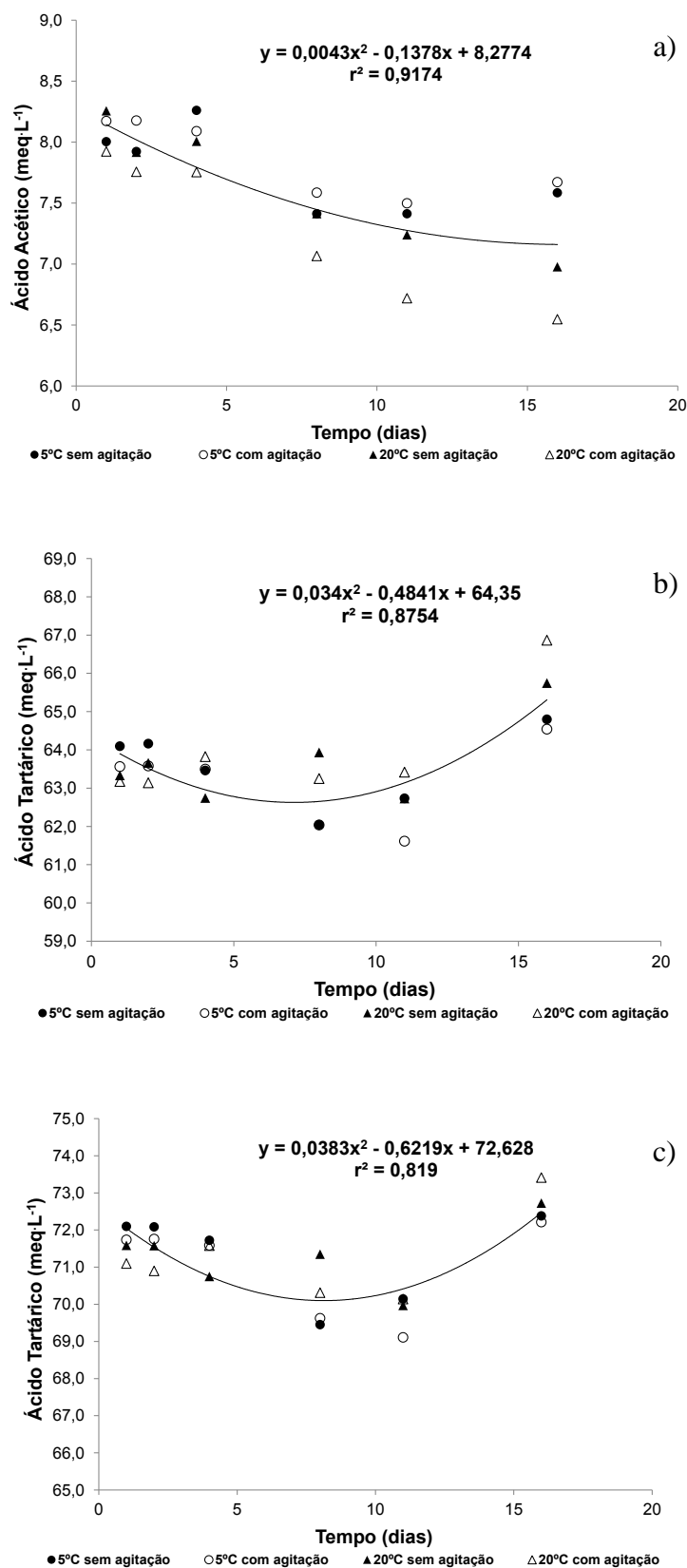


Figura 7 - Variação da acidez volátil (a), fixa (b) e total (c) das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Houve apenas a influência ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre a acidez total das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 7c). Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre esta variável durante este período. Foi observada uma diminuição dos valores de acidez total em todas as amostras de vinho tinto até o 7º dia da vida de prateleira secundária, havendo um aumento desses valores até o final do período de 16 dias. Todas as amostras de vinho tinto mantiveram os valores de acidez total dentro dos limites legais preconizados pela legislação brasileira durante a vida de prateleira secundária (BRASIL, 1988a), havendo pouca alteração desde o momento da abertura da garrafa até o final do período de 16 dias da vida de prateleira secundária.

Comparando-se as características de acidez do vinho branco com o tinto, é possível observar um comportamento semelhante para a acidez fixa e total. Em ambos os casos há uma ligeira diminuição desta variável até o dia 7, com um posterior aumento atingindo valores maiores do que os iniciais até o fim do período experimental em todas as amostras. Observa-se, também, que houve uma maior diminuição da acidez volátil nas amostras de vinho tinto com relação à acidez volátil das amostras de vinho branco.

Não foi observado influência ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e da agitação sobre o pH das amostras de vinhos brancos e tintos durante a vida de prateleira secundária. As amostras de vinhos brancos e tintos mantiveram constantes os valores de pH durante o período de estocagem. Os valores médios de pH encontrados foram de 3,41 e 3,59 para as amostras de vinho branco e tinto, respectivamente, o que está de acordo com valores normalmente encontrados na literatura para estes tipos de vinho (RIZZON et al, 2003; RIZZON et al., 2011). O pH é uma importante característica de qualidade dos vinhos, pois ele está relacionado com as suas características sensoriais e com a sua estabilidade química.

### **5.3 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a concentração de antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais e do conteúdo de polifenóis totais dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária**

A figura 8 representa as concentrações de antocianinas monoméricas, polimerizadas e totais nas amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária.

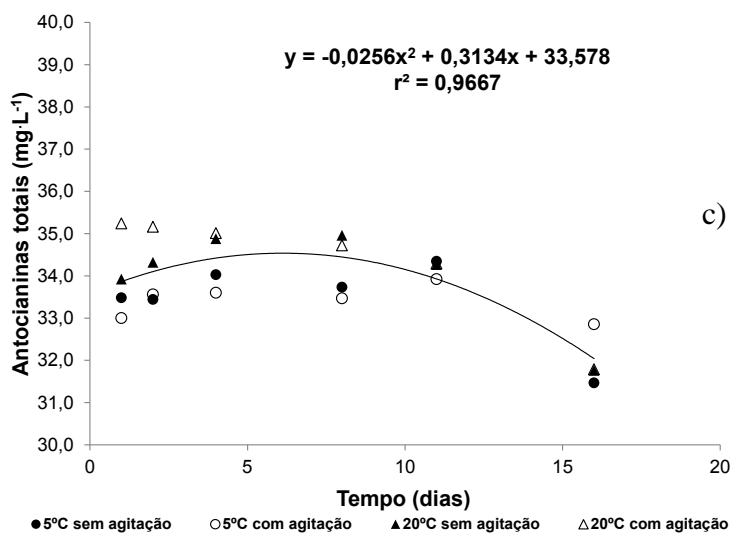
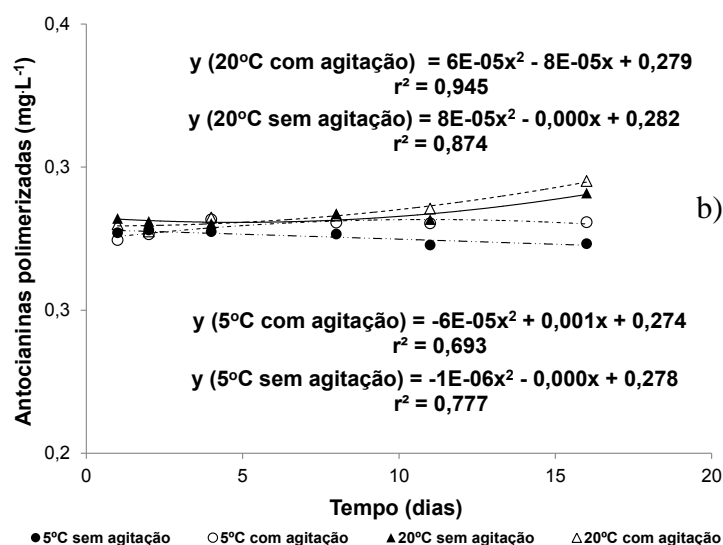
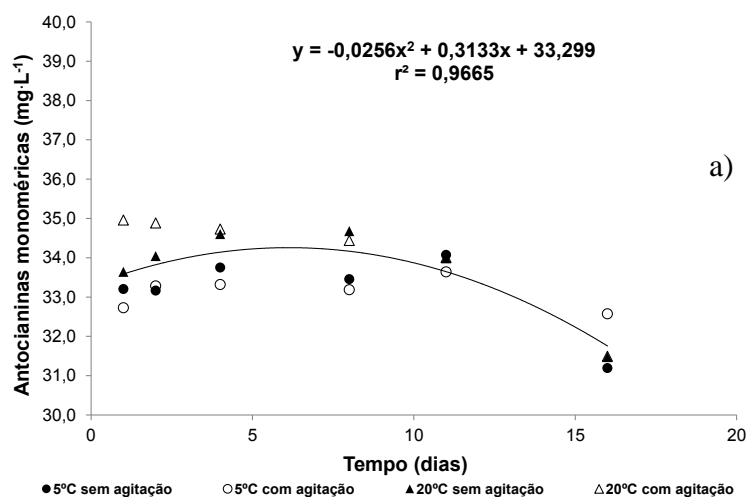


Figura 8 - Variação da concentração de antocianinas monoméricas (a), polimerizadas (b) e totais (c) nas amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Foi observada influência ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre a concentração de antocianinas monoméricas (figura 8a) e antocianinas totais (figura 8c) das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária. Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação com relação a estas variáveis. Houve uma diminuição da concentração de antocianinas monoméricas e totais em todas as amostras, o que pode ser atribuído a reações de condensação, polimerização e de precipitação que ocorrem ao longo do tempo.

A temperatura, o tempo, e as interações temperatura\*tempo e agitação\*tempo exerceram influência ( $p < 0,05$ ) sobre as antocianinas polimerizadas das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 8b), porém, não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da agitação sobre esta variável. Foi observado um ligeiro aumento na concentração de antocianinas polimerizadas nas amostras estocadas a 20°C.

A presença de oxigênio no meio é um fator significativo na degradação de antocianinas, que ocorre através de um mecanismo de oxidação direta ou indireta dos constituintes do meio que reagem com as antocianinas (JACKMAN et al., 1992). A temperatura é outro fator importante na estabilidade das antocianinas. Segundo Stringheta (1991), à medida que se submete uma solução de antocianinas a uma temperatura superior à temperatura ambiental (25°C), a sua degradação é maior. Os efeitos da temperatura e das interações temperatura\*tempo e agitação\*tempo sobre o conteúdo de antocianinas polimerizadas das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária indicam que as reações de polimerização e de condensação de antocianinas ocorrem com uma maior frequência em vinhos estocados em temperaturas maiores, e que são ainda mais pronunciadas quando os vinhos estiverem expostos ao oxigênio.

A concentração de antocianinas, copigmentos, pH, temperatura, presença de luz, oxigênio e de dióxido de enxofre são fatores que afetam as reações químicas durante o envelhecimento dos vinhos (FERNANDES, 2007). As antocianinas e taninos vão sendo progressivamente transformados em pigmentos oligoméricos e poliméricos mais estáveis e com características físico-químicas diferentes dos seus precursores, contribuindo para a alteração das características sensoriais do vinho, como a cor, o aroma e o sabor (MONAGAS et al., 2005).

A concentração de polifenóis totais nas amostras de vinho branco e tinto durante a vida de prateleira secundária está representada na figura 9. Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação no índice de polifenóis totais (IPT) das amostras de vinho branco durante este período (figura 9a). Apenas o tempo exerceu

influência ( $p < 0,05$ ) sobre esta variável. Houve uma diminuição do IPT em todas as amostras de vinho branco. Em um estudo envolvendo diferentes temperaturas de estocagem de vinhos brancos em embalagens do tipo Bag in Box, Fu et al. (2009) mostraram que o conteúdo de polifenóis totais tende a diminuir durante a vida de prateleira secundária em vinhos estocados em temperatura ambiente. Após avaliarem as alterações na composição fenólica de vinhos brancos durante a estocagem em garrafas, Kallithraka et al. (2009) também observaram um decréscimo no conteúdo de polifenóis totais, que pode ter sido causado por uma gradual polimerização de compostos fenólicos e reações de condensação destes compostos.

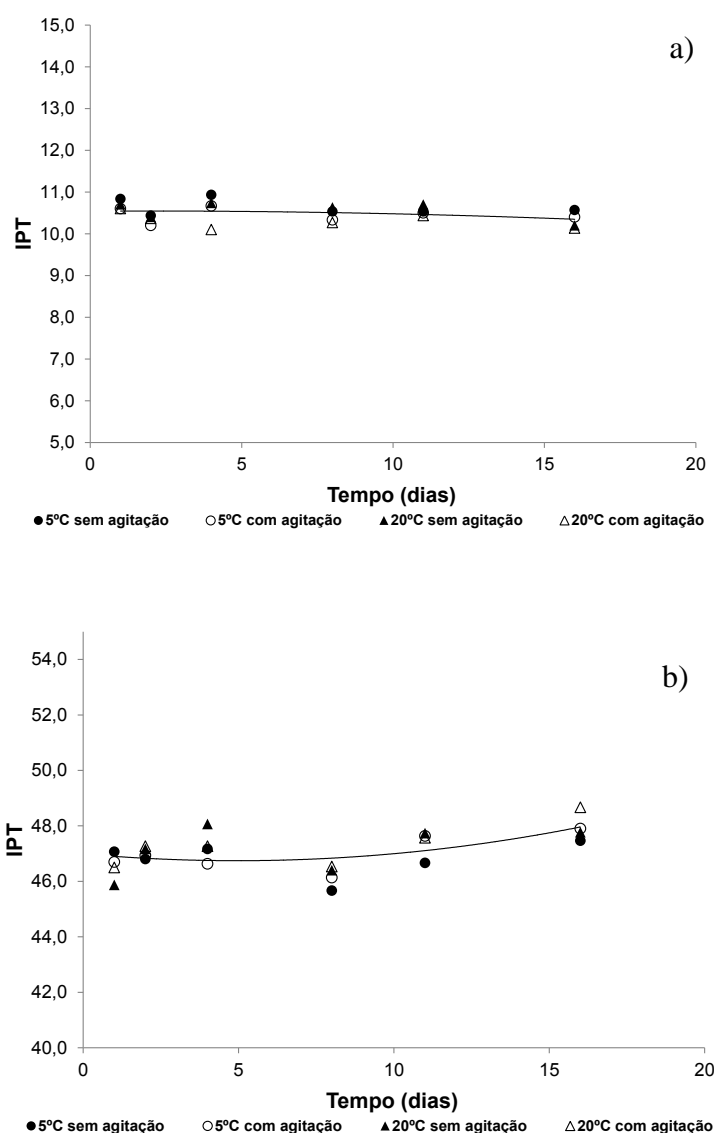


Figura 9 - Variação do conteúdo de polifenóis totais nas amostras de vinho branco (a) e tinto (b) submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Singleton et al. (1976) sugeriram que esse decréscimo no conteúdo de polifenóis totais em vinhos brancos e tintos indica a perda de grupos hidroxilas, que são reativos, devido à oxidação dos compostos fenólicos. Algumas reações de condensação envolvendo as metades hidroxilas de antocianinas podem, ainda, contribuir para esse fenômeno (REMY-TANNEAU et al., 2003). Segundo Recamales et al. (2006) temperaturas mais elevadas podem contribuir para a degradação de compostos fenólicos.

Segundo Wang et al. (2008), os o-difenóis são os compostos mais susceptíveis à oxidação em vinhos e responsáveis pelo seu escurecimento. Esses compostos são oxidados a o-quinonas que podem polimerizar e condensar com outros compostos, incluindo compostos não fenólicos, e formar pigmentos escuros. Ainda segundo os autores, a oxidação de fenóis é complexa, e depende tanto da composição dos compostos fenólicos quanto da concentração de cada um deles presentes no vinho.

Assim como no vinho branco, não foi observado influência ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre o IPT das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 9b). Foi observado apenas o efeito ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre esta variável. Foi observado um ligeiro aumento do IPT nas amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária. Diversos autores já relataram uma diminuição do conteúdo de polifenóis totais durante o envelhecimento de vinhos (DE BEER et al., 2005; MONAGAS et al., 2005; RECAMALES et al., 2006; KALLITHRAKA et al., 2009). Entretanto, Lima (2012) observou que o conteúdo de polifenóis totais em vinhos engarrafados aumentou com o tempo de estocagem.

FU et al., (2009) observaram um aumento na  $A_{420}$  de vinhos estocados em temperaturas maiores, e que esse fenômeno poderia estar relacionado com a condensação de compostos fenólicos. Segundo os autores, reações de hidrólise que ocorrem simultaneamente a este fenômeno podem ser mais intensas, resultando na formação de uma maior quantidade de compostos monoméricos, o que resulta em um aumento no conteúdo de polifenóis totais nas amostras.

#### 5.4 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a capacidade antioxidante dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária medida pelos métodos DPPH e ABTS

A capacidade antioxidante dos vinhos estudados está disposta na tabela 2. Não houve influência ( $p>0,05$ ) da temperatura de estocagem, da agitação e do tempo sobre a capacidade antioxidante das amostras de vinhos brancos e tintos medida através das metodologias DPPH e ABTS durante a vida de prateleira secundária. A capacidade antioxidante de um vinho está diretamente relacionada com o conteúdo de compostos fenólicos que possuem a habilidade de agirem como antioxidantes, que são responsáveis pelas propriedades benéficas que os vinhos proporcionam à saúde de quem os consomem regularmente (KINSELLA et al., 1993; DE BEER et al., 2005).

Tabela 2 - Valores médios da capacidade antioxidante de vinhos brancos e tintos durante a vida de prateleira secundária

Temperatura (°C)	Agitação	Tipo de vinho			
		Branco		Tinto	
		DPPH *	ABTS *	DPPH *	ABTS *
5	Sem	5,67	2,92	44,33	3,67
	Com	5,22	2,79	49,83	4,11
20	Sem	5,44	2,94	51,72	4,01
	Com	5,67	2,97	44,67	4,10

\* Resultados expressos em TEAC ( $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

Diversos autores relataram que a capacidade antioxidante de vinhos engarrafados tende a aumentar com o tempo de estocagem (KALLITHRAKA et al., 2009; LIMA, 2012). Por outro lado, De Beer et al. (2005) relataram que a capacidade antioxidante de vinhos engarrafados diminui com o tempo. Durante a vida de prateleira secundária, observou-se que vinhos brancos e tintos estocados em diferentes condições de temperatura e agitação mantiveram constantes os valores de capacidade antioxidante, indicando que em pelo menos duas semanas uma garrafa de vinho pode ser consumida regularmente sem haver alterações nas propriedades benéficas que ela proporciona ao organismo humano.

## **5.5 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre as características de cor dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária**

### **5.5.1 Avaliação das características cromáticas dos vinhos branco e tinto pelas coordenadas cromáticas: Espaço CIE L\*a\*b\***

As características cromáticas das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária estão representadas na figura 10. Não foi observada nenhuma influência ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem, da agitação e do tempo sobre a coordenada L\* das amostras de vinho branco (figura 10a). O valor médio de L\* para todas as amostras ao longo da vida de prateleira secundária foi de 70,4. Os vinhos brancos possuem altos valores de luminosidade, o que é evidenciado pelo fato de que eles possuem uma coloração mais clara, que foi mantida durante a vida de prateleira secundária.

Não foi observada nenhuma influência ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem, da agitação e do tempo sobre a coordenada a\* das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária (figura 10b). Esta coordenada está relacionada com a variação da cor verde (-a\*) a vermelho (+a\*) e não é um fator determinante para a coloração de vinhos brancos, uma vez que ele não possui uma concentração significativa de pigmentos coloridos, como o vinho tinto. Não houve alteração desta coordenada durante o período de estocagem em todas as amostras de vinho branco. O valor médio de a\* para todas as amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária foi de -2,99.

Foi observado efeito ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre a coordenada b\* das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária (figura 10c). Não foi observada influência ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e nem da agitação sobre esta coordenada do vinho branco durante este período. Foi observado um ligeiro aumento do valor desta coordenada em todas as amostras de vinho branco até o 16º dia da vida de prateleira secundária. O aumento de b\* está relacionado com uma intensificação da coloração amarela do vinho, característica do vinho branco e, portanto, indicando que o tempo de estocagem conferiu ao vinho branco uma tonalidade mais amarelada.

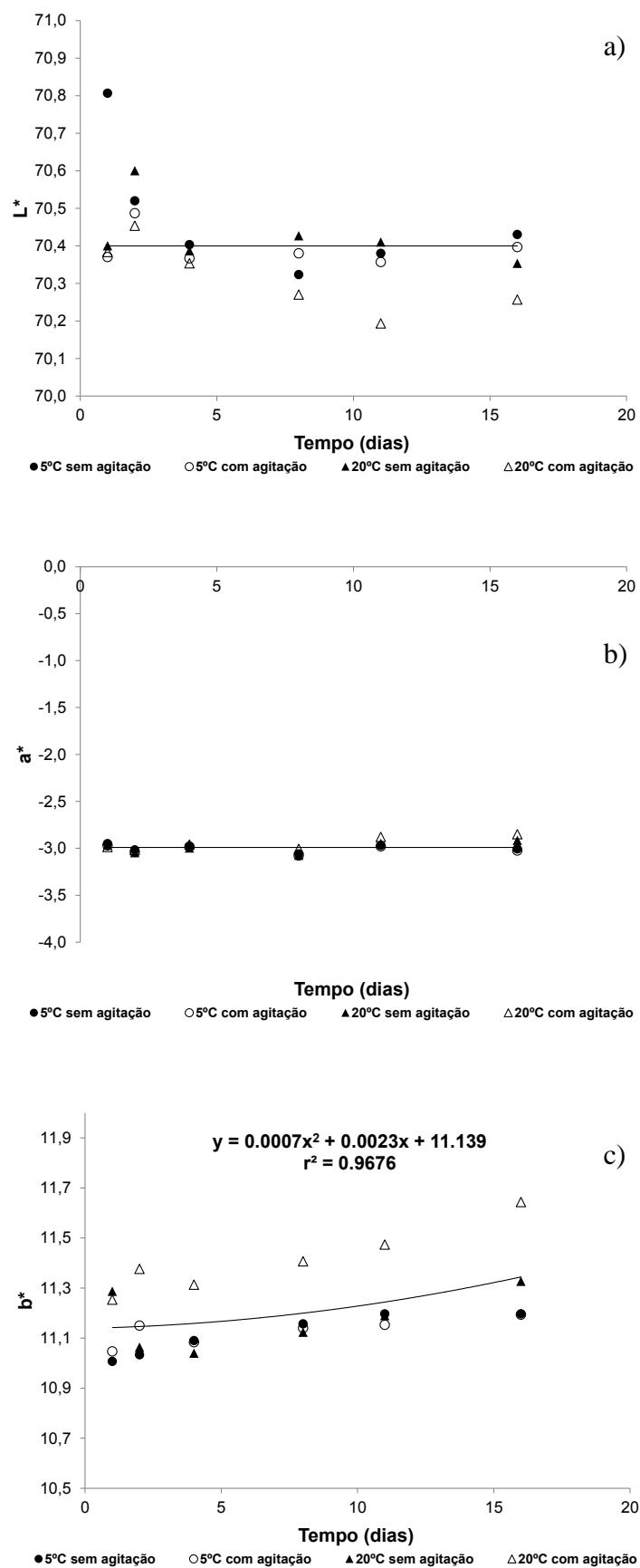


Figura 10 - Variação das coordenadas cromáticas L\* (a), a\* (b) e b\* (c) das amostras de vinho branco submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

As coordenadas esféricas C\* e H\* das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária estão representados na figura 11. Houve influência do tempo ( $p < 0,05$ ) sobre a coordenada C\* das amostras de vinho branco durante este período (figura 11a). Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre esta coordenada. Foi observado um aumento de C\* em todas as amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária.

A cromaticidade permite caracterizar a concentração ou saturação da cor global. Valores menores de saturação indicam cores mais pálidas, ou seja, percebem-se cores menos puras (SANTOS, 2011). O aumento de C\* está relacionado com as alterações de cor que estão ocorrendo nas amostras durante a vida de prateleira secundária, principalmente devido ao aumento da coordenada b\* observada nas amostras de vinho branco.

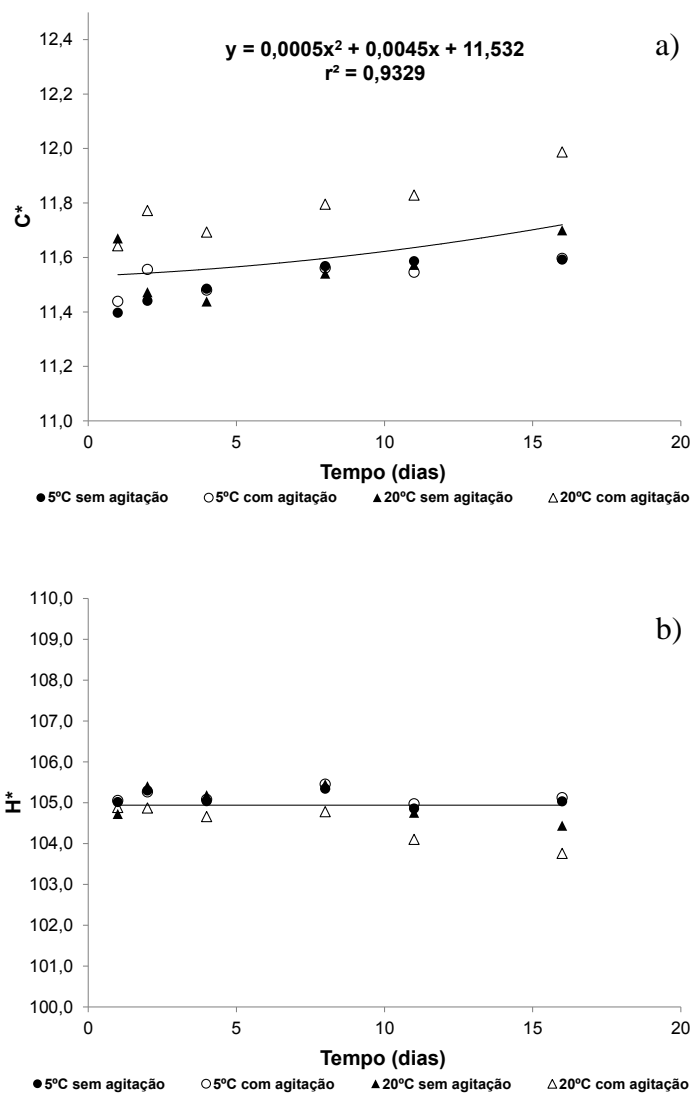


Figura 11 - Variação das coordenadas cromáticas C\* (a) e H\* (b) das amostras de vinho branco submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Não foi observado efeito ( $p>0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e nem da agitação sobre o ângulo de tonalidade  $H^*$  das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária (figura 11b). O valor médio do de  $H^*$  para todas as amostras de vinho branco foi de 104,94. Este valor de  $H^*$  está associado à tonalidade amarela, típica de vinhos brancos e que não foi alterada durante a vida de prateleira secundária.

As características cromáticas das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária estão representadas na figura 12. Foi observada influência ( $p<0,05$ ) do tempo com relação à coordenada  $L^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 12a). Não houve efeito ( $p>0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre esta coordenada do vinho tinto durante este período. Por ser um líquido escuro, o vinho tinto possui baixos valores de  $L^*$ . Foi observada uma diminuição nos valores de  $L^*$  até o 8º dia da vida de prateleira secundária, e depois um posterior aumento desses valores até o 16º dia, apresentando valores próximos aos iniciais.

Foi observada influência ( $p<0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e da interação temperatura\*tempo para a coordenada  $a^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 12b). Não foi observado influência ( $p>0,05$ ) da agitação sobre esta coordenada das amostras de vinho tinto durante este período. As amostras estocadas a 20°C apresentaram uma maior diminuição da coordenada  $a^*$ , com relação às amostras estocadas a 5°C. A diminuição dos valores da coordenada  $a^*$  está relacionada com a perda da coloração vermelha do vinho tinto indicando, portanto, que a temperatura de estocagem mais elevada promove uma perda mais pronunciada da tonalidade vermelha de vinhos tintos durante a vida de prateleira secundária.

Durante o envelhecimento dos vinhos, a coloração roxo-púrpura característica dos vinhos jovens é gradualmente transformada em uma coloração vermelho-alaranjado. Essas mudanças se devem principalmente à polimerização de pigmentos monoméricos de antocianinas, dando origem a formas oligoméricas mais estáveis (GÓMEZ-PLAZA et al., 1999). Nas amostras de vinho tinto estudadas, houve uma diminuição das concentrações de antocianinas monoméricas e totais e um aumento na concentração de antocianinas polimerizadas, o que representa esta diminuição observada na coordenada  $a^*$  durante a vida de prateleira secundária.

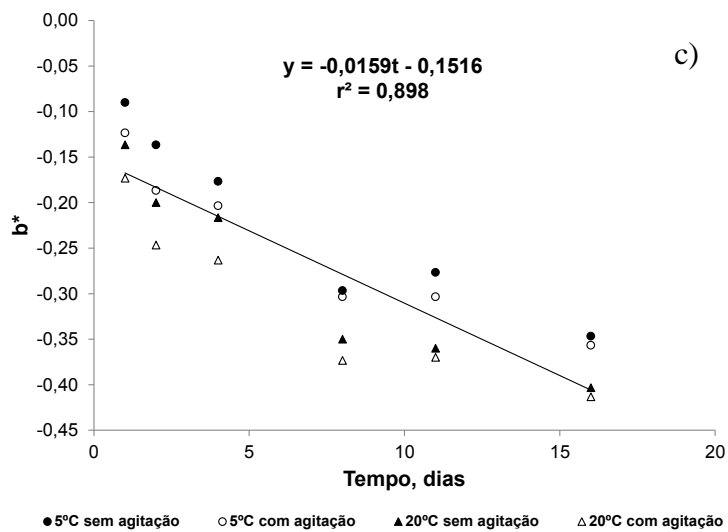
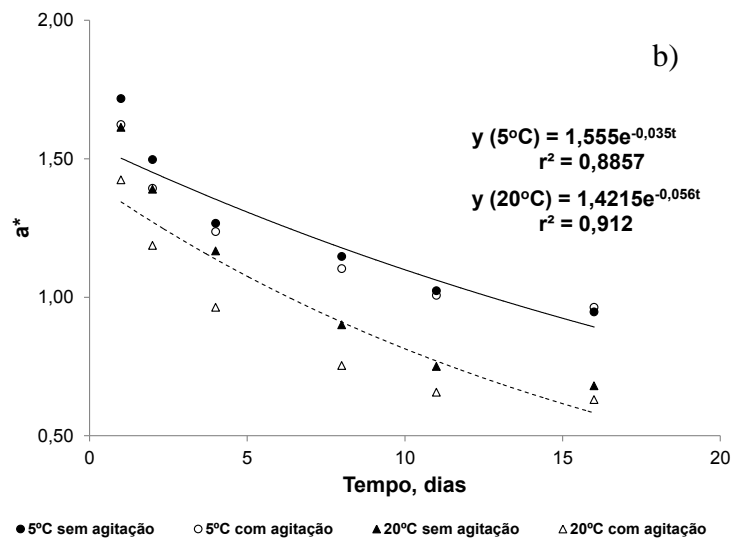
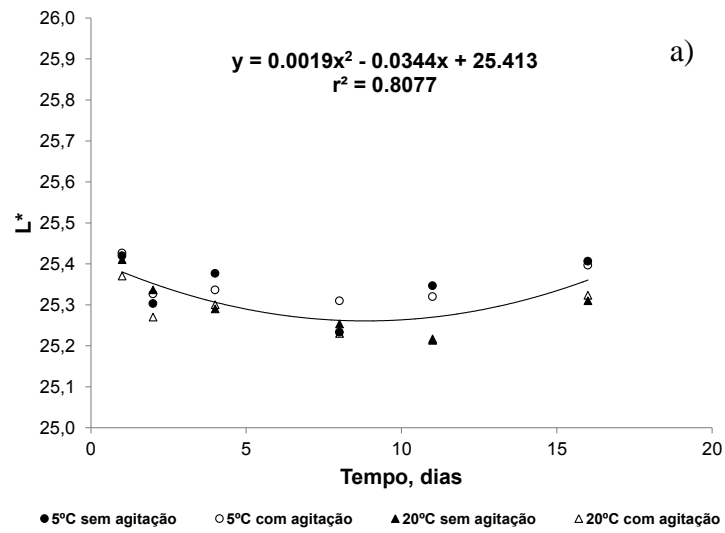


Figura 12 - Variação das coordenadas cromáticas L\* (a), a\* (b) e b\* (c) das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Houve influência ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre a coordenada  $b^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 12c). Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura e da agitação sobre esta coordenada durante o período de estocagem. Foi observada uma diminuição dos valores da coordenada  $b^*$  em todas as amostras de vinho tinto durante este período. A diminuição dos valores de  $b^*$  nas amostras de vinho tinto indica que elas estão ganhando uma tonalidade azul durante a vida de prateleira secundária, embora a variação tenha sido bastante sutil durante os 16 dias de estocagem.

As coordenadas esféricas  $C^*$  e  $H^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária estão representadas na figura 13.

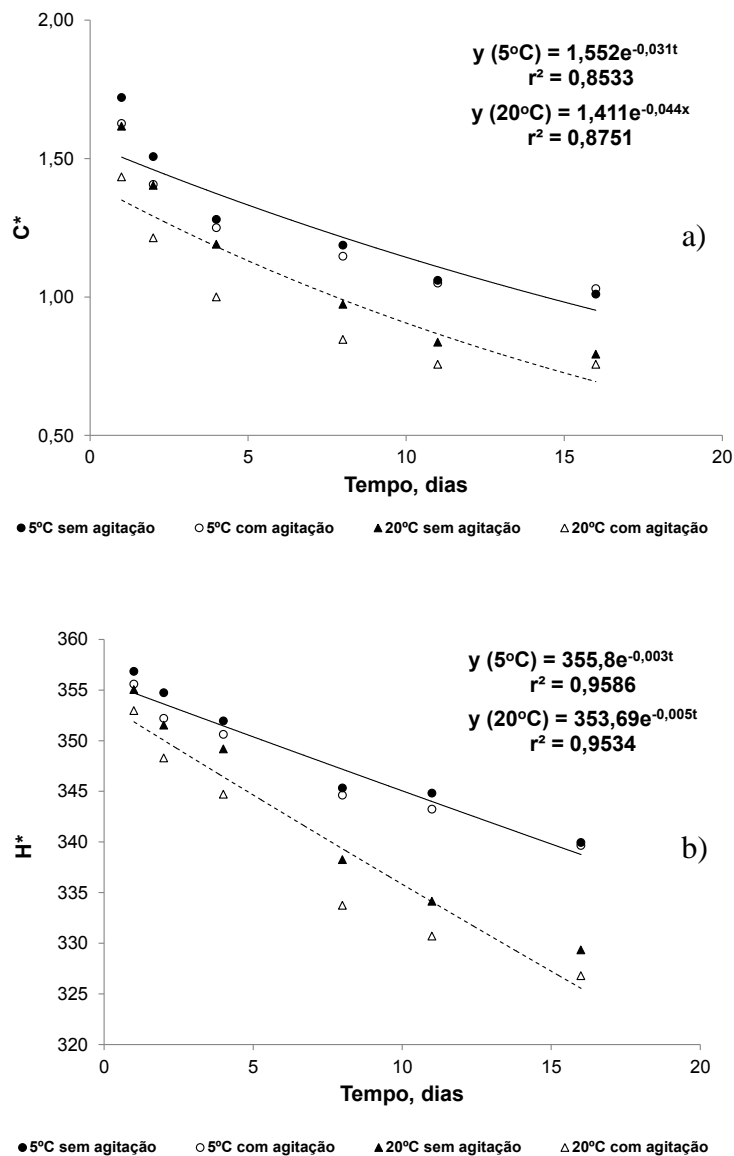


Figura 13 - Variação das coordenadas cromáticas  $C^*$  (a) e  $H^*$  (b) das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Foi observada influência ( $p < 0,05$ ) da temperatura de estocagem e do tempo sobre a coordenada  $C^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 13a). Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) da agitação com relação a esta coordenada das amostras de vinho tinto durante este período. É possível observar uma maior diminuição da cromaticidade nas amostras mantidas a 20°C. A diminuição da cromaticidade está relacionada com a mistura de cores. A maior diminuição de  $C^*$  nas amostras mantidas a 20°C implica em uma maior perda da cromaticidade, aumentando a mistura de cores.

Houve influência ( $p < 0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e da interação temperatura\*tempo no ângulo de tonalidade  $H^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 13b). Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da agitação sobre esta coordenada durante o período de estocagem. Observa-se que houve uma diminuição maior deste ângulo nas amostras mantidas a 20°C. Esta diminuição no ângulo  $H^*$  das amostras de vinho tinto indica, portanto, uma mudança de tonalidade variando do vermelho para o azul.

Durante o envelhecimento dos vinhos, os aldeídos formados durante a oxidação do etanol e de compostos fenólicos desempenham um papel fundamental nas alterações de cor que ocorrem durante este período. Eles participam de ligações com vários polifenóis flavonoides (incluindo antocianinas) para formar novos pigmentos poliméricos. Estes compostos formados são, na maioria das vezes, mais estáveis do que as antocianinas que as formaram (KILMARTIN, 2009).

Os efeitos da copigmentação intermolecular também ajudam a explicar essa mudança no ângulo de tonalidade  $H^*$ , uma vez que esse fenômeno é conhecido por aumentar a intensidade de cor (efeito hiperacrômico) ao mesmo tempo em que ocorre uma mudança de tons vermelhos para azuis, o que pode ser verificado pela diminuição dos valores de  $a^*$ ,  $b^*$  e  $H^*$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (efeito batocrômico) (BOULTON, 2001).

### **5.5.2 Avaliação das características cromáticas do vinho tinto medida por análise de copigmentação e polimerização de antocianinas**

A densidade de cor, a cor decorrente de antocianinas poliméricas e a percentagem de contribuição de taninos e de antocianinas monoméricas para a cor das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária estão representadas na figura 14.

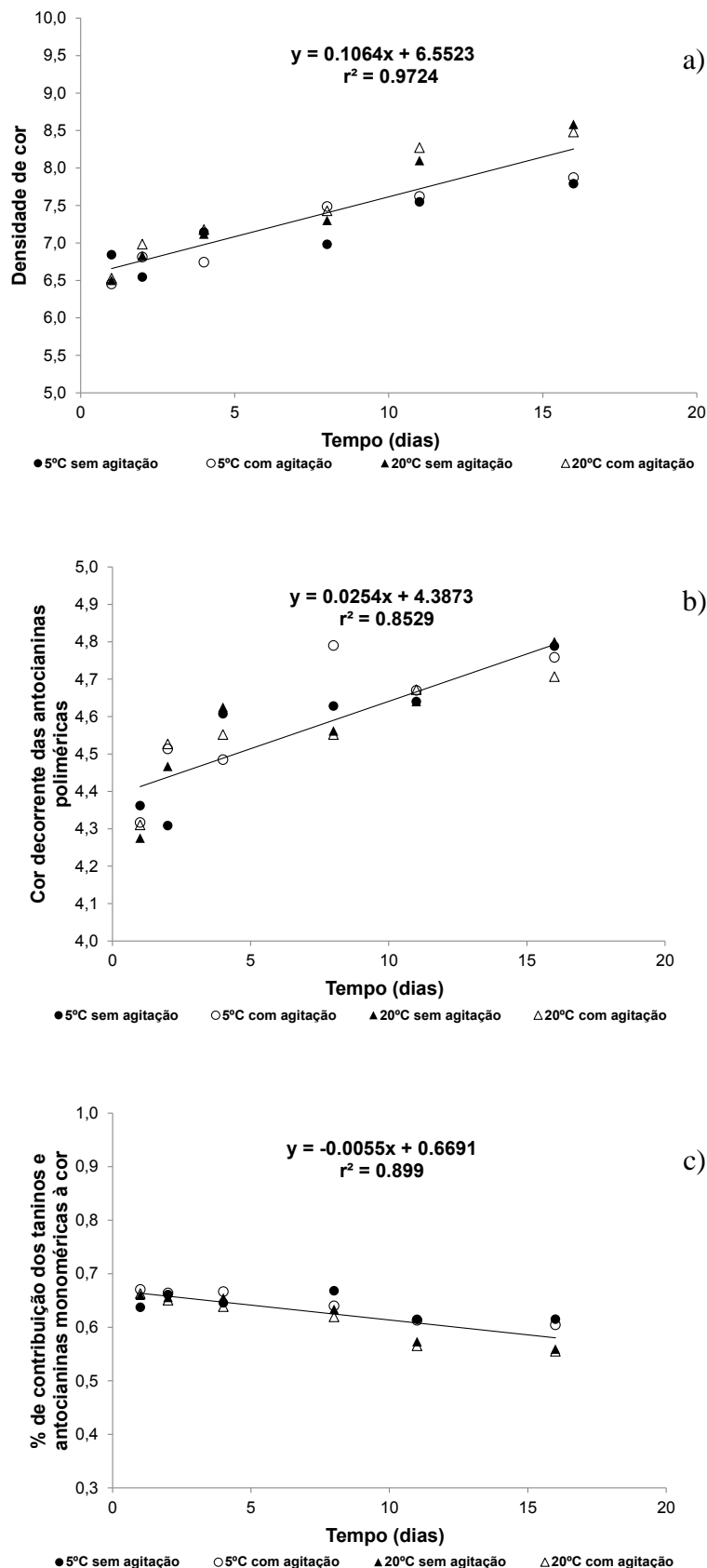


Figura 14 - Variação da densidade de cor (a), da cor decorrente das antocianinas poliméricas (b) e da percentagem de contribuição dos taninos e antocianinas monoméricas à cor (c) das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre a densidade de cor das amostras de vinho tinto (figura 14a). Houve efeito do tempo ( $p < 0,05$ ) sobre a densidade de cor das amostras de vinho tinto durante este período. Foi observado um aumento da densidade de cor em todas as amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária.

Não foi observado influência ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre a cor decorrente das antocianinas poliméricas das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 14b). Houve efeito ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre esta variável do vinho tinto. Observa-se que houve um aumento da cor polimérica em todas as amostras de vinho tinto. A cor polimérica corresponde à contribuição de antocianinas poliméricas e dos pigmentos marrons provenientes de reações de oxidação para a cor do vinho (WROLSTAD, 1976).

Foi observado influência ( $p < 0,05$ ) do tempo sobre a percentagem de contribuição dos taninos e de antocianinas monoméricas à cor das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 14c). Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) da temperatura de estocagem e da agitação sobre esta variável. Houve uma diminuição desta percentagem em todas as amostras de vinho tinto durante o período de estocagem.

A percentagem de contribuição dos taninos e de antocianinas monoméricas à cor é um indicativo do quanto esses compostos contribuem para a coloração do vinho. Este fenômeno pode estar atribuído à diminuição da concentração de antocianinas monoméricas durante a vida de prateleira secundária do vinho tinto, e o conseqüente aumento na concentração de antocianinas polimerizadas observado durante este período.

### **5.5.3 Avaliação das características cromáticas do vinho tinto medida pelos índices $A_{420}$ , $A_{520}$ e $A_{620}$**

Os índices  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  e  $A_{620}$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária estão representados na figura 15. Houve efeito ( $P < 0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e da interação temperatura\*tempo sobre o índice  $A_{420}$  das amostras de vinho tinto durante este período (figura 15a). Não foi observado influência ( $p > 0,05$ ) da agitação sobre esta variável. Foi observado um aumento do índice  $A_{420}$  em todas as amostras de vinho tinto. A  $A_{420}$  é um indicador frequentemente usado para medir o desenvolvimento do escurecimento do vinho devido à oxidação (GODDEN et al., 2001; FU et al., 2009).

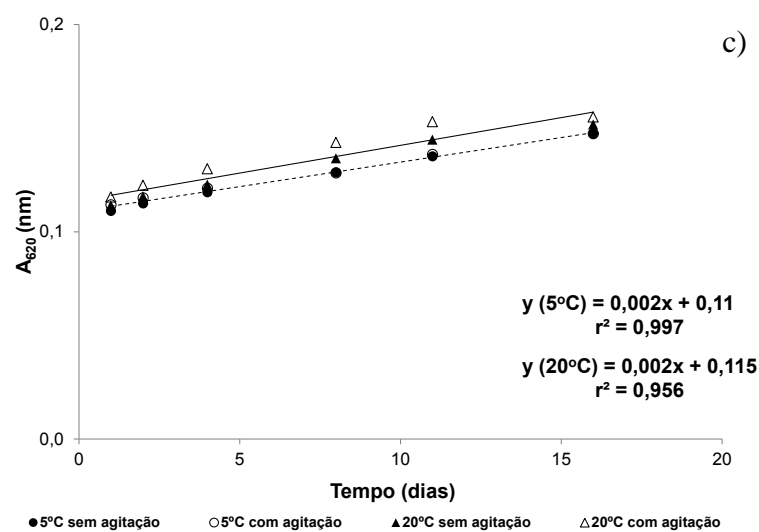
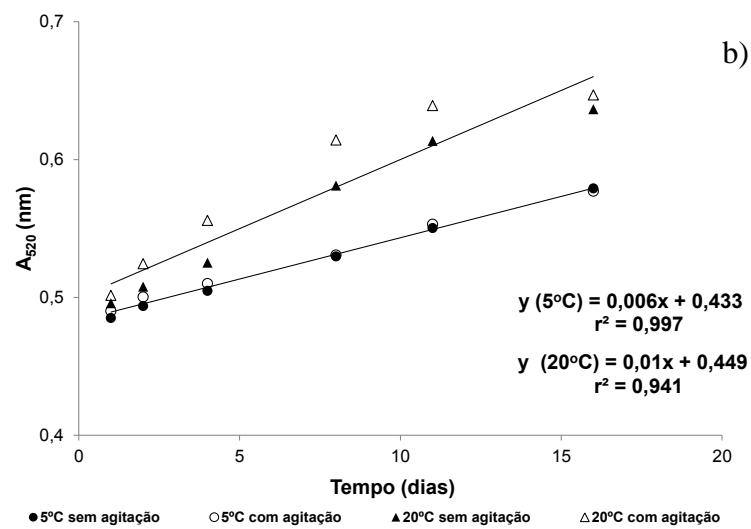
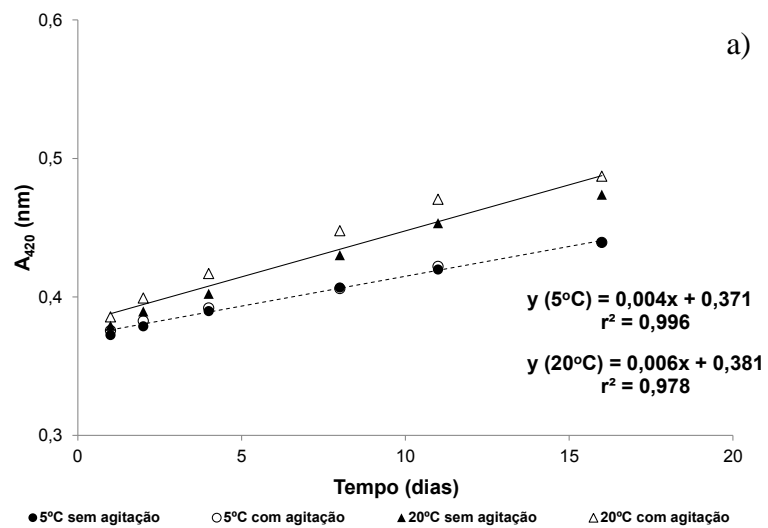


Figura 15 - Variação dos índices de cor  $A_{420}$  (a),  $A_{520}$  (b) e  $A_{620}$  (c) das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Os resultados observados para o índice  $A_{420}$  estão de acordo com os obtidos por Fu et al. (2009). O efeito da temperatura é essencial para o aumento desta variável. Embora a variação da  $A_{420}$  tenha sido bastante sutil, foi observado um aumento maior deste índice nas amostras mantidas a 20°C. O aumento da  $A_{420}$  pode ser atribuído a três fatores: a oxidação de compostos fenólicos do vinho, as reações de escurecimento que envolve o acetaldeído e o ácido glioxílico e devido às reações de caramelização e de Maillard (LI et al., 2008).

Fu et al. (2009) sugeriram que o aumento da  $A_{420}$  pode estar relacionado com a oxidação dos compostos fenólicos e a diminuição da concentração de  $SO_2$  livre e total do vinho. Segundo os autores, os coeficientes de correlação entre a  $A_{420}$  e a concentração de  $SO_2$  livre aumentaram com o aumento da temperatura, indicando que o desenvolvimento de cor está mais relacionado com a diminuição da concentração de  $SO_2$  livre em vinhos estocados em temperaturas mais altas.

Foi observada influência ( $p < 0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e das interações agitação\*tempo, temperatura\*tempo e agitação\*temperatura\*tempo sobre o índice  $A_{520}$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 15b). Houve um aumento deste índice em todas as amostras de vinho tinto durante este período indicando, portanto, um aumento na tonalidade vermelha do vinho tinto. Observou-se um maior aumento deste índice nas amostras estocadas a 20°C.

Houve efeito ( $p < 0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e da interação temperatura\*tempo sobre o índice  $A_{620}$  das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 15c). Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da agitação sobre esta variável do vinho tinto. Foi observado um aumento do índice  $A_{620}$  em todas as amostras, sendo maior nas amostras estocadas a 20°C. A variação deste índice pode estar relacionada com a diminuição do valor da coordenada  $b^*$  do vinho tinto, indicando uma perda da cor amarela e ganho de uma coloração azul.

A intensidade de cor e a tonalidade do vinho tinto estão representadas na figura 16. A temperatura de estocagem, o tempo, a interação temperatura\*tempo e a interação agitação\*temperatura\*tempo exerceram influência ( $p < 0,05$ ) sobre a intensidade de cor das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 16a). Não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) da agitação sobre esta variável. Houve um aumento da intensidade de cor em todas as amostras de vinho tinto durante este período. Observou-se um maior aumento na intensidade de cor das amostras estocadas a 20°C. A intensidade de cor corresponde à quantidade de cor do vinho tendo em conta a

contribuição do amarelo ( $A_{420}$ ), vermelho ( $A_{520}$ ) e azul ( $A_{620}$ ) à coloração total (RIBÉREAU-GAYON, et al., 2006).

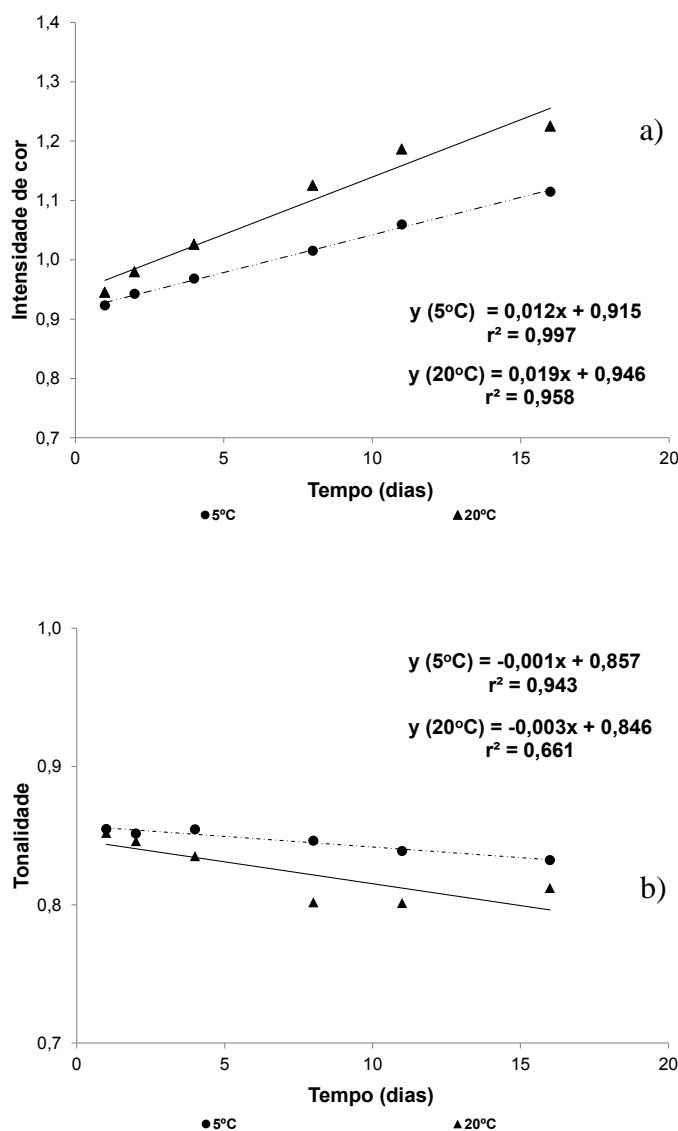


Figura 16 - Variação da intensidade de cor (a) e da tonalidade (b) das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

O aumento da densidade de cor está relacionado com os efeitos da copigmentação intermolecular, notadamente reconhecidos devido ao efeito hipercrômico observado (BOULTON, 2001). A copigmentação intermolecular entre antocianinas, juntamente com outros compostos, produz um aumento na intensidade de cor de vinhos tintos. Vários são os compostos que atuam como copigmentos de antocianinas, como os aminoácidos, ácidos orgânicos, flavonoides e alcaloides (MAZZA et al., 1987).

Houve influência ( $p < 0,05$ ) da temperatura de estocagem, do tempo e das interações temperatura\*tempo e agitação\*tempo sobre a tonalidade das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária (figura 16b). A agitação não exerceu efeito ( $p > 0,05$ ) sobre esta variável. Foi observada uma diminuição da tonalidade em todas as amostras, sendo maior nas amostras estocadas a 20°C. A tonalidade é indicativa do desenvolvimento da cor para tons de laranja, sendo mais baixa em vinhos novos do que em vinhos envelhecidos (RIBÉREAU-GAYON, et al., 2006). Esta diminuição da tonalidade pode estar relacionada com a diminuição do ângulo de tonalidade ( $H^*$ ) e da coordenada  $a^*$  observada nas amostras de vinho tinto.

### **5.6 Efeito da temperatura, agitação e do tempo de estocagem sobre a concentração de sulfito livre, combinado e total dos vinhos branco e tinto durante a vida de prateleira secundária**

A variação da concentração de sulfito livre das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária está representada na figura 17. Foi observada uma diminuição na concentração de sulfito livre em todas as amostras de vinho branco durante este período. A amostra estocada a 20°C e submetida à agitação ( $B_4$ ) foi a que mais apresentou uma diminuição na concentração de  $SO_2$  livre, indicando que em temperaturas maiores a concentração de  $SO_2$  livre diminui mais rapidamente durante a vida de prateleira secundária. Estes resultados concordam com a tendência observada por FU et al. (2009), que observaram uma diminuição da concentração de  $SO_2$  livre em vinhos brancos durante a vida de prateleira secundária em todos os tratamentos aplicados, e que a taxa de diminuição da concentração de  $SO_2$  livre era maior nos tratamentos com temperaturas maiores.

A concentração de sulfitos em vinhos desempenha um papel fundamental na sua proteção contra a oxidação e contaminação por micro-organismos, além de reagir com o acetaldeído e reduzir o aroma indesejável causado por este composto (FU et al., 2009). Vinhos estocados em temperaturas maiores durante a vida de prateleira secundária perdem mais rapidamente estas propriedades, deixando-os mais susceptíveis à deterioração, visto que a concentração de sulfito livre teve uma maior diminuição nas amostras estocadas a 20°C.

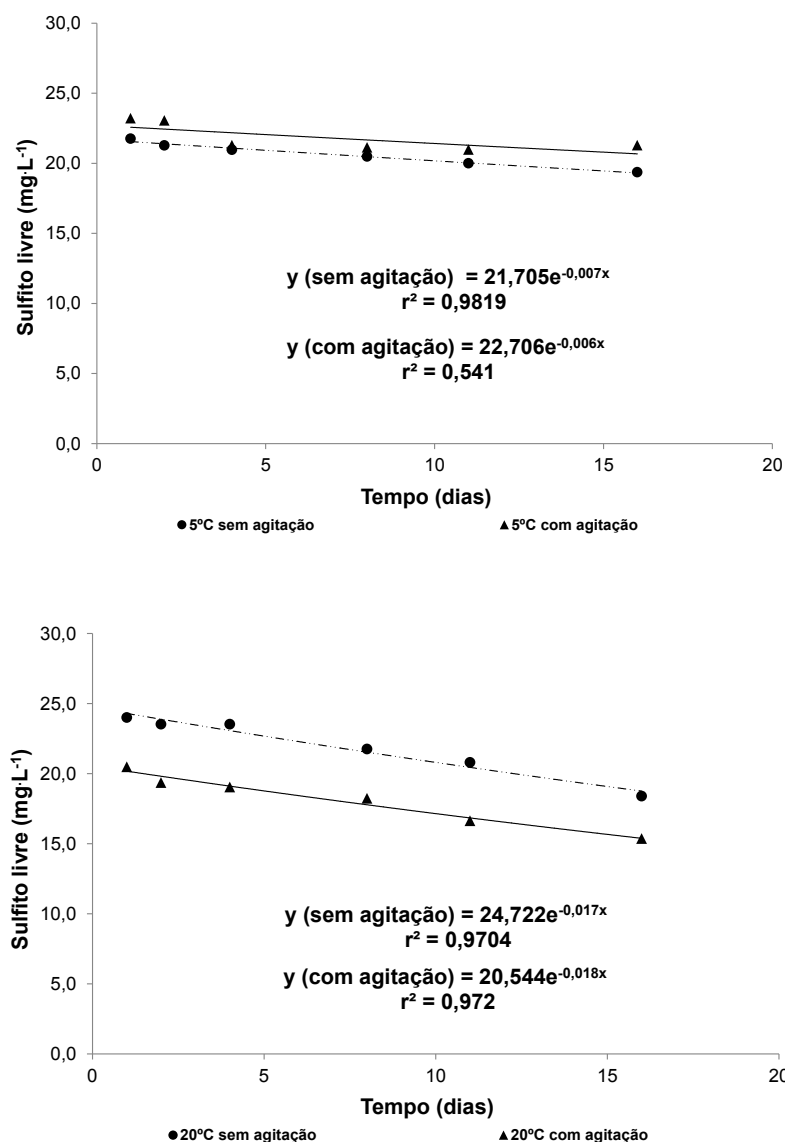


Figura 17 - Variação da concentração de sulfito livre das amostras de vinho branco submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

O tempo de meia-vida, que corresponde ao tempo necessário para reduzir à metade a concentração de um determinado composto ( $t_{1/2} = \ln 2 / K_d$ ), das concentrações de sulfito livre das amostras de vinho branco está representado na tabela 3. É possível observar que o tempo de meia-vida das amostras estocadas a 20°C são muito menores do que o tempo de meia-vida das amostras estocadas a 5°C, indicando que o vinho branco estocado em temperaturas mais elevadas sofre uma maior decomposição de sulfito livre durante a vida de prateleira secundária.

Tabela 3 - Valores para a taxa de degradação ( $K_d$ ) e tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) da concentração de sulfito livre nas amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária

Amostra	SO <sub>2</sub> livre	
	$K_d$ (dias <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dia)
B <sub>1</sub>	$0,7 \times 10^{-2}$	99,02
B <sub>2</sub>	$0,6 \times 10^{-2}$	115,52
B <sub>3</sub>	$1,7 \times 10^{-2}$	40,77
B <sub>4</sub>	$1,8 \times 10^{-2}$	38,51

A variação da concentração de sulfito combinado nas amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária está representada na figura 18.

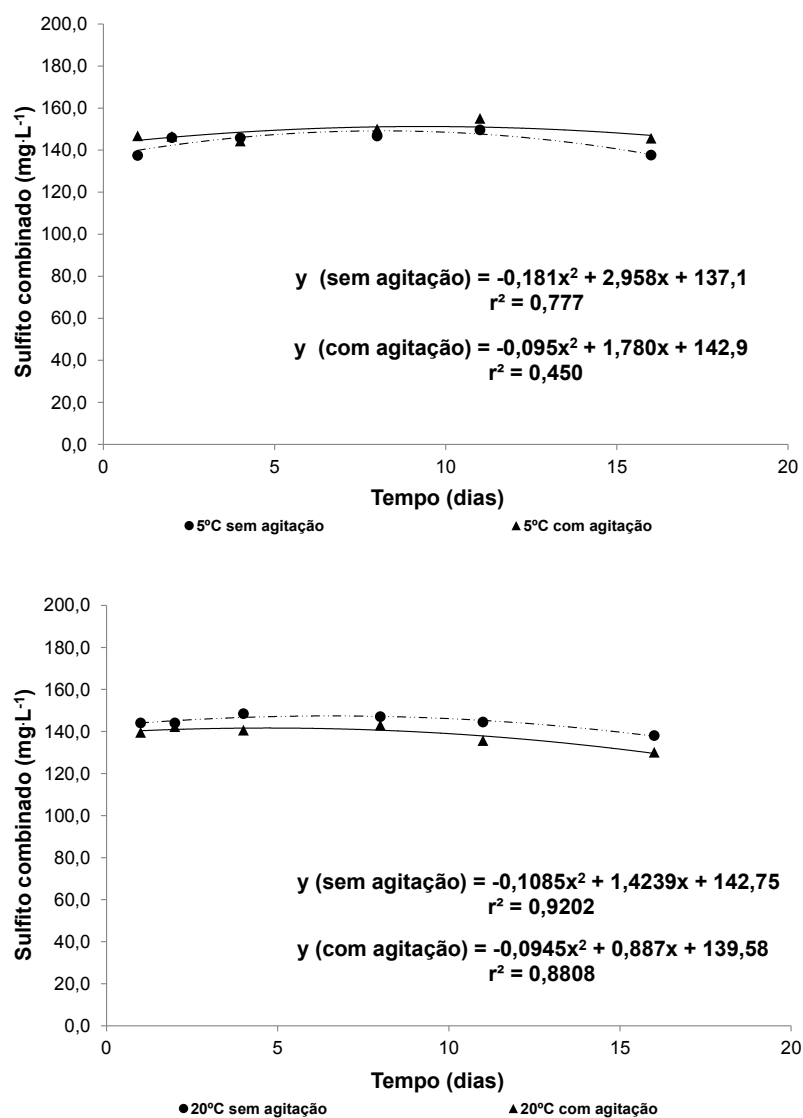


Figura 18 - Variação da concentração de sulfito combinado das amostras de vinho branco submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

À medida que se observa uma diminuição nas concentrações de sulfito livre, é esperado haver um aumento da concentração de sulfito combinado, devido à reação do dióxido de enxofre com outros compostos, como aldeídos, antocianinas e proteínas. As amostras de vinho branco estocadas a 5°C apresentaram um aumento da concentração de SO<sub>2</sub> combinado até o 11º dia da vida de prateleira secundária e depois diminuíram a sua concentração até o 16º dia. As amostras estocadas a 20°C também aumentaram a concentração de SO<sub>2</sub> combinado durante a vida de prateleira secundária, chegando à sua máxima concentração em um período de tempo menor do que as amostras estocadas a 5°C, e posteriormente seguindo uma queda nas suas concentrações até o 16º dia.

A variação da concentração de sulfito total das amostras de vinho branco durante a vida de prateleira secundária está representada na figura 19.

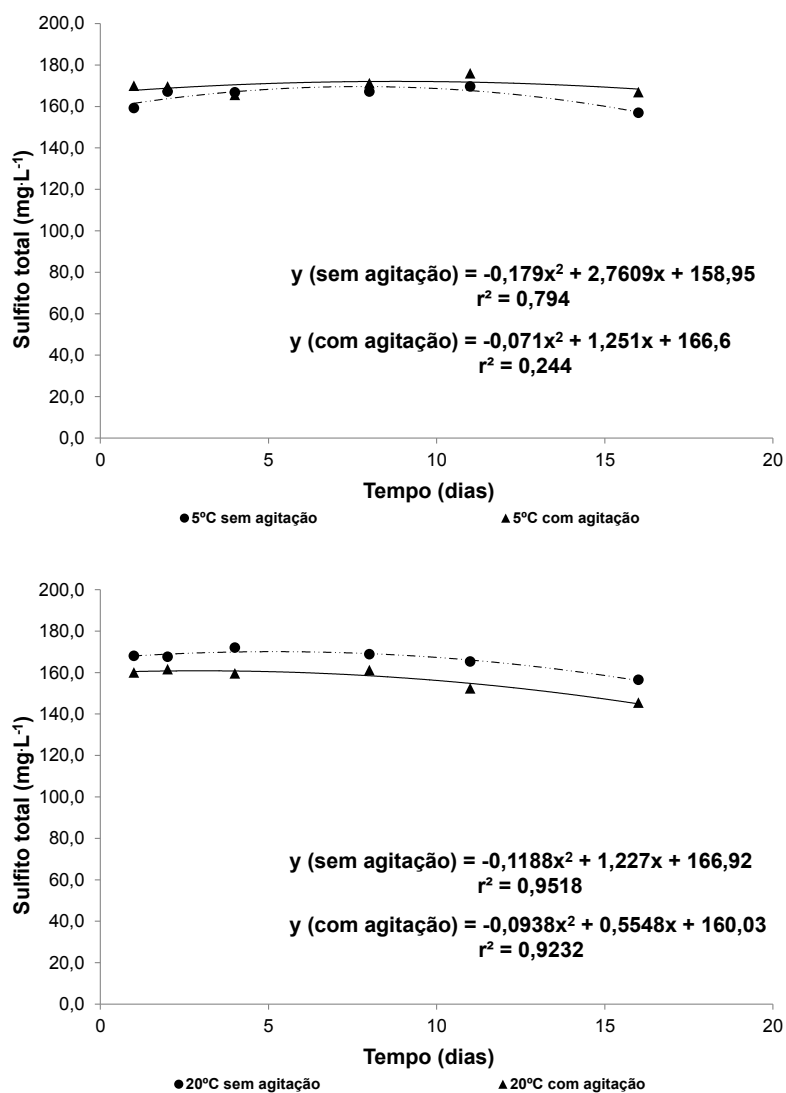


Figura 19 - Variação da concentração de sulfito total das amostras de vinho branco submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Houve uma redução da concentração de SO<sub>2</sub> total em todas as amostras durante este período. As amostras estocadas a 5°C apresentaram um aumento na concentração de sulfito total até o 11º dia da vida de prateleira secundária, seguido por uma posterior diminuição até o 16º dia. A amostra estocada a 20°C sem agitação apresentou um comportamento semelhante às amostras estocadas a 5°C, chegando a um máximo em sua concentração em um período de tempo menor, e depois seguindo uma queda nesta concentração até o 16º dia. A amostra estocada a 20°C com agitação (B<sub>4</sub>) foi a única que não apresentou um aumento na concentração de SO<sub>2</sub> total ao longo do período de estocagem, apresentando a maior diminuição da concentração de SO<sub>2</sub> total entre as amostras de vinho branco.

A variação da concentração de sulfito livre das amostras de vinho tinto está representada na figura 20.

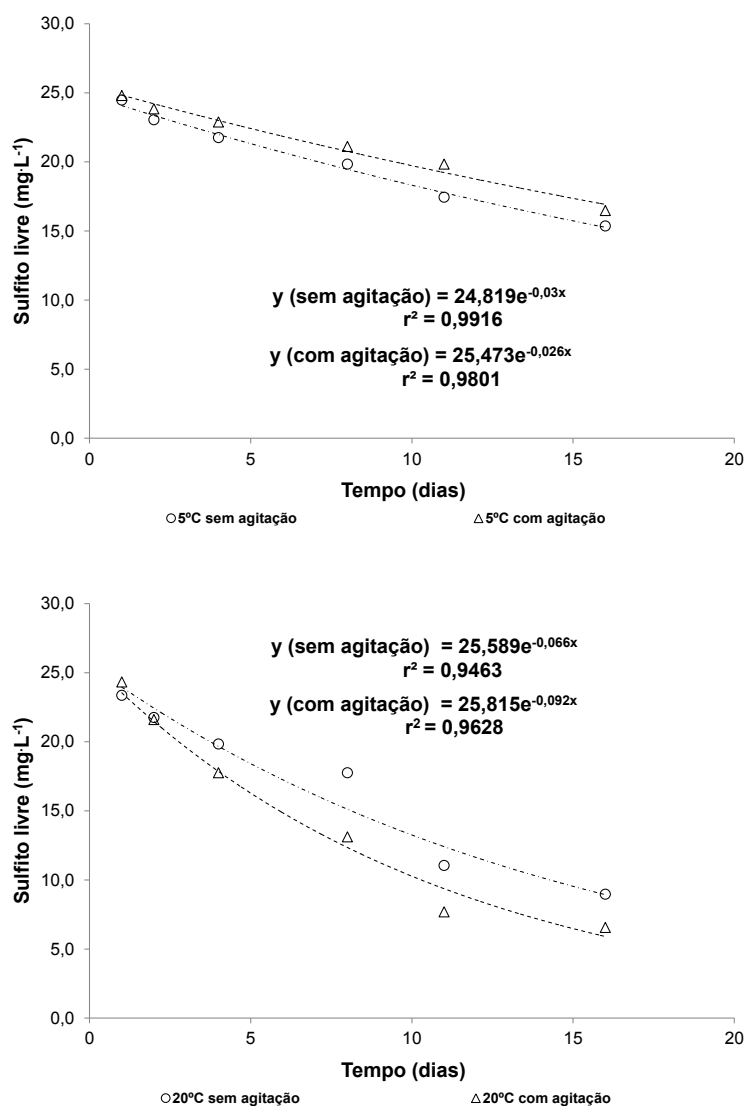


Figura 20 - Variação da concentração de sulfito livre das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

Pode-se observar que, assim como no vinho branco, houve uma diminuição da concentração de sulfito livre em todas as amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária. As amostras estocadas a 20°C foram as que mais observaram um decréscimo na concentração de SO<sub>2</sub> livre, sendo maior na amostra que foi submetida à agitação (T<sub>4</sub>).

O tempo de meia-vida das amostras de vinho tinto, representada na tabela 4, foi menor do que o tempo de meia-vida de todas as amostras de vinho branco, indicando que o consumo de sulfito livre é muito maior em vinho tinto do que em vinho branco durante a vida de prateleira secundária.

Tabela 4 - Valores para a taxa de degradação (K<sub>d</sub>) e tempo de meia-vida (t<sub>1/2</sub>) da concentração de sulfito livre nas amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária

Amostra	SO <sub>2</sub> livre	
	K <sub>d</sub> (dias <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (dia)
T <sub>1</sub>	3 X 10 <sup>-2</sup>	23,1
T <sub>2</sub>	2,6 X 10 <sup>-2</sup>	26,66
T <sub>3</sub>	6,6 X 10 <sup>-2</sup>	10,5
T <sub>4</sub>	9,2 X 10 <sup>-2</sup>	7,53

A variação da concentração de sulfito combinado das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária está representada na figura 21. Foi observado um aumento na concentração de SO<sub>2</sub> combinado nas amostras que não receberam agitação (T<sub>1</sub> e T<sub>3</sub>) até o 8º dia da vida de prateleira secundária, ocorrendo um decréscimo desta concentração até o 16º dia. Foi observado um comportamento diferente para as amostras que receberam agitação (T<sub>2</sub> e T<sub>4</sub>). Houve um aumento na concentração de SO<sub>2</sub> combinado na amostra estocada a 5°C com agitação (T<sub>2</sub>) até o fim do período experimental, comparado com a concentração inicial. A amostra estocada a 20°C com agitação (T<sub>4</sub>) foi a única que não aumentou a concentração de SO<sub>2</sub> combinado ao longo do período experimental, sendo a amostra que mais reduziu a concentração de SO<sub>2</sub> combinado entre todas as amostras de vinho tinto.

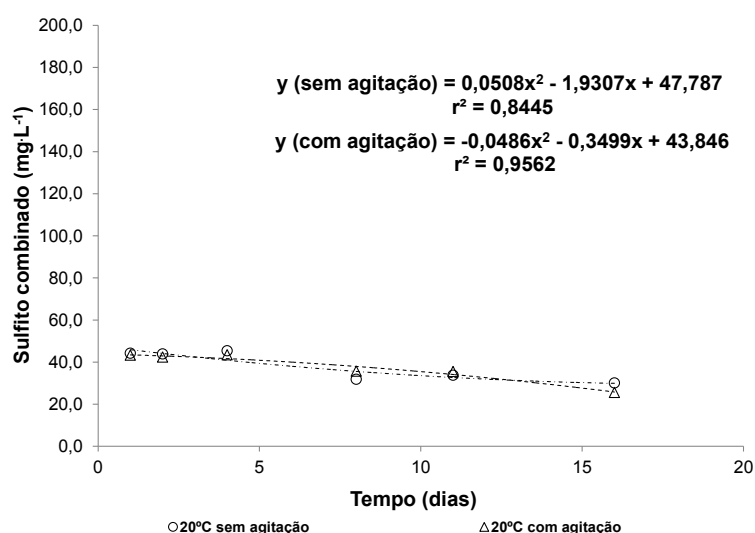
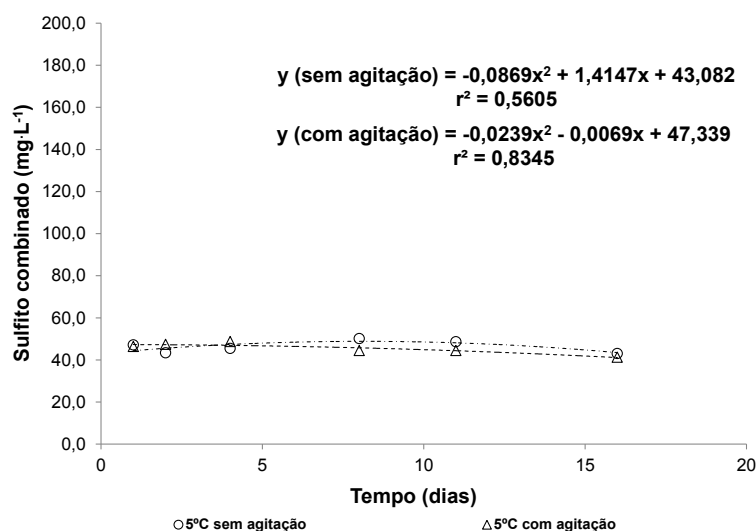


Figura 21 - Variação da concentração de sulfito combinado das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

A concentração de sulfito total das amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária está representada na figura 22. Foi observada uma redução da concentração de SO<sub>2</sub> total em todas as amostras de vinho tinto durante este período. Observa-se uma maior redução da concentração de SO<sub>2</sub> total nas amostras estocadas a 20°C durante todo o período experimental. As amostras estocadas a 5°C também tiveram uma redução na concentração de SO<sub>2</sub> total, embora menor do que as amostras estocadas a 20°C, o que indica que a temperatura de estocagem influencia no consumo de SO<sub>2</sub> total nas amostras de vinho tinto durante a vida de prateleira secundária.

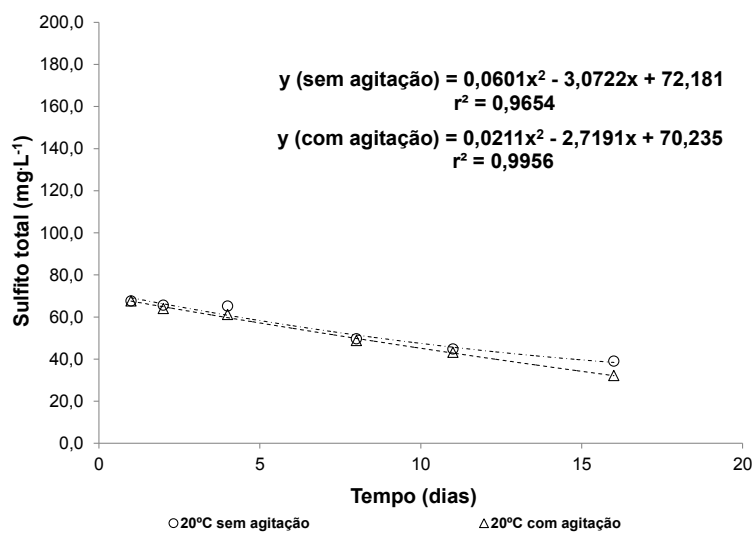
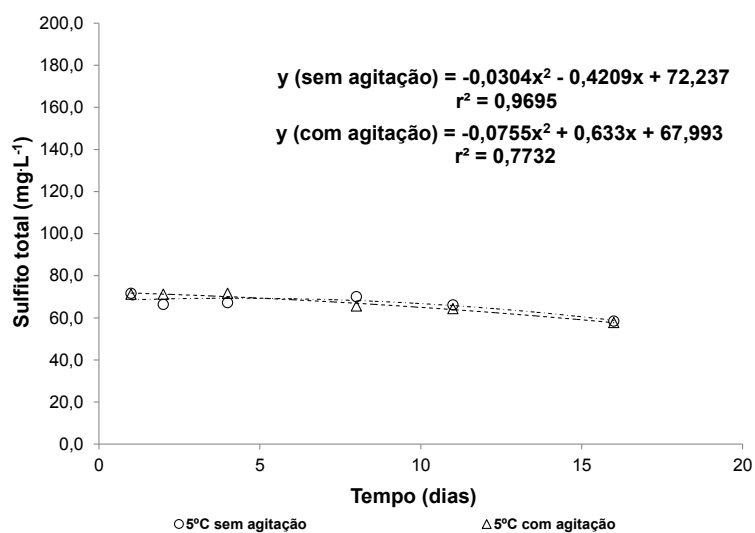


Figura 22 - Variação da concentração de sulfito total das amostras de vinho tinto submetidas aos diferentes tratamentos durante a vida de prateleira secundária

## 6. CONCLUSÃO

O tempo foi o fator que mais influenciou na qualidade dos vinhos durante a vida de prateleira secundária. De uma maneira geral, o vinho branco teve um comportamento semelhante ao vinho tinto em algumas variáveis, principalmente com relação à acidez e concentração de sulfitos. Houve um decréscimo da acidez volátil e um aumento da acidez fixa e total em ambos os vinhos. Embora o vinho branco possua uma concentração de sulfito total maior do que o vinho tinto, a taxa de degradação do sulfito livre do vinho tinto foi muito maior do que no vinho branco, especialmente nas amostras estocadas a 20°C.

A temperatura foi um fator determinante na vida de prateleira secundária do vinho tinto, pois não houve influência da temperatura sobre nenhum dos tratamentos atribuídos ao vinho branco. Foi observado efeito da temperatura de estocagem e do tempo em diversas variáveis de cor do vinho tinto, indicando que esse tipo de vinho torna-se bastante sensível durante a vida de prateleira secundária, apresentando variação em vários aspectos de sua cor. As amostras estocadas a 20°C foram as que mais apresentaram variação nas coordenadas cromáticas  $a^*$ ,  $C^*$  e  $H^*$  e nos índices  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  e  $A_{620}$  das amostras de vinho tinto.

A agitação, por sua vez, não exerceu influência na qualidade dos vinhos durante a vida de prateleira secundária e, portanto, não se constitui em um fator determinante para a alteração de vinhos durante esse período. Este resultado indica que, durante a vida de prateleira secundária, uma garrafa de vinho pode ser manejada livremente sem ocorrer significativas alterações de qualidade devido a esses movimentos.

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram a tendência das características gerais de vinhos brancos e tintos durante um período de 16 dias da vida de prateleira secundária. As informações aqui contidas visam suprir a comunidade acadêmica com dados a respeito da vida de prateleira secundária de vinhos brancos e tintos brasileiros, visto que até o momento há uma carência de estudos relacionados a este fenômeno que ocorre a cada vez que se abre uma garrafa de vinho.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. *Methods for analysis of musts and wines*. New York: John Wiley & Sons, 341p. 1980.
- AMERINE, M. A.; ROESSLER, E. B. *Wines – Their sensory evaluation*. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 432p. 1983.
- AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. *Wine and must analysis*. 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 377p. 1986.
- ANISZEWSKI, T.; LIEBEREI, R.; GULEWICZ, K. Research on catecholases, laccases and cresolases in plants. Recent progress and future needs. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 50, p.7-18, 2008.
- BARTOWSKY, E. J.; HENSCHKE, P. A. Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.125, p.60-70, 2008.
- DE BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLUM, W. C. A.; MANLEY, M. Changes in the phenolic composition and antioxidant activity of Pinotage, Cabernet Sauvignon, Chardonnay and Cheninblanc wines during bottle ageing. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v.26, p.6-15, 2005.
- BOULTON, R. B. A method for the assessment of copigmentation in red wines. Presented at the 47th Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture, Reno, NV, June, 1996.
- BOULTON, R. B. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine – A critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.52, p.67-87, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 229, de 25 de Outubro de 1988. Aprova as normas referentes à complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e revoga a portaria nº 84, de 25 de Abril de 1988. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Outubro, 1988a.

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Lei nº 7.678, de 8 de Novembro de 1988. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Novembro, 1988b.
- BRASIL. Casa Civil. Decreto nº 113, de 6 de Maio de 1991. Altera o Decreto nº 99.066, de 8 de Março de 1990, que regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de Novembro de 1988. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Maio, 1991.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Lei nº 10.970, de 12 de Novembro de 2004. Altera dispositivos da Lei nº 7.678, de 8 de Novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Novembro, 2004.
- CARRARO, S.; CESCA, M.; NILSON, S. T. Manual de análises físico-químicas. Cooperativa Vinícola Aurora LTDA, Bento Gonçalves, RS, 2010.
- CASTILHOS, M. B. M.; DEL BIANCHI, V. L. Caracterização físico-química e sensorial de vinhos brancos da região noroeste de São Paulo. **Holos** – ISSN 1807-1600, v.4, 2011.
- CASTILLO-MUÑOZ, N.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.7883-7891, 2009.
- COETZEE, C. Oxygen and sulphur dioxide additions to Sauvignon Blanc: effect on must and wine composition. Dissertação de mestrado. 74p. Universidade de Stellenbosch. Stellenbosch, 2011.
- DANIELEWICZ, J. C. Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine model system: Central role of iron and copper. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.58, p.53–60, 2007.

- DAVIES, A.; MAZZA, G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.716-720, 1993.
- DU TOIT, W. J.; MARAIS, J.; PRETORIUS, I. S.; DU TOIT, M. Oxygen in must and wine: A review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v.27, p.76-94, 2006.
- ESCUADERO, A.; ASENSIO, E.; CACHO, J.; FERREIRA, V. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. **Food Chemistry**, v.77, p.325-331, 2002.
- ESPARZA, I.; SANTAMARÍA, C.; FERNÁNDEZ, J. M. Chromatic characterization of three consecutive vintages of *Vitis vinifera* red wine. Effect of dilution and iron addition. **Analytica Química Acta**, v.563, p.331-337, 2006.
- ESPÍN, J. C.; MORALES, M.; VARÓN, R.; TUDELA, J.; GARCÍA-CÁNOVAS, F. A continuous spectrophotometric method for determining the monophenolase and diphenolase activities of apple polyphenol oxidase. **Analytical Biochemistry**, v.231, p.237-246, 1995.
- ESPÍN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCIA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1588-1592, 2000.
- FERNANDES, A. L. M. A. P. Impacto da rolha de cortiça na composição polifenólica de vinhos tintos engarrafados. Dissertação de mestrado. 161p. Universidade do Porto, Porto, 2007.
- FU, L. Y.; LIM, T.; MCNICHOLAS, P. D. Changes on enological parameters of white wine packaged in bag-in-box during secondary shelf life. **Journal of Food Science**, v.74, p.608-618, 2009.

- FULCRAND, H.; DUENAS, M.; SALAS, E.; CHEYNIER, V. Phenolic reactions during winemaking and aging. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.57, p.289–297, 2005.
- GODDEN, P.; FRANCIS, L.; FIELD, J.; GISHEN, M.; COULTER, A.; VALENTE, P.; HOJ, P.; ROBINSON, E. Wine bottle closures: physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine. Performance up to 20 months post-bottling. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.7(2), p.64–105, 2001.
- GÓMEZ-PLAZA, E.; GIL-MUÑOZ, R.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; MARTÍNEZ, A. Color and phenolic compounds of a young red wine as discriminating variables of its ageing status. **Food Research International**, v.32, p.503-507, 1999.
- GÓMEZ-PLAZA, E.; CANO-LÓPEZ, M. A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. **Food Chemistry**, v.125, p.1131–1140, 2011.
- GUERRA, C. C. Compostos fenólicos do vinho. In: Vinho e Saúde: vinho como alimento natural. Simpósio Internacional Vinho e Saúde. Bento Gonçalves: Ibravin, p.39-40, 2005.
- HEREDIA, F. J.; FRANCIA-ARICHA, E. M.; RIVAS-GONZALO, J. C.; VICARIO, I. M.; SANTOS-BUELGA, C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grape – I. pH effect. **Food Chemistry**, v.63, p.491-498, 1998.
- HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a Cencibel young red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4079-4083, 2003.
- HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; LORENZO, E. S.; ESPINOSA, A. V. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. **Food Chemistry**, v.92, p.269–283, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1020p. 4.ed. 2008.

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE (OIV). Compendium of international methods of wine and must analysis. 2012.

JACKSON, R.S. Wine science, principles and applications. Academic Press-Elsevier, Burlington, USA. 751p. 3.ed. 2008.

KALLITHRAKA, S.; SALACHA, M. I.; TZOUROU, I. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. **Food Chemistry**, v.113, p.500–505, 2009.

KARBOWIAK, T; GOUGEON, R. D.; ALINC, J. B.; BRACHAIS, L.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A.; CHASSAGNE, D. Wine oxidation and the role of the cork. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.50, p.20-52, 2010.

KILMARTIN, P. A. The oxidation of red and white wines and its impact on wine aroma. **Chemistry in New Zealand**, v.73, p.18-22, 2009.

KINSELLA, J. E.; FRANKEL, E.; GERMAN, B.; KANNER, J. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. **Food Technology**, v.47, p.85-89, 1993.

KOBAYASHI, S.; NAKANO, M.; KIMURA, T.; SCHAAP, A. P. On the mechanism of the peroxidase-catalyzed oxygen-transfer reaction. **Biochemistry**, v.26, p.5019-5022, 1987.

LAGO-VANZELA, E. S.; REBELLO, L. P. G.; RAMOS A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA SILVA, R.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S. HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Chromatic characteristics and color-related phenolic composition of Brazilian young red wines made from the hybrid grape cultivar BRS Violeta (“BRS Rúbea” x “IAC 1398-21”). **Food Research International** v.54, p.33-43, 2013.

- LEE, D. H.; KANG, B. S.; PARK, H. J. Effect of oxygen on volatile and sensory characteristics of Cabernet Sauvignon during secondary shelf life. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59(21), 11657-66, 2011.
- LI, H.; GUO, A.; WANG, H. Mechanisms of oxidative browning of wine. **Food Chemistry**, v.108(1), p.1-13, 2008.
- LIMA, N. E. F. Perfil fenólico e atividade antioxidante de vinhos Goethe – caracterização e evolução durante o armazenamento em garrafa. Dissertação de mestrado. 136p. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- LONA, A. A. Vinhos – Degustação, Elaboração e Serviço. Porto Alegre: Editora Age Ltda, 151p. 1996.
- LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociências**, v.13, p.291-297, 2007.
- LÓPEZ, N.; PUÉRTOLAS, E.; HERNÁNDEZ-ORTE, P.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Effect of a pulsed electric field treatment on the anthocyanins composition and other quality parameters of Cabernet Sauvignon freshly fermented model wines obtained after different maceration times. **Food Science and Technology**, v.42, p.1225–1231, 2008.
- MACHADO, R. M. D.; TOLEDO, M. C. F. Sulfitos em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p.265-275, 2006.
- MALACRIDA, C. R.; DA MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.24, p.59-82, 2006.
- MAYÉN, M.; BARÓN, R.; MÉRIDA, J.; MEDINA, M. Changes in phenolic compounds during accelerated browning in white wines from cv. Pedro Ximenes and cv. Baladi grapes. **Food Chemistry**, v.58, p.89-95, 1997.

- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v.25, p.207-225, 1987.
- MAZZOCHI, C. L.; IDE, G. M. Características de alguns vinhos produzidos em Santa Catarina. **Revista Agropecuária Catarinense**, v.7, p.17-19, 1994.
- MCRAE, J. M.; DAMBERGS, R. G.; KASSARA, S.; PARKER, M.; JEFFERY, D. W.; HERDERICH, M. J.; SMITH, P. A. Phenolic compositions of 50 and 30 year sequences of Australian red wines: The impact of wine age. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60(40), p.10093-10102, 2012.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-428, 1959.
- MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.45, p.85– 118, 2005.
- MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinífera* L. during ageing in bottle. **Food Chemistry**, v.95, p.405–412, 2006.
- NÚÑEZ-DELICADO, E.; SERRANO-MEGÍAS, M.; PÉREZ-LÓPEZ, A. J.; LÓPEZ-NICOLÁS, J. M. Characterization of polyphenol oxidase from Napoleon grape. **Food Chemistry**, v.100, p.108-114, 2007.
- OLIVEIRA, C. M.; FERREIRA, A. C. S.; DE FREITAS, V.; SILVA, A. M. S. Oxidation mechanisms occurring in wines. **Food Research International**, v.44, p.1115-1126, 2011.
- OLIVEIRA, I. R. N. O. Antocianinas extraídas de capim-gordura (*Melinis minutiflora*): Atividade antioxidante, microencapsulamento por atomização e estabilidade. Dissertação de mestrado. 130p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

- PEREIRA, A. F. Suplementação de nitrogênio sobre a fermentação alcoólica para produção de cachaça, cerveja e vinho. Dissertação de mestrado. 99p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- PUKALSKAS, A.; BEEK, T. A. V.; VENSKUTONIS, R. P.; LINSSEN, J. P. H.; VELDHUIZEN, A. V.; DE GROOT, A. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochioeodorata*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2914-2919, 2002.
- RAPEANU, G.; LOEY, A. V.; SMOUT, A. V.; HENDRICKX, M. Biochemical characterization and process stability of polyphenol oxidase extracted from Victoria grape (*Vitis vinifera* ssp. *Sativa*). **Food Chemistry**, v.94, p.253-261, 2006.
- RECAMALES, A. F.; SAYAGO, A.; GONZALEZ-MIRET, L.; HERNANZ, D. The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. **Food Research International**, v.39, p.220–229, 2006.
- REMY-TANNEAU, S. L.; GUERNEVE, C.; MEUDEC, E.; CHEYNIER, V. Characterization of a colorless anthocyanin-flavan-3-ol dimer containing both carbon-carbon and ether inter flavonoid linkages by NMR and mass spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.3592-3597, 2003.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. Tratado de enología: química del vino, estabilización y tratamientos. Buenos Aires: Hemisfério Sur, v.2, 537p. 2003.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. Handbook of enology - the chemistry of wine stabilization and treatments. Wiley, West Sussex, v.2, 441p. 2006.
- RIVERO-PÉREZ, M. D.; MUÑIZ, P.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. **Food and Chemical Toxicology**, v.46(8), p.2815–2822, 2008.

- RIZZON, L. A.; BRESSAN, W. Relação álcool em peso/extrato seco reduzido dos vinhos tintos da cultivar Cabernet Franc. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves. Embrapa Uva e Vinho – ISSN 0101-9696, n.6, 3p. 1982.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A. Extrato seco total de vinhos brasileiros: comparação de métodos analíticos. **Ciência Rural**, v.26, p.297-300, 1996.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J.; ZANUZ, M. Efeito de três processos de vinificação sobre a composição química e a qualidade do vinho Cabernet franc. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34(7), p.1285-1293, 1999.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. Merlot para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.156-161, 2003.
- RIZZON, L. A. Metodologia para análise de vinho. Embrapa informação tecnológica, 120p. 2010.
- RIZZON, L. A.; MIELE, A.; SCOPEL, G. Características analíticas de vinhos Riesling Itálico da serra gaúcha. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.17, p.273-276, 2011.
- RODRIGUES, J. A. Determinação da actividade antioxidante e composição fenólica de vinhos portugueses e correlação com parâmetros de cor. Dissertação de mestrado. 143p. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.
- SALACHA, M. I.; KALLITHRAKA, S.; MARMARAS, I.; KOUSSISSI, E.; TZOUROU, I. A natural alternative to sulphur dioxide for red wine production: Influence on colour, antioxidant activity and anthocyanins content. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, p.660-666, 2008.
- SAMPAIO, J. M. L. I. Desenvolvimento de um método para envelhecimento acelerado de um vinho engarrafado com diferentes tipos de vedantes. Dissertação de mestrado. 49p. Universidade do Porto, Porto, 2008.

- SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.
- SANTOS, M. Análise cromática de vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon do Rio Grande do Sul. Dissertação de mestrado. 78p. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.
- SELINHEIMO, E.; NIEIDHIN, D.; STEFFENSEN, C.; NIELSEN, J.; LOMASCOLO, A.; HALAOULI, S.; RECORD, E.; O'BEIRNE D.; BUCHERT J.; KRUS, K. Comparison of the characteristic of fungal and plant tyrosinases. **Journal of Biotechnology**, v.130, p. 471-480, 2007.
- SINGLETON, V. L.; KRAMLING, T. E. Browning of white wines and an accelerating test for browning capacity. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.27, p.157–160, 1976.
- SOMERS, T. C. The polymeric nature of wine pigments. **Phytochemistry**, v.10, p.2175-2186, 1971.
- STRINGHETA, P. C. Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv). Tese de doutorado. 138p. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.
- VIVAR-QUINTANA, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J. C. Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. **Analytica Chimica Acta**, v.458, p.147-155, 2002.
- WATERS, E. J.; PENG, Z.; POCOCK, K. F.; WILLIAMS, P. J. The role of corks in oxidative spoilage of white wines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.2(3), p.191–197, 1996.
- WEDZICHA, B. L. Chemistry of sulphiting agents in food. **Food Additives and Contaminants**, v.5, p.449-459, 1992.

WROLSTAD, R. E. Color and pigment analysis in fruit products. Corvallis: Oregon Agricultural Experimental Station, 17p. 1976.

ZOECKLEIN, B. W.; FUGELSANG, K. C.; GUMP, B. H.; NURY, F. S. Wine analysis and production. Kluwer Academic Publishers, New York, 621p. 1995.