

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS  
ALIMENTOS**

**ATUAÇÃO DE BENTONITE E POLIVINILPOLIPIRROLIDONA (PVPP)  
NA CLARIFICAÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Heber Rodrigues Silva**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2011**

**ATUAÇÃO DE BENTONITE E POLIVINILPOLIPIRROLIDONA (PVPP)  
NA CLARIFICAÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES**

Por

**Heber Rodrigues Silva**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),  
como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Orientador: Prof. Carlos Eugenio Daudt, PhD**

**Co-orientadora: Prof. Neidi Garcia Penna, Dra**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2011**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos  
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
Aprova a Dissertação de Mestrado

**ATUAÇÃO DE BENTONITE E POLIVINILPOLIPIRROLIDONA (PVPP)  
NA CLARIFICAÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES**

Elaborada por

**Heber Rodrigues Silva**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Comissão Examinadora:**

---

**Carlos Eugenio Daudt, PhD. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Eduardo Giovannini, Dr. (IFRS)**

---

**Patricia M. Grigoletto Londero, Dra. (UFSM)**

Santa Maria, abril de 2011.

*Aos meus pais Mária e Adelino  
por todo o apoio, incentivo  
e compreensão ao longo destes  
anos de estudo.  
A vocês que transformaram  
esse sonho em uma realidade  
dedico este trabalho!*

## AGRADECIMENTOS

Primordialmente, agradeço a Deus, pelas grandes oportunidades que sempre dispõe no meu caminho, e por ser essa força sublime que me ampara nos momentos de maior dificuldade e essa energia que me envolve a todo instante.

A meus pais e irmãos por me guiarem no caminho do bem e por seus exemplos de dignidade.

Aos meus avós, queridos, Marlê Anhaia, Enely e Merêncio Maycá, pelos bons sorrisos, boas orações e grande experiência.

Ao professor PhD Carlos Eugenio Daudt, meu orientador, pela paciência, pelos ensinamentos, por ser meu alicerce na iniciação a pesquisa, e, sobretudo, por ter possibilitado nessa jornada uma relação de amizade e compreensão. Muito obrigado e perdoe-me algumas falhas.

A MsC. Aline Fogaça, pela ajuda incondicional, exemplo de pesquisadora e profissional e, a Vinícola Velho Amâncio, sua família, por ter possibilitado fabricar os vinhos espumantes e pelo grande auxílio nessa etapa, meus mais sinceros agradecimentos.

Ao colega Thiago Schwanz, grande amigo, parceiro de degustar bons vinhos e por permitir utilizar o Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO), para realização de parte deste trabalho.

Ao prof. Dr. Auri Brackmann, por possibilitar a utilização de aparelhagem do Núcleo de Pesquisa Pós-Colheita (NPP) e a Dra. Cláudia Sautter pelo auxílio nas análises de gás carbônico e pela ajuda na organização dos resultados.

À professora Dra. Neidi Garcia Penna, minha co-orientadora e amiga, por sua tranquilidade e, pelas dúvidas sanadas relativas às análises físico-químicas.

A professora Dra. Neila Richards, pelo entusiasmo, amizade e ajuda. Sentirei saudades das conversas e dos debates estatísticos.

As professoras Dra. Maria da Graça e Dra. Patrícia pelos sorrisos e boas conversas.

À Marialene Manfio, nossa química, obrigado pelo chá e amizade todas as manhãs, ao Moisés pelo auxílio e as disputas grenais e, Lia e Marta, engraçadíssimas, lembrarei com muita saudade de todos vocês.

À família do Coronel Almeida Rosa, tia Narimar e tio Paulo, tia Erika, Georgina, Giordano e vó Zilda, por ser minha segunda família e pelo grande carinho que dispensam a mim sempre.

Às colegas Simone e Cristiane, pela amizade, companheirismo e pelos grandes momentos durante esses dois anos. Aos colegas Mári Sílvia, Viviane Dalmolin, Mariele Santos, Raul Girardello, Carine Comarella e Giliani Sartori, também pela amizade, pelos sorrisos e bons exemplos de profissionalismo.

Ao Rudolf, Paola e Taiani, pela grande ajuda nas análises de Nitrogênio total e amizade, meu reconhecimento e, aos demais companheiros do Nidal, Gitane, Mariana, Mári Paixão, Ana Paula, Julcemar, Diego e prof. Laerte, enfim, a família “Nidalense” obrigado pelos churrascos e convivência ímpar.

Aos acadêmicos da Agronomia, Alécio, Felipe, Leandro e Alex, por manifestarem interesse em trabalhar comigo após terem sido meus alunos na docência orientada. Muito obrigado pelo reconhecimento.

Aos meus grandes e verdadeiros amigos de Rosário do Sul e a formação na “nação rosariense” em Santa Maria, Maitê, Camila, Simone, Suelen, Gabi, Namir, Henrique, Matheus, Bruno, Tati, Gustavo, Jojô, Ana Clara, Taís, Mári, Carla, Vaner, Filipe, Louise, Andressa, Barin, Letícia, Paula, Cheila, Vilene, Flávia, Dieison e Fernanda muito obrigado pelos momentos de descontração e alegrias.

A Universidade Federal de Santa Maria e a CAPES pela concessão da bolsa.

Enfim, a todos aqueles que presente ou não torcem pelo meu sucesso e enviam pensamentos e energias positivas a mim, o meu muito obrigado!

*“O nosso ideal, devemos colocá-lo nas estrelas,  
ainda que fiquemos no meio do caminho”*

***Leon Tolstoi***

# RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Universidade Federal de Santa Maria

## ATUAÇÃO DE BENTONITE E POLIVINILPOLIPIRROLIDONA (PVPP) NA CLARIFICAÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES

**AUTOR: HEBER RODRIGUES SILVA**

**ORIENTADOR: CARLOS EUGENIO DAUDT**

**CO-ORIENTADORA: NEIDI GARCIA PENNA**

Data e Local da defesa: Santa Maria, 14 de abril de 2011.

O tamanho e persistência das bolhas é uma das características buscadas pelos consumidores de vinhos espumantes. Esta *perlage* está intimamente ligada a produtos nitrogenados, geralmente proteínas de baixo peso molecular. Por outro lado, bentonite e polivinilpolipirrolidona (PVPP) são colas usadas tanto na limpeza do vinho base quanto na limpeza do vinho espumante propriamente dito, ou seja, na fermentação em garrafas, podendo ainda, arrastar compostos fenólicos do meio. O intuito desta pesquisa foi avaliar a ação destes dois clarificantes frente à *perlage*, sinônimo de qualidade deste tipo de vinho. Para isto foram elaborados vinhos espumantes, constituindo 9 tratamentos e 3 repetições, onde foram variadas as quantidades de cada clarificante, interagindo ou não em um mesmo tratamento, havendo ainda um tratamento controle sem a adição de ambos clarificantes. Foi efetuado um estudo da quantificação de nitrogênio total, através do método Micro-Kjedahl, análise de dióxido de carbono, compostos fenólicos totais, oxigênio, tempo de *perlage* e algumas análises físico-químicas clássicas que caracterizaram o produto. Notou-se que a adição de bentonite e polivinilpolipirrolidona foi primordial para controlar o processo de turvação dos espumantes, pois, verificou-se uma diminuição do teor de nitrogênio total a partir do aumento das doses das colas. Observou-se também que, os tratamentos com adição de polivinilpolipirrolidona reduziram o teor de compostos fenólicos totais em comparação aos que foram adicionados somente com bentonite, confirmando a capacidade de ligação mais íntima entre polivinilpolipirrolidona e fenóis que bentonite e fenóis. A clarificação reduziu o tempo de *perlage* em relação direta à diminuição da quantidade de nitrogênio total dos tratamentos. Em relação ao dióxido de carbono, notou-se que, em alguns tratamentos não ocorreu uma correlação entre a concentração de dióxido de carbono e a *perlage*. Talvez a temperatura de serviço do líquido, a diferença entre as paredes de vidro das diferenças taças ou restos de resíduos na taça gerado por detergente, tenha ocasionando distintos sítios de nucleação.

Palavras-chave: nitrogênio, *perlage*, proteínas, turbidez, espuma.

# **ABSTRACT**

Masters Dissertation

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Universidade Federal de Santa Maria

## **PERFORMANCE OF BENTONITE AND POLYVINYLPIRROLIDONE (PVPP) IN THE CLARIFICATION OF SPARKLING WINE**

**AUTHOR: HEBER RODRIGUES SILVA**

**ADVISER: CARLOS EUGENIO DAUDT**

**CO-ADVISER: NEIDI GARCIA PENNA**

Date and place of defense: Santa Maria, april 14, 2011.

The size and persistence of the bubbles is one of the characteristics pursued by consumers of sparkling wine. The *perlage* is closely linked to nitrogen products, usually proteins of low molecular weight. Furthermore, bentonite and polyvinylpyrrolidone (PVPP) are glues used both in cleaning up the base wine and the sparkling wines, in other words, the fermentation in bottles, and can even drag from the liquid the phenolic compounds. The aim of this study was to evaluate the action of these two clarifiers upon the *perlage*, a synonym for this type of wine quality. So sparkling wines were prepared, using nine treatments and three replications; the amount of polyvinylpyrrolidone and bentonite varied in each treatment and also a blank was made. It was analyzed total nitrogen, through Micro-Kjedahl, carbon dioxide, total phenols, oxygen, time that *perlage* lasts and some other classical physical-chemistry compounds. It was found that polyvinylpyrrolidone and bentonite additions were crucial to control turbidity of the sparkling wines; it was noted a decrease in total nitrogen when using increasing of both clarifiers. The treatments with polyvinylpyrrolidone alone reduced more the amounts of phenolic compounds when compared with those treated only with bentonite. This fait confirmed a higer bounding between polyvinylpyrrolidone and phenols than between bentonite and phenols. The clarification reduced the time that perlage lasted in a direct relationship with the decrease of total nitrogen. Some treatments did not show a relation between carbon dioxide and *perlage*; perhaps the temperature that the sparkling wine was poured in the cup, the difference among the glass walls of the different cups or yet, the residues in the glass (from soap etc.) caused different sites of nucleation.

Keywords: nitrogen, *perlage*, protein, turbidity, foam

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Produção de vinho espumante na primeira metade do século XX.....	21
Figura 2 - Comercialização de vinhos espumantes (litros espumante/ano) produzidos no RS em quatro anos consecutivos. Fonte: Adaptado de Mello (2010) .....	21
Figura 3 - Interação proteína-polifenóis como precursores da formação de turvação e sedimentos.....	26
Figura 4 - Estrutura química do PVPP .....	28
Figura 5 - Adsorção de catequinas por PVPP através de pontes de hidrogênio.....	29
Figura 6 - Formação de trilhos pelo desprendimento de gás e, nucleação de bolhas formadoras de efervescência.....	30
Figura 7 - Fluxograma de produção do vinho espumante.....	31
Figura 8 - Influência das doses e tipo de clarificante no teor de nitrogênio total (B= bentonite; P= polivinilpolipirrolidona). Tratamentos: (1= 0 B, 0 P; 2= 0 B, 25 P; 3= 0 B, 50 P; 4= 20 B, 0 P; 5= 20 B, 25 P; 6= 20 B, 50 P; 7= 40 B, 0 P; 8 = 40 B, 25 P; 9= 40 B, 50 P). .....	45
Figura 9 - Tempo de perlage em vinhos espumantes (minutos) (B= bentonite; P= PVPP. Tratamentos: (1= 0 B, 0 P; 2= 0 B, 25 P; 3= 0 B, 50 P; 4= 20 B, 0 P; 5= 20 B, 25 P; 6= 20 B, 50 P; 7= 40 B, 0 P; 8 = 40 B, 25 P; 9= 40 B, 50 P). .....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ANOVA** – Análise de variância

**AOC** – *Appelation d'origine Contrôlé*

**°C** – *Celsius*

**CTC** – Capacidade de Troca de Cátions

**EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**h** – Insolação total anual

**IH** – Índice de Huglin

**MERCOSUL** – Mercado Comum do Sul

**pH** – Potencial hidrogeniônico

**PVPP** – Polivinilpolipirrolidona

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coordenadas cartográficas e dados climáticos de duas regiões do RS. ....	19
Tabela 2 - Doses de Bentonite e PVPP e respectivos tratamentos .....	32
Tabela 3 - Média e desvio padrão de valores de acidez total e acidez volátil para os respectivos tratamentos. ....	37
Tabela 4 - Conteúdo de Álcool (% a 20°C) nos vinhos espumantes. ....	38
Tabela 5 - Valores encontrados para pH nos vinhos espumantes.....	40
Tabela 6 - Açúcares redutores (%) .....	41
Tabela 7 - Nitrogênio total (mg/L) nos vinhos espumantes .....	43
Tabela 8 - Quantidade de CO <sub>2</sub> (mL CO <sub>2</sub> /mL espumante).....	48
Tabela 9 - <i>Perlage</i> (minutos).....	49
Tabela 10 - Teor de oxigênio em vinhos espumantes (mL O <sub>2</sub> / mL espumante).....	52
Tabela 11 - Ter de compostos fenólicos (mg.L <sup>-1</sup> ) .....	54

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Vitivinicultura gaúcha</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Vinho Espumante</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3</b>	<b>Clarificação de vinhos espumantes: as proteínas e a colagem</b> .....	<b>24</b>
<b>3.4</b>	<b>Bentonite</b> .....	<b>26</b>
<b>3.5</b>	<b>Polivinilpolipirrolidona (PVPP)</b> .....	<b>28</b>
<b>3.6</b>	<b>Efervescência e o efeito da nucleação de bolhas</b> .....	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Análises físico-químicas</b> .....	<b>33</b>
4.1.1	Acidez Total e Volátil .....	33
4.1.2	Álcool em volume .....	33
4.1.3	Açúcares redutores .....	34
4.1.4	pH .....	34
<b>4.2</b>	<b>Dióxido de Carbono e Oxigênio</b> .....	<b>34</b>
<b>4.3</b>	<b>Análises químicas</b> .....	<b>35</b>
4.3.1	Nitrogênio total .....	35
4.3.2	Polifenóis totais .....	35
<b>4.4</b>	<b>Análise de <i>Perlage</i></b> .....	<b>36</b>
<b>4.5</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização físico-química dos vinhos espumantes</b> .....	<b>37</b>
5.1.1	Acidez total e acidez volátil .....	37

5.1.2	Grau alcoólico .....	38
5.1.3	pH.....	39
5.1.4	Açúcares redutores .....	41
<b>5.2</b>	<b>Nitrogênio total .....</b>	<b>42</b>
5.2.1	Influência quantitativa da aplicação de bentonite e polivinilpirrolidona na concentração de Nitrogênio total .....	45
<b>5.3</b>	<b>Dióxido de Carbono e <i>perlage</i> em vinhos espumantes .....</b>	<b>47</b>
<b>5.4</b>	<b>O oxigênio nos vinhos espumantes .....</b>	<b>51</b>
<b>5.5</b>	<b>Polifenóis totais em vinhos espumantes .....</b>	<b>53</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>56</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>

# 1 INTRODUÇÃO

Boa música traz deleite à alma; água do mar em corpo quente é um delicioso refrigerio; na pele, o frisson de uma leve carícia é puro paraíso; olhar o pôr-do-sol é paz para o espírito. A delícia do vinho é tudo isso: prazer do corpo e da alma, imponderável, agudeza dos sentidos, descoberta de sensações (SOUSA, 2005).

O vinho, bebida com milhares de anos de história, situa-se ao entendimento de especialistas e leigos, como arte. Essa definição, usual a fazer referência a esse produto, transpassa o viés comum a outros tipos de bebidas, ou a grande maioria das bebidas, onde o significado tem valor singular e não se permite ir além deste. Vinho é arte e ciência. Analisando pelo ponto de vista químico, esse produto é complexo, constituinte em água e etanol, contendo ainda uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos (POERNER, 2009). Por outro lado, o vinho supera expectativas e não fica a margem das manifestações artísticas, pois proporciona ao apreciador, uma vasta gama de matizes em cores, elegância, fineza e sensações, isso porque é resultado de um processo de fabricação em que os trabalhadores e produtores imprimem suas características culturais, gerando e perpetuando arte.

Um determinado tipo de vinho, com características muito peculiares, denominado vinho espumante é consagrado em algumas partes do mundo, sendo que na última década vem ganhando destaque no Brasil e expondo este, aos holofotes internacionais. Vinho espumante é a bebida resultante de uma segunda fermentação alcoólica, a partir de um vinho base (mutê), que proporciona formação natural de anidrido carbônico. Ao efetuar um passeio pela história deste tipo de vinho, vemos que ele nasceu no século XVII<sup>1</sup>, na França, mais precisamente na Abadia de *Saint-Pierre d'Hautvillers*, próximo a *Épernay*, na comuna de *Champagne*, sendo descoberto pelo monge beneditino Dom Pierre Pérignon (MACNEIL, 2003). A

---

<sup>1</sup> Mesmo sendo criado no século XVII, somente no século XVIII, por influência do Rei Luis XV e de sua amante, Madame Pompadour, o Champagne tornou-se efetivo e a partir de então, o símbolo da sofisticação e elegância da corte. Mais tarde, durante a Revolução Francesa, ficou a margem dos outros vinhos, por simbolizar poder e nobreza, sendo restaurado seu prestígio somente no Império de Napoleão Bonaparte e consagrado como elegante e erudito para a maioria das nações ocidentais até a atualidade.

bebida espumante é admirada e consumida por milhares de pessoas no mundo inteiro. Associada principalmente a festas simboliza conquista, alegria, comemoração e vitórias. É comumente referenciada em obras literárias e musicais, como exemplo, a Ópera *La Traviatta* de Giuseppe Verdi e também no cinema, em esculturas e pinturas. Grandes personalidades idolatravam esta, que conheciam como a mais atraente bebida alcoólica. Conta à lenda que certa vez Marilyn Monroe tomou um banho com 350 garrafas de champagne e, seu biógrafo assevera que ela bebia e inalava champagne com uma naturalidade corriqueira como se consumisse água (MACNEIL, 2003). Outra notável personalidade, o soprano lírico Maria Callas, dizia ser profunda apreciadora do champagne. Entusiasta ao consumo, ela afirmava que o indivíduo que consumisse tal bebida, além do charme que iria pairar na atmosfera presente, a intelectualidade com certeza o vestiria (LELAIT, 1998).

Muitos países são tradicionais produtores de Vinhos Espumantes, cada um com nome próprio, de acordo com a AOC<sup>2</sup>, como o “Asti” e “Prosecco” na Itália, a “Cava” na Espanha, “Sekt” na Alemanha, “Sparkling Wine” nos Estados Unidos, “Vinos Espumosos” na América Latina, com exceção do Brasil que o traduz “Vinhos Espumantes”, à língua portuguesa (ALBERT, 2008).

O Estado do Rio Grande do Sul, que tem sua produção de uvas iniciada em 1626 na região Missioneira, é o tradicional produtor de uvas e vinhos no Brasil. Este Estado teve sua geografia vitivinícola transformada nas últimas décadas. Transformação ocorrida a partir de resultados da pesquisa especializada gaúcha, que introduziu e fomentou o desenvolvimento no setor vitivinícola a partir do descobrimento da região da Campanha, com solo e insolação adequados, bem como ainda, por sua localização no mesmo paralelo de tradicionais países vitícolas do mundo como a Argentina, Uruguai, Chile e África do Sul. Relativo aos vinhos espumantes, não obstante, o Estado se coloca como maior produtor, abarcando ainda, medalhas em grandes concursos e mostras deste tipo de vinho pelo mundo inteiro, transformando e consolidando o país como vitrine promissora para produção de vinhos espumantes.

A tecnologia enológica vem sendo amplamente utilizada, o que reflete em sucesso. A clarificação é uma importante constante aplicada tecnologicamente, pois,

---

<sup>2</sup> *Appellation d'origine Contrôlée*, uma denominação de origem que leva em conta a localização geográfica da produção de certas culturas e produtos industrializados como vinhos, queijos, manteigas, entre outros.

é um dos sustentáculos da fineza da bebida, por eliminar a turbidez, proporcionando um aspecto límpido ao espumante. Na indústria vinícola, infelizmente, não há uma padronização do tipo de clarificante, muito menos existe amparo em lei sobre as quantidades adequadas a usar para esse processo, o que resulta em uma desuniformidade na qualidade geral dos espumantes.

Dessa forma, considerando a importância do vinho espumante para a economia do vinho brasileiro, a falta de estudos sobre a relação entre clarificação e vinhos espumantes, bem como, a visão mundial voltada para a produção gaúcha de espumantes e o sucesso destes frente a outros tradicionais países produtores, esta pesquisa teve o intuito de produzir vinhos espumantes com distintas concentrações de Bentonite e/ou Polivinilpolipirrolidona (PVPP), produtos clarificantes comumente utilizados pela indústria para esse fim, verificando sua interação ou não em relação à melhoria da *perlage*<sup>3</sup> dos espumantes e sua atuação na qualidade geral destes.

---

<sup>3</sup> termo francês, indicativo da intensidade, da persistência e do tamanho das borbulhas de dióxido de carbono, observadas através da avaliação visual do vinho espumante (ALMEIDA ROSA, 2010).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

\*Verificar a influência da aplicação de bentonite e polivinilpolipirrolidona sobre a clarificação de vinhos espumantes.

### 2.2 Objetivos específicos

\*Verificar a influência das quantidades dos clarificantes e interações entre ambos sobre a perlage.

\*Verificar a influência da clarificação no teor de nitrogênio total.

\*Verificar a influência dos clarificantes sobre a concentração de polifenóis totais.

\*Verificar a atuação da clarificação sobre a caracterização físico-química.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Vitivinicultura gaúcha

Principal produtor de uvas e vinhos no país, o Rio Grande do Sul tem a maior área plantada, 50.415 mil hectares, correspondendo a 55,9% da área total de cultivo de videira no país. Considerando produção e comercialização, o Estado é responsável por mais de 90% da produção nacional de vinhos (MELLO, 2009).

É uma realidade o esforço a inserção crescente de conceitos como zoneamento vitivinícola, indicações geográficas como sinais de qualidade, segurança dos alimentos, sustentabilidade ambiental, entre outros, que colocam a atividade em sintonia com as tendências da vitivinicultura mundial, na qual a competitividade é cada vez mais essencial para a sustentabilidade econômica e social. Em adição, esse aprimoramento na atividade vitivinícola tem trazido resultados altamente promissores, haja vista a expressiva quantidade de premiações em concursos nacionais e internacionais (GUERRA et al., 2005).

No Rio Grande do Sul são duas as regiões onde são cultivadas grandes áreas com videiras, a região da Campanha e a Serra Gaúcha. No entanto essas regiões apresentam diferentes aptidões para *Vitis vinifera* (PÖTTER, 2009).

A região da Serra Gaúcha dedica-se à uva para industrialização (vinhos, derivados e sucos), caracteriza-se por pequenas propriedades, em relevo de difícil mecanização e sua área atual tende a manter-se estável, com produção de *Vitis vinifera*, *Vitis labrusca* e híbridas. (GIOVANNINI, 2003). De acordo com o mesmo autor, a região da Campanha caracteriza-se pelo cultivo exclusivo de *Vitis vinifera* para a elaboração de vinhos finos, sendo o tipo de empreendimento de grandes empresas em extensas áreas cultivadas, com relevo permitindo mecanização.

Pode-se afirmar que grande parte da diversidade encontrada nos produtos vitivinícolas, seja quanto aos tipos de produtos, seja no que diz respeito aos aspectos qualitativos e de tipicidade, deve-se ao efeito do clima das regiões vitícolas (TONIETTO; MANDELLI, 2003). As coordenadas cartográficas e dados climáticos

evidenciando as principais diferenças entre as referidas regiões (Serra do Nordeste e Campanha) do Rio Grande do Sul estão apresentados na tabela 1

**Tabela 1 - Coordenadas cartográficas e dados climáticos de duas regiões do RS.**

Variável	Serra do Nordeste	Campanha
Latitude (Sul)	29° 10'	30° 53'
Longitude (Norte)	51° 32'	55° 32'
Altitude	640	210
Temperatura média do ar (anual em °C)	17,2	17,8
Precipitação pluviométrica anual (mm)	1736	1388
Insolação total anual (h)	2255	2371
Índice heliotérmico de Huglin (IH)	Temperado quente	Quente

Fonte: Adaptado de Poerner (2009)

Segundo Winkler et al. (1974), o clima ideal para a videira é o que apresenta invernos frios e verões quentes e secos. De acordo com Fogaça (2005) o clima irá influenciar na relação açúcar/ácido, acidez total e conteúdo de compostos fenólicos das uvas, entre outros fatores, registrados no momento da colheita. Esse ideal entra em conformidade com Pötter (2009) que afirma que a região da Campanha apresenta clima mais seco e maior luminosidade que a Serra Gaúcha, características essas que propiciam a obtenção de melhores índices de maturação e vinhos de qualidade superior.

A altitude do local também é um dos requisitos primordiais a enfatizar quando se escolhe uma localidade para implantação de vinhedos. Tonietto e Mandelli (2003) afirmam que o efeito mais importante da altitude para a viticultura é o térmico, já que 100 metros de elevação representam diminuição ao redor de 0,6°C na temperatura média do ar.

Aliado a esses fatores, ainda há as diferenças entre os solos das duas regiões. Na Serra do Nordeste o material de origem dos solos é predominantemente o basalto, enquanto na Campanha, o arenito, entre outros. Streck (2008 *apud* POERNER, 2009). Essas diferenças são responsáveis, juntamente com as características climáticas, pela tipicidade dos vinhos, resultando em vinhos com características sensoriais distintas, prontos para perpetuar qualidade. A composição

química dos solos é importante na nutrição da videira. O pH condiciona a disponibilidade de vários nutrientes minerais. No sul do Brasil, se recomenda a correção de pH para atingir 6,0, no entanto, são produzidos vinhos de qualidade em solos de pH desde 5,5 a 8,0. A presença de argila e matéria orgânica está diretamente ligada a Capacidade de Troca de Cátions (CTC) do solo. A CTC tem influência direta na nutrição química da videira, sendo tanto maior, quanto maiores os teores de matéria orgânica e argila. Porém, sabe-se que solos muito férteis levam a uma produção excessiva e conseqüente redução qualitativa da uva. Deste modo, os melhores vinhos são obtidos em solos não muito ricos quimicamente (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

### 3.2 Vinho Espumante

Vinho Espumante é a bebida cujo dióxido de carbono resulta unicamente de uma segunda fermentação alcoólica, em garrafas (método *Champenoise* ou tradicional) ou grandes recipientes (método *Charmat*), com graduação alcóolica de 10 a 13% em volume a 20°C e, com pressão mínima de quatro atmosferas (RIZZON et al., 2000).

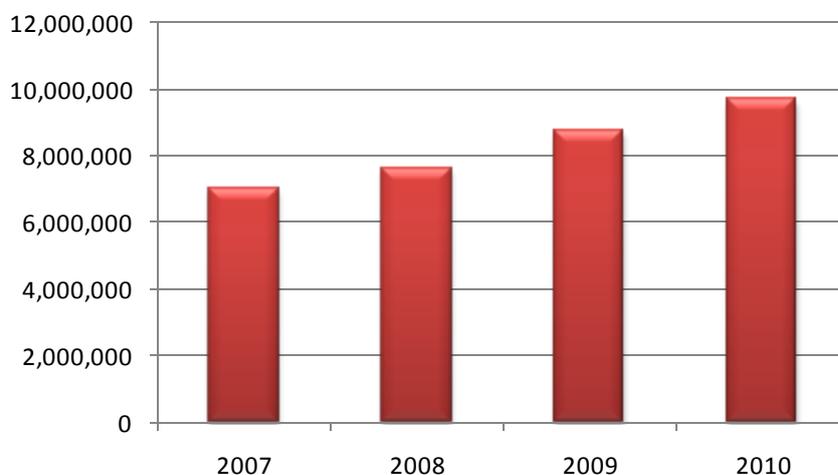
Manoel Peterlongo, fundador da vinícola Peterlongo em Garibaldi, foi o pioneiro da produção de espumantes no Brasil, no ano de 1915 (SILVA, 2008). De acordo com Tonietto (2007), a elaboração de espumantes pelo método tradicional, *Champenoise* onde a segunda fermentação alcoólica é induzida nas próprias garrafas, já era uma realidade nas primeiras décadas do século XX, na serra gaúcha, como pode ser aferido na figura 1.



**Figura 1 - Produção de vinho espumante na primeira metade do século XX.**

Fonte: TONIETTO (2007).

De acordo com Mello (2010), os vinhos espumantes, cujo mercado tem absorvido toda a produção gaúcha, pelas características e elevada qualidade, em 2010 continuaram sua trajetória crescente, com uma ascensão de 10,73% nas vendas (Figura 2).



**Figura 2 - Comercialização de vinhos e espumantes (litros espumante/ano) produzidos no RS em quatro anos consecutivos.** Fonte: Adaptado de Mello (2010)

Obtém-se vinho espumante pelo método *Asti*, por meio do qual a fermentação direta do mosto de uvas gera gás carbônico; pelo método *Charmat*, onde se alcança uma segunda fermentação do vinho base em grandes tanques fechados ou ainda pelo método *Champenoise*, por meio do qual a segunda fermentação é induzida na própria garrafa e que representa a maneira tradicional de se fazer espumante (SOUSA, 2005). De acordo com o mesmo autor, para que um vinho possa ser chamado de espumante, deve ter uma quantidade de gás carbônico natural dissolvido no meio líquido, o que forma uma câmara pressurizada na garrafa com maior ou menor pressão interna.

O vinho espumante produzido pelo método champenoise, é o resultado de duas etapas de produção: a confecção do vinho base e a tomada de espuma (SOUSA, 2005). De acordo ainda com o mesmo autor, o vinho base é fermentado com muito critério, possuindo após, acidez saliente, teor alcoólico em torno de 10 a 11% e açúcar residual abaixo de 1,5 gramas por litro. Esses vinhos-base (*assemblage*<sup>4</sup> ou varietal) são obtidos da fermentação do mosto extraído por prensagem cuidadosa da uva. O objetivo desta primeira fermentação é obter então, um vinho base com conteúdo menor de álcool e, um vinho com frescor, a fim de garantir uma correta harmonização do produto final (RIBERÉAU-GAYON et al., 2006b).

As uvas determinam um vinho base mais adequado a segunda fermentação. Em princípio, é possível produzir espumantes de inúmeras castas de uvas brancas, tintas e rosadas, mas somente uma minoria revela-se com alta expressão. Atualmente, as receitas oficiais de vinhos espumantes da Champagne, baseadas no emprego oficial da Pinot Noir, Chardonnay e Meunier, são copiadas no mundo todo (SOUSA, 2005).

Apesar de o vinho base ser elaborado num processo semelhante ao da vinificação em branco, este apresenta algumas diferenças quanto ao uso moderado de clarificantes, que de alguma forma podem influenciar na qualidade da espuma; a temperatura de fermentação, que pode ser um pouco mais elevada, a fim de obter vinhos um pouco mais maduros; a fermentação malolática, que deve ser efetuada ao menos em parte nos vinhos que irão participar ao menos no corte final do vinho-base; a acidez fixa mais elevada, e a utilização de vinhos brancos elaborados a

---

<sup>4</sup> *Assemblage* ou corte consiste em misturar diferentes vinhos com o objetivo de produzir vinhos com características físicoquímicas e sensoriais desejadas (BRASIL, 2010).

partir de uvas tintas, para aumentar a estrutura do vinho e, sua complexidade aromática, Manfroi (2000 *apud* POERNER, 2009).

A segunda etapa da elaboração do vinho espumante consiste numa segunda fermentação alcoólica. O licor de *tirage*<sup>5</sup> é adicionado ao vinho base (POERNER 2009). À mistura do vinho base e do licor de *tirage* poderá ser adicionado levedura, clarificante e ativador de fermentação, em conjunto ou separadamente, com o objetivo de facilitar a multiplicação de leveduras e desencadear a segunda fermentação alcoólica (BRASIL, 2010). As garrafas são colocadas em pilhas na posição horizontal onde, num período de 45 a 60 dias, se realiza a fermentação. Segundo Sousa (2005), a tomada de espuma é o processo de geração do gás carbônico pela adição do licor de *tirage* ou licor de extração adicionado, cuja quantidade calibra a pressão dentro da garrafa e provê açúcar residual.

Posteriormente se propõe o envelhecimento, onde o vinho espumante permanece por um período mínimo de seis meses a uma temperatura que varia de 15 a 18°C, período no qual as células de levedura sofrem autólise e liberam vários componentes celulares no vinho. Assim que é finalizado o envelhecimento, procede-se a liberação de impurezas através de dois passos, o *rémuage* nos pupitros, que consiste em levar lentamente as impurezas até a proximidade do gargalo da garrafa, para posterior eliminação, e o *dégorgement* que resulta na liberação definitiva das impurezas já depositadas no gargalo da garrafa (LONA, 1990).

Em acordo com Sousa (2005), finalizado o processo de fabricação dos espumantes, ao servir, o espumante deve gerar imediatamente a liberação de bolhas a partir das paredes do fundo do cálice, que em correntes ascendentes atingem a superfície, espalhando-se na forma de uma grossa camada de espuma. Segundo o mesmo autor, a persistência do *perlage* é traduzida pelo tempo que o processo de geração de bolhas continua ocorrendo, quanto mais duradouro o *perlage*, maior é a qualidade do espumante. Estes devem apresentar ainda como característica fundamental de qualidade, um corpo com transparência cristalina, com uma grande luminosidade. Caso haja turvação, é sinal que o espumante trouxe excessos de sais e proteínas, fruto de uma ineficiente clarificação.

---

<sup>5</sup> Licor de *tirage* é a quantidade de açúcar, normalmente sacarose, responsável pela segunda fermentação, adicionado nesta fase para permitir a formação do dióxido de carbono, responsável pela pressão e espuma (GIOVANNINI; MANFROI, 2009).

### 3.3 Clarificação de vinhos espumantes: as proteínas e a colagem

Clarificação consiste no emprego de processos químicos e físicos visando à elaboração de vinhos límpidos e estáveis (BRASIL, 2010). Para Santos et al. (2007) a clarificação, nada mais é, que a operação que tem por fim eliminar todas as substâncias em suspensão e outras em dissolução existentes nos vinhos, para os tornar límpidos e cristalinos. Após a clarificação do produto com os agentes clarificantes há formação de flocos insolúveis, basicamente compostos pelos precursores da turbidez no produto e pelos agentes clarificantes adicionados (ALBUQUERQUE, 2009).

Dentre as formas de clarificação, em especial a colagem vem sendo estudada amplamente em vinhos espumantes e, por esse motivo, merece atenção especial. A colagem consiste na clarificação do vinho por adição de substâncias que provocam a precipitação de partículas em suspensão, seja favorecendo a sua queda livre (recurso à adição de bentonites), seja originando uma coagulação em redor dessas partículas, arrastando-as conjuntamente com a generalidade dos sedimentos (CURVELO-GARCIA, 2005). A aplicação de colas visa fundamentalmente à clarificação e a redução dos compostos fenólicos dos vinhos (LAUREANO, 2004).

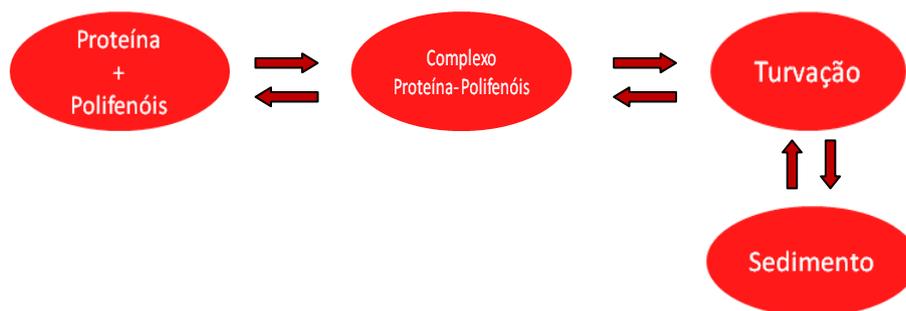
Os vinhos, como muitos outros alimentos, contém diferentes quantidades de diferentes substâncias nitrogenadas, as mais importantes das quais são as proteínas (FERREIRA, 2002). As proteínas são biopolímeros essenciais para todas as células vivas. Por exemplo, algumas delas funcionam como enzimas, enquanto outras têm um papel estrutural ou mecânico (DAVIES et al., 2006). As proteínas do vinho têm sido consideradas como uma mistura de proteínas da uva e de proteínas da levedura autolisada. Leveduras podem afetar a composição das proteínas do vinho de duas maneiras: pode haver uma transferência de proteínas para o vinho durante o processo de autólise da levedura e/ou a presença de enzimas protease exocelular nas leveduras que pode contribuir para a hidrólise de proteínas do mosto (FEUILLAT; BRILLANT; ROCHARD, 1980).

Estes polímeros não contribuem significativamente para o valor nutritivo dos vinhos, e sua concentração varia tipicamente de 15 a 300 mg/litro, no entanto, eles podem assumir uma considerável importância tecnológica e econômica, pois afetam muito a clareza e estabilidade dos vinhos (FERREIRA; PIÇARRA-PEREIRA;

MONTEIRO; LOUREIRO; TEIXEIRA, 2002; WATERS et al., 2005). Embora presente em quantidades muito pequenas nos vinhos brancos, as proteínas são de suma importância para a estabilidade coloidal e clareza de vinhos brancos (BAYLY; BERG, 1967; HSU; HEATHERBELL, 1987; WATERS; WALLACE; WILLIAMS, 1991; SAUVAGE; BACH; MOUTOUNET, 2009). A presença de proteínas no vinho é, certamente, um pré-requisito para a formação de turbidez e, ao que parece, em geral é aceito que quanto maior o teor de proteína total de vinho, maior a sua tendência para se tornar instável (MESQUITA; PIÇARRA-PEREIRA; MONTEIRO; LOUREIRO; TEIXEIRA; FERREIRA, 2001). Estudos mostram que as proteínas com peso molecular entre 20 e 30 kDa e ponto isoelétrico (pI) superior ao pH do vinho são as frações mais importantes contribuindo para a instabilidade do vinho (HSU; HEATHERBELL, 1987b; PAETZOLD et al. 1990;. WATERS et al. 1992; LEDOUX et al. 1992).

No entanto, alguns autores afirmam que a instabilidade da proteína não se correlaciona bem com a concentração de proteína total (FERREIRA et al., 2002), e, portanto, o potencial de um vinho turvo não é previsível a partir do seu teor de proteína total (BAYLY; BERG, 1967; MORETTI; BERG, 1965). Se isso está correto, duas hipóteses alternativas podem ser avançadas para explicar a insolubilização de proteínas dos vinhos: (1) proteínas individuais comportam-se diferentemente na sua sensibilidade para aquecer a desnaturação, contribuindo diferencialmente à formação de turbidez, neste caso, apenas uma parte das proteínas é responsável pela instabilidade em vez de todo o teor de proteína, (2), embora proteína-dependente, o desenvolvimento de turvação dos vinhos é controlado por um número de fatores de origem não-protéica.

Para Heatherbell (1976b), Goertges (1982) e Hough (1982), a causa mais freqüente de turvação nas bebidas é a interação proteína-polifenol, afirmando ainda que, mesmo nos produtos que são inicialmente livres de turbidez, proteínas e polifenóis podem gradualmente formar complexos insolúveis que dispersam a luz, como pode ser didaticamente esquematizado na Figura 3.



**Figura 3 - Interação proteína-polifenóis como precursores da formação de turbidez e sedimentos.**

Fonte: adaptado de Siebert (2006).

A combinação inicial de proteínas e polifenóis pode ser solúvel. Resulta em turbidez se o complexo crescer com tamanho suficiente para se tornar insolúvel. As partículas podem crescer ainda mais e tornar-se tão grandes que viram sedimentos (DADIC; BELLEAU, 1980; SIEBERT et al, 1981).

Brissonet e Maujean (1993) encontraram uma correlação positiva entre a concentração de proteína e a qualidade da espuma em vinhos espumantes. Segundo os mesmos autores, as proteínas são especialmente importantes para a formação de espuma e estabilidade da espuma. Suas propriedades de superfície, hidrofobicidade, em particular, e um pouco do ponto isoelétrico ou o tamanho molecular são importantes para determinar a formação de espuma. No método champenoise, após a segunda fermentação, os vinhos espumantes se mantêm em contacto com a levedura de borras na garrafa. Estudos comprovaram que durante este período de envelhecimento, o fermento libera proteínas e outros compostos que têm um efeito positivo na estabilidade da espuma (MARTINEZ-RODRIGUEZ; CARRASCOSA; MARTIN-ALVAREZ; MORENO-ARRIBAS; POLO, 2002; TODD-FROTA; HENSCHKE, 2000).

### 3.4 Bentonite

Bentonite é o nome genérico de uma argila composta predominantemente pelo argilo-mineral montmorilonita, do grupo das esmectita, independente de sua origem ou ocorrência. Os principais segmentos consumidores de argila bentonítica,

no mercado brasileiro, são a indústria petrolífera (agente tixotrópico nas perfurações de petróleo), a indústria siderúrgica, a indústria de fundição (aglomerante em sistemas de areia verde), a indústria de tintas e vernizes (espessante), a indústria vinícola (elemento filtrante e clarificante de vinhos e sucos), a indústria da construção civil (impermeabilizante de barragens, aterros sanitários), a indústria alimentícia animal (componente inerte – veículo – para rações), indústria farmacêutica e de cosméticos (ALBUQUERQUE, 2009).

O modo de ação da bentonite é através de cargas eletrostáticas. A superfície plana das plaquetas de bentonite é carregada negativamente e dessa forma, cargas positivas são adsorvidas pelas plaquetas. A bentonite, composta de silicato de alumínio hidratado, quando utilizada para remover proteínas que não participaram da reação de floculação e estão presentes no vinho branco e em sucos, atrai as proteínas que possuem cargas positivas (KEAN; MARSH, 1956). As moléculas de proteína ficarão aderidas às partículas de bentonite e o complexo precipitará. A bentonite também atrai outras cargas positivas, tais como antocianinas, compostos fenólicos e nitrogenados. Esse agente clarificante também pode adsorver, indiretamente, alguns componentes fenólicos através da ligação com proteínas que foram complexadas com os componentes fenólicos. Ela é conhecida por afetar a cor de vinhos tintos e pode levar a mais de 15% na remoção da cor (ZOECKLEIN, 2001).

Quimicamente, a bentonite consiste de duas folhas tetraédricas (Si-O) separados por uma folha octaédrica (Al-O-OH). Divalentes  $Fe^{2+}$  ou íons  $Mg^{2+}$ , por vezes, substituem o silício tetravalente na folha tetraédrica. Essa substituição, referidos como substituição isomórfica, resulta em um líquido com carga negativa na superfície da argila. Os íons ou grupos com carga positiva podem ser adsorvidos na superfície da bentonite, devido à interação entre as cargas negativas e positivas (SUN et al., 2007).

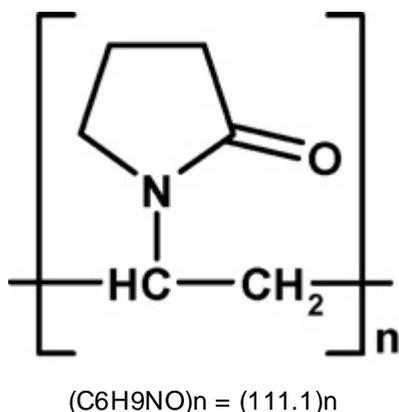
Daudt e Durante (1986), adicionaram bentonite em mostos de vinhos brancos logo após a multiplicação de leveduras e início da fermentação, observando uma limpeza do vinho final. A bentonite ajudou na precipitação das proteínas e leveduras logo após o término da fermentação, obtendo a limpeza rapidamente.

Riberéau-Gayon et al. (1999), afirmaram que o único tratamento eficaz para evitar a complexação protéica é o tratamento com bentonite. No entanto a utilização de bentonite para eliminar esse risco gera uma perda de aromas (LEDOUX;

DUBORDIEU, 1994) e no que relaciona aos vinhos espumantes, uma grande diminuição da qualidade da espuma por eliminação de proteínas (Malvy et al., 1994). Para tanto, o vinificador, muitas vezes, se encontra frente o dilema de ter um vinho estável e pouco espumante ou ter um vinho espumante efervescente mas, com maior risco de turvação na garrafa (VANRELL, 2005).

### 3.5 Polivinilpolipirrolidona (PVPP)

A Polivinilpolipirrolidona (Figura 4) tem origem na polimerização da vinilpirrolidona, sendo o produto obtido, formado por macromoléculas em rede. É admitida a adição de PVPP ao vinho, em dose não superior a 80 g/hL, com o objetivo, explicitamente referido de diminuir o teor de taninos e outros polifenóis, a fim de evitar seu acastanhamento, reduzir sua adstringência e, mesmo, ajustar a cor dos vinhos brancos (CURVELO-GARCIA, 2005).



**Figura 4 - Estrutura química do PVPP**

Fonte: Magalhães et al., 2010

De acordo com Rojas-Garcez (1996), o uso de PVPP vem despertando grande interesse na indústria vinícola por sua inatividade química com o vinho e sua seletividade na eliminação dos compostos fenólicos.

O PVPP é comumente utilizado em bebidas (cerveja, vinhos e sucos) para a remoção dos polifenóis, a fim de evitar a formação de turbidez na bebida. Este

adsorvente é bioquimicamente inerte e não se tem conhecimento de perigos associados. A adsorção de polifenóis por PVPP é através de hidrogênio, vínculo entre o doador de prótons do polifenol e grupo carbonila de PVPP, juntamente com sobreposição (elétrons deslocalizados) interações polares e hidrofóbicas entre o anel aromático do polifenol e o anel de PVPP (LABORDE, 2006), como demonstrado na Figura 5. Devido a sua insolubilidade em água é a razão mais importante para sua aceitação na indústria de bebidas (MAGALHÃES et al., 2010).

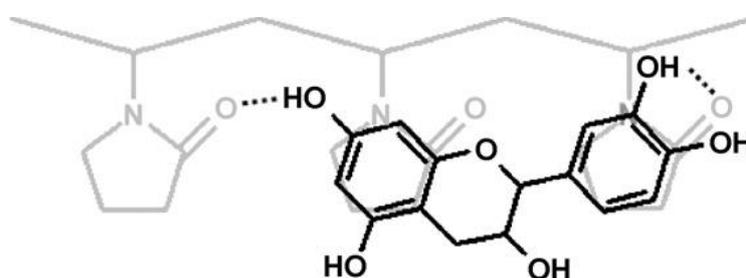


Figura 5 - Adsorção de catequinas por PVPP através de pontes de hidrogênio

Fonte: Magalhães et al., (2010)

### 3.6 Efervescência e o efeito da nucleação de bolhas

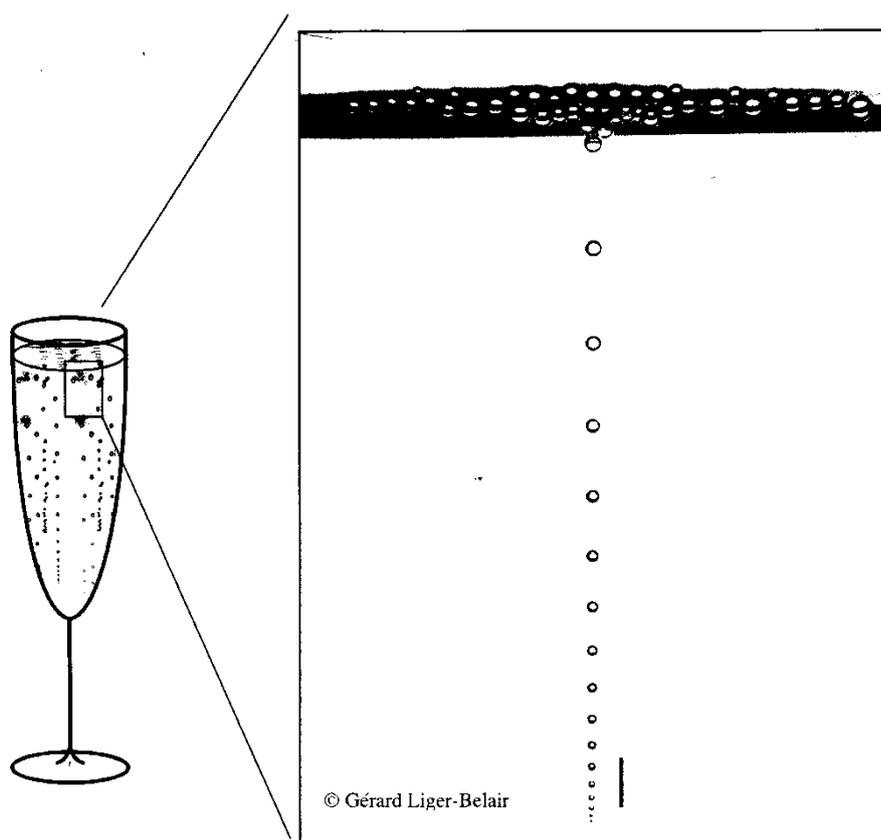
Assim como a cor e o sabor, a efervescência é um fator primordial de apreciação da qualidade de um *champagne*, tanto no seu plano visual, quanto olfativo. São apreciadas a fineza das bolhas e o aspecto do “colar” que se forma na superfície da taça. Quando servido na taça, a bebida espumante alcança um volume muito superior ao seu volume. Essa espuma é muito efêmera, e dentro de alguns segundos esse colapso vai revelar uma série de bolhas na periferia da taça, alimentada por bolhas nucleadas na taça (LIGER-BELAIR, 2005).

De acordo com o mesmo autor, os sítios de nucleação ocorrem a partir de fissuras nas paredes de vidros das taças e/ou impurezas presentes nestas. O tempo necessário para chegar ao momento do desprendimento da bolha depende da cinética das moléculas de CO<sub>2</sub>, da transferência do *champanhe* para as bolsas de ar e, também, sobre as propriedades geométricas do sitio de nucleação. Agora, uma

vez que uma coleção de formas e tamanhos de partículas existe na parede de vidro, a frequência de borbulhamento também pode variar de um local para outro. O fenômeno promove: 1) a nucleação de pequenas partículas presa na parede do vidro; 2) ascensão de bolhas através do líquido; 3) a ruptura das bolhas na superfície livre que constitui o mais intrigante e atraente passo da vida das bolhas.

Já que existe uma variedade de tamanho e formas de partículas diferentes, a simples, porém bem feita observação da ascendência das bolhas do vinho espumante pode beneficiar o estudo da dinâmica de bolhas (ABOU-SALEH et. al., 2005).

Após o desprendimento dos sítios de nucleação, as bolhas de champagne ascendem em linha através do líquido, formando um elegante trilho (Figura 6).



**Figura 6 - Formação de trilhos pelo desprendimento de gás e, nucleação de bolhas formadoras de efervescência**

Fonte: X Congresso de Viticultura e Enologia, 2005

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Nas dependências da Vinícola Velho Amâncio, em Itaara, induziu-se a segunda fermentação alcoólica em um vinho base previamente elaborado, para produção de vinho espumante. O vinho base utilizado, foi produzido pela própria empresa, sendo varietal, da uva Chardonnay, proveniente da região da Campanha do Rio Grande do Sul, da safra de 2009. A videira, Chardonnay, é o clone 809, sob porta-enxerto SO4 (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*), em um plantio de 2004. Sendo a safra 2008/2009, chuvosa, proporcionando uma colheita em torno de 4.600 kg em 3,17 ha.

A esse vinho base foi adicionado uma mistura de ativador de fermentação, levedura, açúcar e clarificante, conforme mostra o fluxograma de produção de vinho espumante (Figura 7).



Figura 7 - Fluxograma de produção do vinho espumante

Os clarificantes eleitos foram o Bentonite e o Polivinilpolipirrolidona (PVPP), e as doses de clarificante ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) foram pré-estabelecidas (Tabela 2).

**Tabela 2 - Doses de Bentonite e PVPP e respectivos tratamentos**

Clarificante ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Tratamento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Bentonite</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>
<b>PVPP</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>

Os vinhos espumantes foram elaborados através do Método tradicional *chamenoise*, em quadruplicata, constando de 9 tratamento e 3 repetições, prevendo 3 garrafas por tratamento para análise e 1 para reserva, constituindo um Delineamento Inteiramente Casualizado. Depois de adicionados os tratamentos, as garrafas foram fechadas com tampa corona, sendo armazenadas em local escuro, dando início ao processo de segunda fermentação, que durou cerca de 5 meses. Na sequência, o vinho permaneceu por 12 meses em contato com a borra, em *pupitres* onde procedia-se o *rémuage*, afim de direcionar as borras para o gargalo da garrafa. Posteriormente foi feito o *dégorgement* com arrolhamento, finalizando a fabricação dos espumantes. Para não haver nenhuma outra influência não foi adicionado licor de expedição.

Em etapa posterior foram realizadas as análises laboratoriais, no NIDAL (Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais), NAPO (Núcleo de Análise e Pesquisas Orgânicas) do Departamento de Química, DTCA-CCR (Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Rurais) e NPP (Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita) da Fitotecnia.

## 4.1 Análises físico-químicas

Todas as análises físico-químicas foram realizadas segundo metodologia descrita por Amerine e Ough (1976), com exceção de álcool, descrito pelo Método Oficial Brasileiro (BRASIL, 1974).

### 4.1.1 Acidez Total e Volátil

A acidez total foi determinada transferindo 10 mL da amostra para um frasco erlenmeyer, adicionando 200 mL de água fervendo, para retirar gás carbônico da amostra e 1 mL de solução alcoólica de fenolftaleína 1%. A titulação foi feita com hidróxido de sódio 0,1N até coloração rósea. Os resultados foram expressos em gramas de acidez total em ácido tartárico por 100 mL.

A acidez volátil foi determinada transferindo 20 mL da amostra para o balão de destilação eletrônico do destilador GIBERTINI, onde foi feita uma destilação com arraste de vapor e os ácidos voláteis foram arrastados por essa corrente de vapor de água isenta de gás carbônico. Após, o destilado foi recebido em um erlenmeyer com adição 1 mL de solução alcoólica de fenolftaleína 1% e titulado com hidróxido de sódio 0,1N até coloração rósea. Os resultados foram expressos em gramas de acidez volátil em ácido acético por 100 mL.

### 4.1.2 Álcool em volume

A determinação de álcool foi realizada segundo o Método Oficial Brasileiro e, consistiu em destilar 200 mL do vinho espumante no destilador eletrônico GIBERTINI e, medir o teor alcoólico com um alcoômetro de Gay Lussac, que dá a percentagem de álcool em volume a 20°C, numa mistura hidroalcoólica.

#### 4.1.3 Açúcares redutores

Os açúcares redutores foram determinados segundo o método de Lane e Eynon, que constitui em uma reação de oxi-redução. Procedeu-se preparo da amostra para clarificar o vinho, após, uma titulação da solução padrão de açúcar, e titulação da solução clarificada de vinho. Os resultados foram expressos em percentagem.

#### 4.1.4 pH

O pH foi determinado utilizando peagâmetro da marca Digimed, com determinação direta das amostras de vinho espumante e estabilizadas a 20°C, conforme descrito por Amerine e Ough (1976).

### 4.2 Dióxido de Carbono e Oxigênio

Foram coletados 50 mL de amostra de vinho espumante (5°C), sem perturbar o meio, a fim de evitar a liberação do gás carbônico dissolvido na amostra. Esta alíquota foi transferida para um Erlenmeyer de 500 mL vertendo-o lentamente pela parede do frasco. Em seguida o Erlenmeyer foi vedado com uma rolha de silicone que possuía dois orifícios para inserção das agulhas do analisador. A coleta do *headspace* foi pelo orifício mais próximo da rolha e o retorno do gás pelo orifício que continha uma mangueira de silicone que retornava ao ambiente próximo a amostra. Tornando então sistema fechado entre o *headspace* e o analisador de gases. Antes da análise dos gases, a amostra foi submetida a um banho termostático para que a temperatura fosse estabilizada em 30°C, parâmetro este estabelecido através de ensaios prévios, para reduzir a dissolução de gases na amostra. Em seguida o Erlenmeyer foi submetido ao banho de ultra-som onde permaneceu por 30 minutos, atingindo total desgaseificação da amostra e incorporando-se ao *headspace*. O

tempo de desgaseificação foi determinado através de ensaios realizados previamente. Após, o Erlenmeyer foi encaminhado para o analisador de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> AGRIDATALOG®, e as agulhas do analisador foram inseridas pelos orifícios da rolha de silicone, onde o analisador quantificou CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> do *headspace* formado (450mL) do Erlenmeyer de (500mL). Os resultados dos gases foram expressos em porcentagem, e após cálculo, em mL de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> por mL de vinho espumante.

### 4.3 Análises químicas

#### 4.3.1 Nitrogênio total

A determinação de nitrogênio total no vinho espumante foi realizada pelo método micro-Kjedahl, de acordo com BREMMER (1965), adaptado por TEDESCO (1982), modificado por GARCIA (1987) e descrito por RICHTER (2008).

A amostra (1 mL) foi colocada em tubos de ensaio, adicionado de 1 mL de água oxigenada (30 volumes), 2 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado e 0,7 g de mistura de digestão. Após a digestão em bloco digestor, e posterior destilação, o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> condensado é coletado na solução indicadora de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) e titulado com a solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 N.

#### 4.3.2 Polifenóis totais

O teor de polifenóis totais nos vinhos espumantes foi determinado pelo método colorimétrico utilizando o reagente Folin-Ciocalteau (AMERINE; OUGH, 1976), sendo a curva padrão feita com ácido gálico, e os resultados expressos em mg/L.

#### **4.4 Análise de *Perlage***

No momento de abertura de cada garrafa, foi colocado o vinho espumante em uma taça tipo tulipa, onde, com um cronômetro, foi verificado o tempo de persistência da espuma, o *perlage*. Embora tenha aparelhos específicos para mensuração do tempo de *perlage*, nesse estudo priorizou-se a avaliação sensorial de *perlage*, onde se contava o tempo desde o contato do líquido com a taça até o desprendimento da última bolha, como uma observação do consumidor.

#### **4.5 Análise Estatística**

Realizou-se Análise de Variância (ANOVA) nos resultados e, teste de médias, Tukey a 1% de significância, através do pacote estatístico SASM 2001.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização físico-química dos vinhos espumantes

#### 5.1.1 Acidez total e acidez volátil

A acidez total expressa o conjunto dos ácidos orgânicos que se encontram em solução e em equilíbrio com seus respectivos sais ácidos. É a resultante dos ácidos orgânicos produzidos durante o processo de desenvolvimento dos grãos e de alterações químicas da bebida. Assim, a análise da acidez total em vinhos pode inferir sobre a apreciação do processamento e do estado de conservação do produto (OUGH, 1992). Já a acidez volátil, de acordo com Rizzon e Miele (2003), mede o grau de avinagramento do vinho e deve ser o mais baixo possível. A boa sanidade do produto é indicada por baixos valores de acidez volátil.

Os valores encontrados para acidez total e volátil, nos espumantes produzidos nos diferentes tratamentos, respectivamente, estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3 - Média e desvio padrão de valores de acidez total e acidez volátil para os respectivos tratamentos.**

Tratamento (mg/L)	Acidez total* (g de ác. Tartárico/ 100 mL)	Acidez Volátil* (g de ác. Acético/ 100 mL)
Tratamento 1 (B=0, P=0)	0,798 <sup>b</sup> ± 0,02	0,113 <sup>cd</sup> ± 0,01
Tratamento 2 (B=0, P=25)	0,858 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,103 <sup>d</sup> ± 0,01
Tratamento 3 (B=0, P=50)	0,798 <sup>b</sup> ± 0,02	0,127 <sup>abc</sup> ± 0,01
Tratamento 4 (B=20, P=0)	0,875 <sup>a</sup> ± 0,02	0,130 <sup>ab</sup> ± 0,00
Tratamento 5 (B=20, P=25)	0,850 <sup>ab</sup> ± 0,03	0,123 <sup>bc</sup> ± 0,01
Tratamento 6 (B=20, P=50)	0,798 <sup>b</sup> ± 0,02	0,127 <sup>abc</sup> ± 0,01
Tratamento 7 (B=40, P=0)	0,818 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,127 <sup>abc</sup> ± 0,01
Tratamento 8 (B=40, P=25)	0,805 <sup>b</sup> ± 0,03	0,107 <sup>d</sup> ± 0,01
Tratamento 9 (B=40, P=50)	0,843 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,140 <sup>a</sup> ± 0,00

\*Valores apresentados como média seguidos de desvio padrão (a-d). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

Através dos resultados apresentados (tabela 3), vê-se que todos os tratamentos, tanto de acidez total como de volátil, com exceção do tratamento 9 para acidez volátil, apresentaram valores que são amparados pela legislação brasileira, a qual define 0,975 g% e 0,13 g% de acidez total e volátil, respectivamente. Mesmo assim, esses valores encontrados podem ser considerados altos. Para acidez total, o tratamento 4 foi o que apresentou maior nível de acidez, e estatisticamente foi igual aos tratamentos 2, 5, 7 e 9. Os tratamentos 1, 3, 6 e 8 estatisticamente foram iguais mas, diferiram significativamente do tratamento 4. Para acidez volátil, o tratamento 9 diferiu estatisticamente dos tratamentos 5, 1, 2 e 8. O tratamento 5 apresentou diferença significativa a 1% dos tratamentos 2, 8 e 9.

#### 5.1.2 Grau alcoólico

O álcool pode representar de 7% a 16% do volume do vinho. Se considerarmos que o grau alcoólico dos vinhos varia de 9°GL e 14°GL, ou seja, 72 a 120 g/L desse valor é representado pelo álcool etílico. Apenas 0,5%, desse total é composto por outros álcoois, como: metílico, isobutílico, isoamílico, hexílico, feniletílico, etc (BLASI, 2004). O álcool etílico é o produto mais importante da fermentação alcoólica, que se forma a partir da ação de leveduras sobre hidratos de carbono. Os valores encontrados para álcool (% a 20°C) nos vinhos espumantes para os diferentes tratamentos estão descritos na tabela 4.

**Tabela 4 - Conteúdo de Álcool (% a 20°C) nos vinhos espumantes.**

Tratamento(mg/L)	Álcool*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	11,10 <sup>abc</sup> ± 0,20
Tratamento 2 (B=0, P=25)	10,70 <sup>c</sup> ± 0,17
Tratamento 3 (B=0, P=50)	11,60 <sup>a</sup> ± 0,26
Tratamento 4 (B=20, P=0)	11,33 <sup>abc</sup> ± 0,21
Tratamento 5 (B=20, P=25)	11,47 <sup>a</sup> ± 0,31
Tratamento 6 (B=20, P=50)	10,97 <sup>abc</sup> ± 0,21
Tratamento 7 (B=40, P=0)	11,23 <sup>abc</sup> ± 0,31
Tratamento 8 (B=40, P=25)	11,40 <sup>ab</sup> ± 0,26
Tratamento 9 (B=40, P=50)	10,73 <sup>bc</sup> ± 0,21

\*Valores apresentados como média seguido de desvio padrão (a-c). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey.

Quanto ao teor de álcool, percebe-se que todos os tratamentos ficaram dentro dos valores estabelecidos pela legislação brasileira que varia de 9 à 14%. Os tratamentos 3 e 5 foram os de maior teor alcoólico e não diferiram entre si a ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, mas diferiram dos tratamentos 2 e 9, sendo que o tratamento 2 apresentou ainda diferença estatística do tratamento 8.

Rizzon et al. (1994), ao estudar as características físico-químicas de diversos vinhos espumantes brasileiros, encontraram valores semelhantes a esses para graduação alcoólica. A graduação alcoólica é um parâmetro importante, pois, além de conferir corpo a bebida, é o resultado final da fermentação alcoólica, sendo o ponto central de eficiência da conversão de açúcar em álcool pelas leveduras. Portanto, bons níveis de álcool nos vinhos espumantes indicam que a segunda fermentação foi dinâmica e exata, bem como, assegura que os determinados vinhos tenham uma boa capacidade anti-séptica para a proteção contra ação de micro-organismos.

Canals et al. (1998) em estudo sobre segunda fermentação alcoólica e compostos nitrogenados, perceberam que com o aumento do nível de etanol na segunda fermentação houve um decréscimo nas proteínas do vinho. Isso foi revisto por SUN et al. (2007), que em pesquisa sobre a adsorção de proteínas em vinho por diferentes bentonites, verificou o efeito da concentração de álcool sobre a adsorção de proteínas, afirmando que de 4 até 12% em volume de álcool, o etanol propicia uma maior adsorção da proteína pelo agente clarificante (sendo que após 12% acarreta um decréscimo). Esse evento ocorre porque acontece um inchamento do bentonite e suas camadas separam, facilitando para moléculas de proteína a participação em sua estrutura, na solução do álcool etílico do que seria somente dentro da água.

### 5.1.3 pH

O pH do vinho corresponde à concentração de íons de hidrogênio dissolvidos no mesmo. O pH do vinho depende do tipo e da concentração dos ácidos orgânicos e da concentração de cátions, especialmente do potássio. O conhecimento do pH se torna de suma importância, pois através dele se pode avaliar a resistência do vinho

à infecção bacteriana ou tendência a casse férica (BLASI, 2004). Os valores encontrados de pH nos vinhos espumantes (Tabela 5).

**Tabela 5 - Valores encontrados para pH nos vinhos e spumantes**

Tratamento (mg/L)	pH*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	3,92 <sup>bc</sup> ± 0,03
Tratamento 2 (B=0, P=25)	3,93 <sup>abc</sup> ± 0,01
Tratamento 3 (B=0, P=50)	3,88 <sup>c</sup> ± 0,03
Tratamento 4 (B=20, P=0)	3,93 <sup>abc</sup> ± 0,02
Tratamento 5 (B=20, P=25)	3,97 <sup>a</sup> ± 0,02
Tratamento 6 (B=20, P=50)	3,94 <sup>ab</sup> ± 0,01
Tratamento 7 (B=40, P=0)	3,94 <sup>ab</sup> ± 0,01
Tratamento 8 (B=40, P=25)	3,47 <sup>d</sup> ± 0,02
Tratamento 9 (B=40, P=50)	3,93 <sup>abc</sup> ± 0,02

\*Valores apresentados como média seguida de desvio padrão (a-d). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey.

O tratamento 5 apresentou maior valor para pH e diferiu estatisticamente dos tratamentos 1, 3 e 8. O tratamento 8 apresentou o pH mais baixo e diferiu estatisticamente de todos os outros tratamentos. O pH foi relativamente elevado, exceto do tratamento 8, acontece que as uvas tiveram um pH alto.

O pH possui um fator de importância um tanto interessante e especial para os vinhos espumantes, uma vez que Yokoi et al. (1989) e Le Meste et al. (1990) afirmam que dependendo do pH do meio, uma proteína pode apresentar carga elétrica positiva, negativa ou nula. As variações do pH na solução influenciam as cargas dos radicais dos aminoácidos constituintes das proteínas. Com isso a própria estrutura protéica se modifica, bem como seus fatores de solubilidade<sup>6</sup> (carga elétrica e capacidade de hidratação das moléculas). Existe um pH intermediário, que varia de proteína para proteína (pois depende dos radicais R dos aminoácidos que a constituem), em que há um equilíbrio entre as cargas positivas e negativas. Este pH é conhecido como “Ponto Isoelétrico” da proteína – pI. Nesse pH, a proteína apresenta solubilidade mínima, porque a carga efetiva da molécula é nula (há um balanço entre cargas positivas e negativas), ficando diminuída a repulsão entre as

<sup>6</sup> Em solução, quando as moléculas de determinada proteína estiverem carregadas positivamente ou negativamente, a solubilidade dessa proteína será maior, pois as moléculas se repelirão entre si, aumentando a interação com o solvente Le Meste et. al. (1990).

moléculas e havendo interação eletrostática das mesmas moléculas entre si. Como consequência, forma-se grumos que tendem a precipitar.

Então, se o pH dos vinhos espumantes estiverem próximos ao ponto isoelétrico das proteínas ou se ainda apresentarem formação do ponto isoelétrico, menor será a solubilização e, portanto mais difícil será a atuação das colas para a clarificação. Em contrapartida, em um estudo feito por Sun et. al. (2007) verificaram que a capacidade de adsorção da proteína foi mantida no mais alto nível em valores de pH entre 2,69 a 4,20, isso porque o pH afeta a carga da superfície da extremidade do bentonite, nesse caso, e o grau de ionização da proteína. Os valores encontrados para pH, nos nove tratamentos, de acordo com essa premissa, permitem uma boa adsorção de proteínas.

#### 5.1.4 Açúcares redutores

Os resultados das análises de açúcares redutores para os vinhos espumantes nos diferentes tratamentos estão expressos na tabela 6.

**Tabela 6 - Açúcares redutores (%)**

Tratamento (mg/L)	Açúcares redutores (%)
Tratamento 1 (B=0, P=0)	0,083 <sup>cd</sup> ± 0,01
Tratamento 2 (B=0, P=25)	0,080 <sup>cd</sup> ± 0,02
Tratamento 3 (B=0, P=50)	0,087 <sup>bcd</sup> ± 0,03
Tratamento 4 (B=20, P=0)	0,130 <sup>a</sup> ± 0,01
Tratamento 5 (B=20, P=25)	0,130 <sup>a</sup> ± 0,01
Tratamento 6 (B=20, P=50)	0,123 <sup>ab</sup> ± 0,01
Tratamento 7 (B=40, P=0)	0,050 <sup>de</sup> ± 0,01
Tratamento 8 (B=40, P=25)	0,033 <sup>e</sup> ± 0,01
Tratamento 9 (B=40, P=50)	0,107 <sup>abc</sup> ± 0,02

\*Valores apresentados como média ± desvio padrão a-e. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

Os tratamentos 4 e 5 apresentaram maior concentração de açúcares e diferiram estatisticamente dos tratamentos 1, 2, 3, 7 e 8. O tratamento 8 teve menor concentração de açúcar, foi significativamente igual ao tratamento 7 mas

significativamente diferente dos demais tratamentos. Os valores encontrados para açúcares redutores nos vinhos espumantes enquadram-se na legislação brasileira, bem como no regulamento vitivinícola do Mercosul. No caso desse estudo, o espumante caracterizaria-se por ser um espumante brut. Abou-Saleh (2007), em um estudo sobre a influência da concentração de açúcar sobre a persistência das bolhas (perlage) de champagnes, em concentração relativa a *champagne* brut, observou um aumento significativo da persistência das bolhas, com o aumento da concentração de açúcar. Se entrarmos em consonância com essa teoria, os espumantes aqui estudados se comportariam de forma distinta quanto à persistência das bolhas. Por exemplo, os espumantes equivalentes aos tratamentos 7 e 8 em suma, por diferir estatisticamente dos demais, aliado a outros fatores, como teor de nitrogênio total e proteínas, deveriam apresentar menor persistência de perlage, o que não ocorreu, talvez pela relação entre perlage, nucleação de bolhas e temperatura de serviço do espumante no momento da análise.

## 5.2 Nitrogênio total

Os compostos nitrogenados do mosto e do vinho são importantes para o metabolismo das leveduras. Existe um número de compostos contendo nitrogênio, como amônia, aminoácidos, proteínas, vitaminas, aminas e nitratos, que são encontrados nos mostos e nos vinhos. Estes compostos nitrogenados são muito importantes para o crescimento e metabolismo das leveduras durante a fermentação e, em alguns casos, pode ser um fator limitante deste processo (OUGH; AMERINE, 1987).

A quantidade de nitrogênio no mosto varia consideravelmente de acordo com a região, a cultivar e as condições do clima e do solo onde é cultivada a videira e do uso ou não de fertilizantes nitrogenados (DAUDT et al., 1975). No vinho, as quantidades de nitrogênio total são menores em relação ao mosto de origem. Esta diminuição, muito significativa no primeiro estágio de fermentação, ocorre devido à utilização do nitrogênio pelas leveduras, para a sua multiplicação e posterior fermentação (GARCIA; DAUDT, 1988).

O conteúdo inicial de nitrogênio total e a quantidade individual dos constituintes nitrogenados afetam o crescimento das leveduras, velocidade de fermentação, formação, estabilidade do produto final (DUTRA et al., 1999) e clarificação, além de influenciarem o desenvolvimento de aroma e buquê do vinho (ZOECKLEIN et al., 2001). Flanzzy (2003) afirma que a primeira característica dos compostos nitrogenados dos mostos de uva e dos vinhos, é sua grande variabilidade do ponto de vista quantitativo.

Os valores encontrados para nitrogênio total nos vinhos espumantes nos diferentes tratamentos estão descritos na tabela 7, a seguir.

**Tabela 7 - Nitrogênio total (mg/L) nos vinhos espumantes**

Tratamento (mg/L)	(N) Total mg/L*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	138,1 <sup>a</sup> ± 38,89
Tratamento 2 (B=0, P=25)	128,3 <sup>bc</sup> ± 22,45
Tratamento 3 (B=0, P=50)	134,7 <sup>ab</sup> ± 30,60
Tratamento 4 (B=20, P=0)	133,2 <sup>ab</sup> ± 22,45
Tratamento 5 (B=20, P=25)	126,9 <sup>bc</sup> ± 16,97
Tratamento 6 (B=20, P=50)	115,1 <sup>d</sup> ± 36,99
Tratamento 7 (B=40, P=0)	125,9 <sup>bc</sup> ± 44,91
Tratamento 8 (B=40, P=25)	120,5 <sup>cd</sup> ± 36,99
Tratamento 9 (B=40, P=50)	97,0 <sup>e</sup> ± 44,10

\*Valores apresentados como média seguida de desvio padrão (a-e). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

De acordo com os resultados, o tratamento 9 apresentou menor teor de nitrogênio total e diferiu estatisticamente ( $p < 0,01$ ) de todos os outros tratamentos. Os tratamentos 6 e 8 foram significativamente iguais entre si, mas somente o tratamento 6 difere estatisticamente dos demais. O tratamento 1 foi o tratamento que teve maior teor de nitrogênio total, sendo igual estatisticamente aos tratamentos 3 e 4 mas diferente dos demais.

Em estudo sobre a quantificação de nitrogênio total em mostos e vinhos, Cordonnier (1966) testando 164 mostos e vinhos, encontrou resultados mostrando uma ampla variabilidade que se situava em mostos entre 98 e 1130 mg/L de N, com uma média de 390 mg/L, e, para os vinhos entre 70 e 780 mg/L de N, com uma média de 350 mg/L de nitrogênio total. A partir do exposto, as quantidades de

nitrogênio total encontrados neste estudo entram em conformidade com o intervalo proposto por Cordonnier (1966).

Além de representar um componente fundamental no desenvolvimento microbiológico, como já visto, o nitrogênio, na forma de proteínas, proporciona corpo aos vinhos (LUGUERA et al., 1998) e tem um papel positivo importante na estabilidade da espuma em vinhos espumantes (BRISSONET; MAUJEAN, 1993). A presença de proteína no espumante confere a capacidade de aprisionar o dióxido de carbono, sendo essa, proporcional à formação de perlage e a persistência de espuma (DAUDT et. al., 2010). Liger-Belair (2000) revelou que, durante a ascensão a superfície do líquido, a bolha do espumante é envolvida pela interface de moléculas presente no vinho. A adsorção de moléculas na superfície da bolha provoca um abrandamento em sua taxa de subida e também ajuda a formar uma camada ao redor da bolha, alargando a sua vida. Essa teoria foi coerente ao exposto por Senée et. al., (1999) que em uma pesquisa sobre hidrocolóides em espumas de Champagne concluiu que as macromoléculas podem formar agregados em solução hidro-alcoólica e que as partículas, que não são apenas macromoleculares são de fato, encontradas no filme líquido ao redor bolha. Sendo assim, as glicoproteínas, partes importantes do constituinte nitrogenado do vinho, são amplamente envolvidas nesse fenômeno.

As proteínas podem causar turbidez, prejudicando a imagem comercial do produto e, portanto, diminuindo a sua preferência pelos consumidores (LUGUERA et. al., 1998). Se as proteínas são responsáveis pela turvação da bebida espumante, os níveis de nitrogênio total na bebida são o reflexo real do quão turvo pode estar à mesma. Maujean et. al., (1990) observaram uma correlação negativa entre a concentração de proteína e formação de turbidez em 31 vinhos espumantes escolhidos aleatoriamente e definiram como a proteína está conformada nos níveis quantitativos de turbidez de acordo com sua presença nos vinhos.

De acordo com o que foi exposto, analisando-se por essa óptica, vemos que o tratamento 1 apresentou 138,1 mg.L<sup>-1</sup> de nitrogênio total, evidenciando a maior quantidade de nitrogênio total dentre todos e apresentando diferença estatística significativa frente aos demais, sendo o espumante com maior probabilidade a turvação. Em contrapartida, o tratamento 9 possui apenas 97,0 mg.L<sup>-1</sup> de nitrogênio total, possuindo a menor concentração entre todos e diferindo significativamente de todos eles, sendo que o tratamento 9 é o tratamento que agrega dois clarificantes

diferentes nas maiores doses frente todos, entrando em concordância com o estudo de Waters (1996), sendo o tratamento com menor propensão à turbidez.

### 5.2.1 Influência quantitativa da aplicação de bentonite e polivinilpirrolidona na concentração de Nitrogênio total

A produção de espumantes envolve um número variável de fases de vinificação que pode alterar grandemente a composição macromolecular do vinho. No tratamento de colagem, nomeadamente a ligação, em especial usando caseína ou bentonite, são suscetíveis de afetar significativamente a composição de um vinho e, portanto, de subestimar as propriedades da espuma (Maujean et al., 1990).

Se a cola ao efetuar seu papel de ligação, coagular e formar os flocos para deixar as substâncias coaguladas em suspensão, diminuir o teor de nitrogênio total, e, conseqüentemente, de proteínas solúveis, como visto em diversos estudos, acarretará em uma ação inversamente proporcional entre o tipo e quantidade de cola/clarificante e o nível de nitrogênio total no espumante. Esse ideal pode ser comprovado neste estudo.

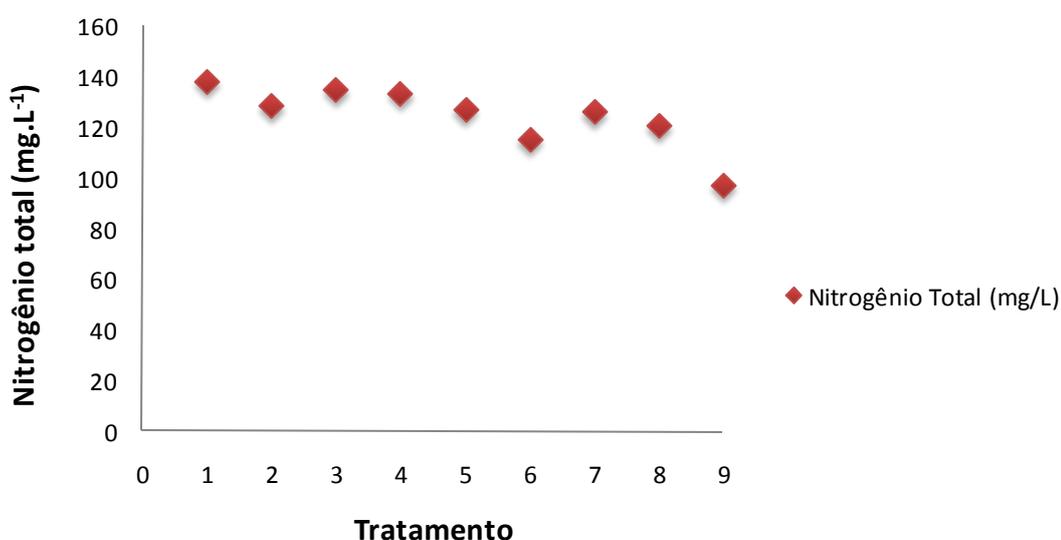


Figura 8 - Influência das doses e tipo de clarificante no teor de nitrogênio total (B= bentonite; P= polivinilpirrolidona). Tratamentos: (1= 0 B, 0 P; 2= 0 B, 25 P; 3= 0 B, 50 P; 4= 20 B, 0 P; 5= 20 B, 25 P; 6= 20 B, 50 P; 7= 40 B, 0 P; 8 = 40 B, 25 P; 9= 40 B, 50 P).

A Figura 8 mostra a influência das quantidades e tipo de clarificantes adicionados por tratamento sobre a quantidade de Nitrogênio total. As doses de clarificantes, bem como o tipo de clarificante influenciaram de maneira significativa ( $p < 0,01$ ) o teor de nitrogênio total nas amostras de vinhos espumantes. O tratamento 1 (testemunha), sem qualquer adição de clarificante, teve a maior concentração de nitrogênio total no espumante final. Isso indica que na produção de vinhos, a falta do uso da tecnologia enológica acaba por permitir que os compostos se mantenham exatamente como estão, sem uma barreira que os transformem ou degradem. Martínez-Rodríguez e Polo (2003), ao realizarem um estudo avaliando o efeito da adição de bentonite no licor de *tirage* sobre a composição de nitrogênio total e qualidade sensorial de espumantes, encontraram diferença significativa entre os vinhos produzidos sem bentonite e os vinhos produzidos com bentonite e definiram que o uso de bentonite nas concentrações estudadas (até 3 g/hL), modificaram significativamente o teor de nitrogênio. Esse resultado entra em conformação com os valores encontrados neste estudo pois, nota-se, ao comparar o tratamento 1, sem adição de clarificantes com o tratamento 7, com adição de 40 mg.L<sup>-1</sup> de bentonite, observa-se uma redução na quantidade de nitrogênio total, devido a precipitação das proteínas do vinho pela ação da cola. Vanrell et al. (2007) ao estudarem o efeito de bentonite na qualidade da espuma e fração protéica em espumantes espanhóis (cavas) produzidos a partir de 3 variedades de uvas, dentre elas Chardonnay, encontraram em média 134 mg.L<sup>-1</sup> de nitrogênio total, valor aproximado com o encontrado no presente estudo para mesma dose de bentonite aplicada e concluiu que a adição de bentonite também reduziu as concentrações de compostos nitrogenados.

Comparando com a testemunha, os tratamentos com os dois tipos de clarificantes, bentonite e PVPP, apresentaram redução significativa na concentração de nitrogênio total, sendo que houve uma redução acentuada na combinação (20 B + 50 PVPP) tratamento 6 e, na combinação (40 B + 50 PVPP). Um trabalho realizado por Puig-Deu et al., (1999) mostrou que o tratamento com uma mistura de bentonite e caseinato (50 g/hL) de cada composto foi responsável por diminuir acentuadamente a proteína endógena de um vinho e sua turbidez. Estes autores observaram, ainda, que essas perdas de proteína e menor turvação obtiveram um resultado muito maior neste tratamento, quando comparado com o tratamento de 20 g/hL de bentonite. No entanto, deve notar-se que a mistura usada com bentonite e

caseinato, na verdade contém 2,25 vezes mais do que quando é utilizada bentonita sozinho. Essa alta proporção de bentonite pode explicar as diferenças observadas no teor de nitrogênio total encontrado e conseqüentemente eliminação substancial da turbidez.

Em suma, o decréscimo significativo na turvação do meio, salientando a menor quantidade de nitrogênio no tratamento 9, se deve a interação entre os clarificantes utilizados, principalmente quando se usa as quantidades maiores, que proporcionam maior adsorção de proteínas. Bentonite ou PVPP, agindo sozinhos, têm menor efeito sobre esta limpeza, o que é explicitamente visto neste trabalho.

### 5.3 Dióxido de Carbono e *perlage* em vinhos espumantes

De acordo com a lei de Henry, a uma dada temperatura e saturação, a quantidade de gás carbônico dissolvido em um líquido é proporcional à pressão parcial exercida do gás acima do líquido, ou seja, um equilíbrio entre o dióxido de carbono dissolvido no vinho e do dióxido de carbono no gargalo da garrafa (AGABALIANZ, 1962; WILT, 1986, ABOU-SALEH, 2007). A Lei de Henry reflete o balanço energético de uma substância, onde ambos os lados perpetuam uma interface gás-líquido, isto é, há a igualdade de potenciais químicos de substância em ambas as fases (PRIGOGINE; KUNDEPUDI, 1999). Uma característica notável do *champagne* é sua alta concentração de dióxido de carbono, que é adquirido durante a fermentação secundária e é responsável por sua efervescência, característica essa que a difere de outros vinhos (ABOU-SALEH, 2007).

*Champagne* e vinhos espumantes elaborados de acordo com o método tradicional *champanoise* prendem basicamente de 11 a 12 g.L<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> dissolvido, podendo encontrar ainda valores mais baixos, na faixa de 6 a 7 g.L<sup>-1</sup> (LIGER-BELAIR, 2005).

Os valores encontrados para dióxido de carbono nos vinhos espumantes para os diferentes tratamentos estão expressos na tabela 8.

Tabela 8 - Quantidade de CO<sub>2</sub> (mL CO<sub>2</sub>/mL espumante)

Tratamento (mg/L)	CO <sub>2</sub> Total*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	2,37 <sup>ab</sup> ± 0,17
Tratamento 2 (B=0, P=25)	2,11 <sup>bc</sup> ± 0,10
Tratamento 3 (B=0, P=50)	2,19 <sup>abc</sup> ± 0,16
Tratamento 4 (B=20, P=0)	1,60 <sup>d</sup> ± 0,04
Tratamento 5 (B=20, P=25)	2,43 <sup>ab</sup> ± 0,05
Tratamento 6 (B=20, P=50)	1,61 <sup>d</sup> ± 0,10
Tratamento 7 (B=40, P=0)	2,48 <sup>a</sup> ± 0,05
Tratamento 8 (B=40, P=25)	2,03 <sup>c</sup> ± 0,03
Tratamento 9 (B=40, P=50)	2,35 <sup>abc</sup> ± 0,20

\*Valores apresentados como média seguida de desvio padrão (a-d). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

O tratamento 7 foi o que apresentou maior concentração de gás carbônico e diferiu estatisticamente ( $p < 0,01$ ) dos tratamentos 2, 4, 6 e 8. Os tratamentos 4 e 6 são estatisticamente iguais entre si e diferentes dos demais.

O teor de CO<sub>2</sub> em espumantes influencia a efervescência (CILINDRE, 2009). então, a maior concentração de gás carbônico no tratamento 7 rotula este como um dos tratamentos que produzirá maior efervescência, o que foi percebido nesse estudo. Em contrapartida, os tratamentos 4 e 6, que apresentaram menor conteúdo de gás carbônico dissolvido, produzirão na taça menor efervescência. Assim, quanto mais CO<sub>2</sub> dissolvido contém o vinho, a efervescência e a espuma serão mais abundantes (LIGER-BELAIR, 2005). Liger-Belair et al., (2010) ao estudar o comportamento da espuma comparando *champagnes* jovens com envelhecidas de duas variedades, Chardonnay e Pinot Meunier, constataram que o teor de gás carbônico dissolvido no líquido foi muito maior em vinhos mais velhos da variedade Chardonnay em comparação a Pinot Meunier. Isso nos mostra que o poder varietal e o tempo de contato do líquido com compostos nitrogenados influencia a produção de gás carbônico e, conseqüentemente a formação de *perlage*.

É sabido que *champagne* e vinhos espumantes diferem dos vinhos tranquilos pela formação de espuma. Durante o vazamento do líquido no copo, materializam-se bolhas de nucleação na parede do vidro, o chamado processo de efervescência, que leva à formação de um anel de espuma na periferia da taça, também conhecida como colarinho. Esses três critérios, efervescência, espuma, e colarinho são muito solicitados pelo consumidor durante uma degustação de vinhos espumantes, considerando tanto o visual, aspecto, sabor e olfativo (CILINDRE et al.,

2009). Esses atributos são responsáveis pelo perlage dos vinhos espumantes, tão apreciado pelos consumidores.

Os resultados encontrados para o *perlage* nos vinhos espumantes para os diferentes tratamentos estão demonstrados na Tabela 9 e ilustrados na Figura 9, na sequência.

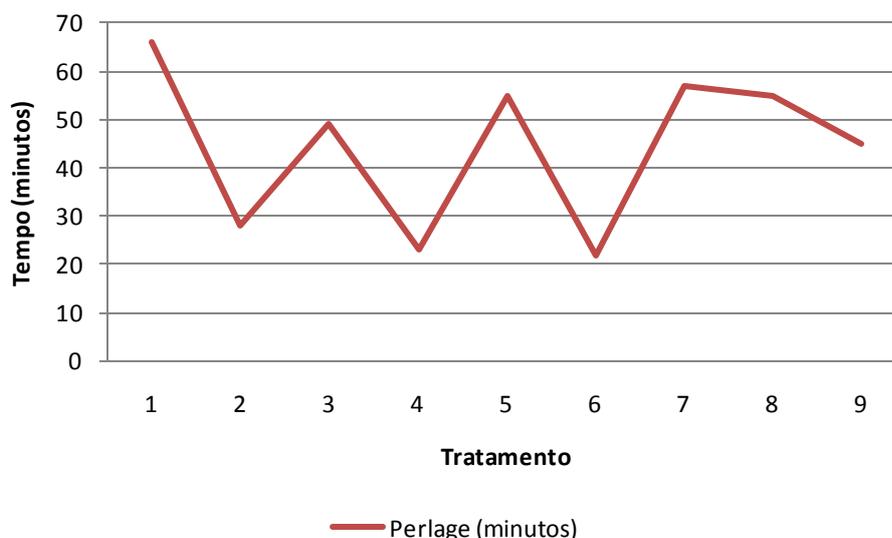
**Tabela 9 - *Perlage* (minutos)**

Tratamento (mg/L)	<i>Perlage</i> (minutos)*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	66'08 <sup>na</sup>
Tratamento 2 (B=0, P=25)	28'15 <sup>nd</sup>
Tratamento 3 (B=0, P=50)	49'40 <sup>nBC</sup>
Tratamento 4 (B=20, P=0)	22'58 <sup>nd</sup>
Tratamento 5 (B=20, P=25)	55'38 <sup>nb</sup>
Tratamento 6 (B=20, P=50)	21'96 <sup>nd</sup>
Tratamento 7 (B=40, P=0)	57'46 <sup>nab</sup>
Tratamento 8 (B=40, P=25)	55'43 <sup>nb</sup>
Tratamento 9 (B=40, P=50)	45'25 <sup>nc</sup>

\*Valores apresentados como média (a-d). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

Os tratamentos 1 e 7 não diferiram estatisticamente entre si, sendo que ao comparar esses dois tratamentos, com e sem adição de bentonite somente, notou-se que a adição de bentonite para a referida dose não acarretou interferência sobre o tempo de perlage para ambos tratamentos, nas referidas doses, evidenciando que a bentonite sozinha não foi fator determinante para modificar tempo de perlage. Os tratamentos 3, sem presença de bentonite e 9, com presença de bentonite (40 mg/L), ambos com a mesma quantidade de PVPP (50 mg/L), não diferiram estatisticamente entre si, o que prova que a presença de bentonite não foi fator condicionante para modificar o tempo de perlage. Não houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os tratamentos 2, 4 e 6, mas houve diferença entre estes e os demais.

Todos os tratamentos apresentaram bom nível de *perlage*. Estudos de diversos autores mostram em média que o tempo de borbulhamento considerado satisfatório permanece em torno de 10 a 15 minutos. Neste estudo todos os tratamentos apresentaram média de tempo maior.



**Figura 9 - Tempo de perlage em vinhos espumantes (minutos) (B= bentonite; P= PVPP.  
 Tratamentos: (1= 0 B, 0 P; 2= 0 B, 25 P; 3= 0 B, 50 P; 4= 20 B, 0 P; 5= 20 B, 25 P; 6= 20 B, 50 P; 7= 40 B, 0 P; 8 = 40 B, 25 P; 9= 40 B, 50 P).**

Os tratamentos que apresentaram maior tempo de *perlage* foram os tratamentos 1, 5, 7 e 8. O tratamento 1, sem qualquer adição de clarificantes, produziu maior quantidade de espuma. A explicação mais plausível seria porque não ocorreu o processo de limpeza (adição de clarificantes), sendo que as proteínas, restos de levedura e autólise das mesmas, bem como demais compostos nitrogenados permaneceram em contato por mais tempo e em maior quantidade com a solução vínica, proporcionando a formação abundante de perlage e ajudando na conservação da concentração de gás carbônico gerado na segunda fermentação alcoólica e, no entanto, o espumante deste tratamento apresentou-se mais turvo.

Os tratamentos 5 e 8, em uma interação de bentonite e PVPP, mostraram nesse estudo que, o aumento da dose de bentonite para uma mesma dose de PVPP, não causou influência quanto a formação de *perlage*, pois ocorreu uma diminuição na concentração de gás carbônico que não foi refletida na *perlage*, mantendo praticamente o mesmo tempo de persistência. Os tratamentos 4 e 6 apresentaram menor quantidade de CO<sub>2</sub> apresentando ainda menor tempo de perlage. Se cruzarmos os dados de teor de nitrogênio total destes dois tratamentos, 133,2 mg.L<sup>-1</sup> e 115,1 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, com tempo de *perlage*, observa-se que mesmo ocorrendo uma diminuição considerável na quantidade de nitrogênio

total nos tratamentos, essa diminuição não afetou o tempo de *perlage*, ou seja, para uma mesma dose de bentonite, comparando um tratamento que tem adição de PVPP e outro sem, não foi observado diferença entre os tratamentos para esse quesito, definindo que para *perlage*, a aplicação de PVPP, na referida dose do tratamento 6 não modificou a estabilidade da espuma.

Enfim, após a clarificação dos vinhos, esperar-se-ia uma redução no tempo de *perlage* dos espumantes, o que ocorreu, devido à separação dos colóides e demais substâncias nitrogenadas. No entanto observou-se que alguns tratamentos não apresentaram uma relação satisfatória entre concentração de gás carbônico e *perlage*, podendo isso ter sido consequência da influência da temperatura de serviço do líquido, que pode ter variado de um espumante a outro, bem como a diferença de sítios de nucleação de bolhas na parede de vidro das diferentes taças. A nucleação das bolhas, em diferentes taças, se comporta de maneira distinta, pois, não há uniformidade na rugosidade das paredes das taças, podendo algumas serem mais rugosas (o que causará a nucleação, pelo contato do líquido com o espumante, acarretando em maior nucleação) ou menos rugosas.

#### **5.4 O oxigênio nos vinhos espumantes**

Ainda na produção do vinho base, as leveduras necessitam de oxigênio para multiplicar-se. Louis Pasteur definiu a fermentação como a “vida sem ar” porque uma célula de levedura privada de oxigênio encontra a energia que é necessária na transformação do açúcar. Mas, para conseguir uma fermentação prolongada e obter produtos fermentados com teor de álcool satisfatório, deve formar-se constantemente novas gerações de leveduras e, portanto, é indispensável o oxigênio (PEYNAUD, 1989). De acordo com o mesmo autor, o ar é inimigo principal do vinho branco, pois o oxigênio desnatura o aroma e escurece a cor.

Quando do processamento do vinho espumante, após a adição do licor de tiragem, e tamponamento da garrafa com tampa corona, o vinho base contém algumas miligramas de oxigênio por litro. Esse oxigênio é rapidamente consumido pelas leveduras. O oxigênio encontra meios de se fazer presente praticamente em todas as fases de produção de espumantes, desde o licor de tiragem, passando pelo

*dégorgement*, e finalizando com a conservação e envelhecimento (VALADE et. al., 2006). Os valores encontrados de oxigênio nos vinhos espumantes (tabela 10).

**Tabela 10 - Teor de oxigênio em vinhos espumantes (mL O<sub>2</sub> / mL espumante)**

Tratamento (mg/L)	O <sub>2</sub> Total*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	1,35 <sup>a</sup> ± 0,13
Tratamento 2 (B=0, P=25)	1,12 <sup>b</sup> ± 0,07
Tratamento 3 (B=0, P=50)	1,09 <sup>bc</sup> ± 0,12
Tratamento 4 (B=20, P=0)	1,07 <sup>bc</sup> ± 0,06
Tratamento 5 (B=20, P=25)	1,04 <sup>bc</sup> ± 0,01
Tratamento 6 (B=20, P=50)	0,96 <sup>bc</sup> ± 0,03
Tratamento 7 (B=40, P=0)	0,88 <sup>c</sup> ± 0,06
Tratamento 8 (B=40, P=25)	0,95 <sup>bc</sup> ± 0,02
Tratamento 9 (B=40, P=50)	0,91 <sup>bc</sup> ± 0,09

\*Valores apresentados como média seguida de desvio padrão (a-c). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

O tratamento 1 diferiu estatisticamente de todos os outros e apresentou maior concentração de O<sub>2</sub>. De acordo com Valade (2006), quanto mais o vinho apresenta oxigênio dissolvido, maior será sua susceptibilidade a efeitos adversos a qualidade. Isso nos remete a crer que o tratamento 1 estará mais sujeito a efeitos de oxidação frente aos outros tratamentos.

Os tratamentos envolvendo interações de clarificantes 5, 6, 8 e 9, bem como os tratamentos envolvendo a menor dose de bentonite, tratamento 4 e a maior de PVPP, o tratamento 3, não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,01$ ), mostrando que neste estudo, o efeito do tratamento não foi significativo para promover mudanças nos níveis de oxigênio nos vinhos espumantes.

Como pode ser visto, os tratamentos 2 e 7 diferiram estatisticamente entre si. Pelo exposto, vê-se que em termos de oxidação, o vinho correspondente ao tratamento 2 estaria mais sujeito a oxidação frente ao tratamento 7.

Frações de oxigênio são muito importantes no processo conhecido como “oxidação de compostos fenólicos”. Essa oxidação provoca modificações na cor e na formação de substâncias ásperas e amargas (PEYNAUD, 1989).

## 5.5 Polifenóis totais em vinhos espumantes

Os compostos fenólicos possuem uma grande importância em enologia devido ao papel que jogam diretamente ou indiretamente sobre a qualidade dos vinhos. Do ponto de vista químico, os compostos fenólicos são caracterizados por um anel benzênico que leva um ou vários grupos hidroxilas (FLANZY, 2003). A comparação da composição fenólica da uva e do vinho mostra que junto às moléculas diretamente procedentes da baga, aparecem outros fenóis. Estes constituintes específicos dos vinhos compreendem em particular os compostos fenólicos procedentes da etapa fermentativa, mas também compreendem inúmeros produtos resultantes dos compostos fenólicos originados da baga da uva (PEYNAUD, 2003).

Os vinhos espumantes são ricos em compostos fenólicos (CHAMKHA et. al, 2003; STEFENON, 2010), e estes estão envolvidos em fenômenos químicos e bioquímicos, entre eles a oxidação (FLANZY, 2003).

Os compostos fenólicos são provavelmente um dos fatores não-protéicos potencialmente envolvidos na precipitação de proteínas (ESTERUELAS et. al., 2011). Inicialmente, proteína e polifenóis são complexos solúveis mas, o complexo cresce até que torna-se insolúvel, o que resulta na turbidez (SIEBERT, 2006). Somers e Ziemelis (1973) sugeriram que aproximadamente 50% de proteína de vinho é, aparentemente, ligado a uma menor quantidade de compostos fenólicos de uva, e essa parte é que seria responsável pela turbidez proteica. Muitos adjuvantes estão sendo usados para controlar esse fator dos fenóis no vinho, entre eles o Polivinilpirrolidona (PVPP), sozinho ou em conjunto com outra cola (FLANZY, 2003). Pocock et. al., (2007) mostrou que o PVPP provocou uma redução na proteína de vinhos, o que sugere que os compostos fenólicos possuem um papel modulador na formação da instabilidade do vinho.

Os resultados do teor de compostos fenólicos ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos vinhos espumantes produzidos neste trabalho estão descritos na tabela 11.

**Tabela 11 - Teor de compostos fenólicos (mg.L<sup>-1</sup>)**

Tratamento (mg/L)	Polifenóis totais*
Tratamento 1 (B=0, P=0)	185,03 <sup>cd</sup> ± 11,01
Tratamento 2 (B=0, P=25)	211,47 <sup>bc</sup> ± 12,40
Tratamento 3 (B=0, P=50)	184,06 <sup>cd</sup> ± 6,10
Tratamento 4 (B=20, P=0)	219,71 <sup>ab</sup> ± 2,04
Tratamento 5 (B=20, P=25)	162,46 <sup>d</sup> ± 19,15
Tratamento 6 (B=20, P=50)	191,42 <sup>bcd</sup> ± 6,97
Tratamento 7 (B=40, P=0)	247,00 <sup>a</sup> ± 3,09
Tratamento 8 (B=40, P=25)	193,08 <sup>bc</sup> ± 6,08
Tratamento 9 (B=40, P=50)	214,33 <sup>bc</sup> ± 15,26

\*Valores apresentados como média seguida de desvio padrão (a-d). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Tukey

Todos os vinhos apresentaram valores em mg.L<sup>-1</sup> dentro da faixa esperada de polifenóis totais para vinhos brancos, de acordo com o descrito por Amerine e Ough (1976).

O tratamento 7 não difere do tratamento 4, diferindo estatisticamente dos demais. Os tratamentos 1, 3 e 5 não diferiram significativamente entre si, mas o tratamento 5 diferiu dos demais tratamentos. Provavelmente, a referida dose em interação de dois clarificantes foi determinante para maior redução de fenóis.

O tratamento 7 apresentou a maior concentração de polifenóis totais. Na seqüência, o tratamento 4, apresentou a segunda maior concentração. Ambos tratamentos adicionados somente de bentonite. Nesse estudo verificou-se que o bentonite não foi tão eficaz para remoção de fenóis totais quanto para a precipitação de proteínas. Se analisarmos estes dois tratamentos em comparação a dois tratamentos também só com adição de PVPP, os tratamentos 2 e 3, veremos que houve um decréscimo significativo na concentração de fenóis. Isso provavelmente ocorreu pela atuação de PVPP e sua capacidade de ligação com os mesmos, mais íntima que o bentonite.

Ao cruzarmos os dados de polifenóis totais com oxigênio, podemos observar que o tratamento 7, que apresentou maior teor de polifenóis totais, também apresentou menor conteúdo de oxigênio, comprovando o que foi exposto por Peynaud (1989) sobre oxidação de compostos fenólicos, mostrando que esses baixos volumes de oxigênio dissolvido nas amostras não foram suficientes para ocasionar oxidação dos compostos fenólicos.

Entre os tratamentos com interação entre clarificantes, o que apresentou maior teor de remoção de fenóis totais foi o tratamento 5. Esse resultado mostrou que a interação entre os clarificantes atuou de forma eficiente pois, resultou no melhor controle de polifenóis, utilizando as menores doses do estudo para os dois clarificantes.

## 6 CONCLUSÕES

A adição de bentonite e polivinilpirrolidona (PVPP) foi primordial para controlar o processo de turvação dos espumantes, visto que houve uma redução significativa no teor de nitrogênio total a partir do aumento da dose das colas, bem como, frente à interação entre ambas.

A clarificação reduziu o tempo de perlage pela diminuição da quantidade de nitrogênio total. Não houve, em alguns casos, uma relação direta entre a concentração de dióxido de carbono e *perlage*, talvez a temperatura de serviço do líquido e/ou a diferença de sítios de nucleação de bolhas na parede das diferentes taças teve algum papel importante nesta relação.

A concentração de polifenóis totais foi afetada significativamente pelo tratamento e clarificante utilizado, contribuindo para a maior estabilidade das características sensoriais dos espumantes.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-SALEH, K.; AGUIÉ-BEGHIN, V.; FOULON, L.; VALADE, M.; et DOUILLARD, R. **Characterization by Optical Measurements of the Effects of Some Stages of Champagne Technology on the Adsorption Layer Formed at the Gas / Wine Interface**. *Langmuir* (2007), 23, 7200-7208.

ABOU-SALEH, K.; AGUIÉ-BEGHIN, V.; FOULON, L.; VALADE, M.; et DOUILLARD, R. **Characterization by Optical Measurements of the Effects of Some Stages of Champagne Technology on the Adsorption Layer Formed at the Gas / Wine Interface**, *Langmuir* (2005), 23, 7200-7208.

ALBERT, A. Z. **Borbulhas**: tudo sobre champanhe e espumantes. São Paulo: Senac, 2008. 168 p.

ALMEIDA ROSA, G. G. **Estágio na Vinícola Bodegas y Viñedos Santa Rosa**. Relatório de estágio (Agronomia). Santa Maria, 2010.

AGABALIANZ, G. G. **Bases scientifiques de la technologie des vins mousseux**. *Bulletin de O.I.V.*, 36 :703, 1963.

ALBUQUERQUE, C. M.; **Clarificação de suco de laranja “Core Wash” por processo de flotação auxiliado por enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes**. Tese (Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2009.

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Análisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1976. 158 p.

BAYLY, F. C.; BERG, H. W. Grape and wine proteins of white wine varieties. **American Journal of Enology and Viticulture**. 24, p: 18-32, 1967.

BLASI, T.C. **Análise do consumo e constituintes químicos de vinhos produzidos na Quarta Colônia de Imigração Italiana do Rio Grande do Sul e sua**

**relação com as frações lipídicas sangüíneas.** Santa Maria, 2004. 91f. Dissertação de Mestrado.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Complementação dos padrões de identidade para suco, refresco e refrigerante de uva. p. 25-29, publicado no **Diário Oficial da União**, portaria nº 371, 19 de setembro de 1974.

BRASIL, **Portaria nº 299 do dia 17 de junho de 2010**, MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, dispõe o Projeto de Instrução Normativa que aprova a lista de Práticas Enológicas Lícitas.

BREMMER, J. M.; Total nitrogen. In: BLACK, C. A., **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. Cap. 83, p. 1149-1176, v.2.

BRISSONNET F., MAUJEAN A., (1993), **Characterisation of foaming proteins in a champagne base wine**. Am. J. Enol. Vitic., 44, 297-301.

CANALS, J. M.; AROLA, L.; ZAMORA, F. **Protein Fraction Analysis of White Wine by FPLC**. American Journal Enology and Viticulture. Nº49: p.383-388. 1998.

CHAMKA, M.; CATHALA, B.; CHEYNIER, V. DOUILLARD, R. Phenolic composition of champagnes from chardonnay and pinot noir vintages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51, p: 3179-3184, 2003.

CILINDRE, C.; LIGER-BELAIR, G.; VILLAUME, S.; JEANDET, P.; MARCHAL, R. Foaming proprieties of various Champagne wines depending on several parameters: grape variety, aging, protein and CO<sub>2</sub> content. **Analytica Chimica Acta**. 660: p. 164-170. 2010.

CORDONNIER, R. Étude des protéines et des substances azotées. Rapport Français. **Bull/OIV**. 39, p: 1475-1489, 1966.

CURVELO-GARCIA, A. S.; Práticas enológicas internacionalmente reconhecidas. **Ciência Téc. Vitivinícola**. 20 (2), nota técnica, p. 105-130. 2005.

DAUDT, C. E.; CONTE, A.; MENEGUZZO, J. Teor de nitrogênio total e fósforo em algumas variedades de uvas. **Revista do Centro de Ciências Rurais**. 4, p: 317-322, 1975.

DAUDT, C. E. ; DURANTE, E. C. **Adição de bentonite durante a vinificação de uvas brancas: I-efeito sobre leveduras, clarificação, fermentação e sedimentos formados**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, v. 6, n. 1, p. 42-57, 1986.

DAUDT, C. E; SILVA, H. R.; EBERT, L. C., SAUTTER,C. K., BRACKMANN, A. **Dióxido de carbono e oxigênio em vinhos espumantes: metodologia analítica**. In: XV Seminário Institucional de ensino, pesquisa e extensão, Unicruz, 2010.

DAVIES, C.; SHIN, R.; LIU, W.; THOMAS, M. R.; SCHACHTMAN, D. P. Transporters expressed during grape berry (*Vitis vinifera* L), development are associated with an increase in berry size and berry potassium accumulation. **Journal of Experimental Botany**, 12, p: 3209-3216, 2006.

DUTRA, S. V.; DAUDT, C. E.; SOUZA, M. Aminoácidos livres e uréia durante a fermentação de mosto Chardonnay com diferentes leveduras. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Campinas. V. 19, n. 2, p. 179-182, maio/ago, 1999.

ESTERUELAS, M.; KONTOUDAKIS, N.; GIL, M.; FORT, M. F.; CANALS, J. M.; ZAMORA, F. Phenolic compounds presents in natural haze protein of Sauvignon white wine. **Food Research International**. 44, p: 77-83, 2011.

FERREIRA, R. B.; PIÇARRA-PEREIRA, M. A.; MONTEIRO, S.; LOUREIRO, V. B.; TEIXEIRA, A. R. The wine proteins. **Trends in Food Science & Technology**. 12. p: 230-239, 2002.

FEUILLAT, M.; BRILLANT, G.; ROCHARD, J. Mise en evidence d'une production de proteases exocellulaires par les levures au cours de la fermentation alcoolique du moût de raisin. **Connaiss Vigne Vin**. 14, p: 37-52, 1980.

FLANZY, C. **Enología: fundamentos científicos y tecnológicos**. Zaragoza. Acribia, 2003, Madrid. 797p.

FOGAÇA, A. O. **Avaliação do estado nutricional de vinhedos e sua correlação com a produção de uvas viníferas de qualidade**. 2005. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

GARCIA, N. G. **Constituintes inorgânicos e nitrogênio total em mostos e vinhos**. 1987. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1987.

GARCIA, N. G.; DAUDT, C. E. Utilização de nitrogênio durante a fermentação de mostos. **Revista do Centro de Ciências Rurais**. 18, p: 141-147, 1988.

GIOVANNINI, E. **Produção de uvas para vinho, suco e mesa**. Porto Alegre: Renascença, 2003. 364p.

GIOVANNINI, E.; MANFROI, V. **Viticultura e Enologia – elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. Bento Gonçalves: IFRS, 2009. 344p.

GOERTGES, S. Problems with proteins stabilization in winemaking. **Problematik der Eiweisstabilisierung, Weinwirtschaft**. 118, p: 931-935, 1982.

HEATHERBELL, D. A. Haze and sediment formation in clarified apple juice and apple wine. II. The role of polyvalent cations, polyphenolics and proteins. **Food Technology in New Zealand**. 11, p: 17-23, 1976b.

HOUGH, J. S.; BRIGGS, D. E.; STEVENS, R.; YOUNG, T. W.; **Malting and brewing science**. Londres: Chapman & Hall, 1982. Vol. 2.

HSU, J. C.; HEATHERBELL, D. A. Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice and wine. **American Journal of Enology and Viticulture**. 38, p: 6-10, 1987.

KEAN, C. E.; MARSCH, J. L. Investigation of cooper complex causing cloudiness of wines II: bentonite treatment of wines. **Food Technology**. 10, p: 355-359, 1956

LABORDE, B. et. al. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54, p: 4384, 2006.

LEDOUX, V.; DULAU, L.; DUBOURDIEU, B. Intérpretation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins aus cours de é'levage sur lies. **Revue Internationale de la Vigne et Vin**. 26, p: 259-261, 1992.

LELAIT, D. **María Callas**. Buenos Aires: Libros Perfil S.A., 1998. 213p.

LE MESTE, M., COLAS, B., SIMATOS, D., CLOSS, B., COURTHAUNDON, J.L.; LORIENT, D., Contribution of protein flexibility to the foaming properties of casein. **Journal Food Science**. N° 55, 1445-1447. (1990).

LIGER-BELAIR, G., MARCHAL, R., ROBILLARD, B., DAMBROUCK, T., MAUJEAN, A., VIGNES-ADLER, M., et JEANDET, P. On the velocity of expanding spherical gas bubbles rising in line in supersaturated hydroalcoholic solutions: Application to bubble trains in carbonated beverages. **Langmuir, The American Chemical Society journal of Colloids and Surfaces**, 16, p: 1889-1895, 2000. .

LIGER-BELAIR, G., VOISIN, C., JEANDET, P., Modeling Nonclassical Heterogeneous Bubble Nucleation from Cellulose Fibers: Application to Bubbling in Carbonated Beverages, **Journal of Physical Chemistry**. 109, p: 14573-14580, 2005.

LIGER-BELAIR, G., VILLAUME, S., CILINDRE, C., JEANDET, P. CO<sub>2</sub> volume fluxes outgassing from champagne glasses: The impact of champagne ageing. **Analytica Chimica Acta**. 660, p: 29-34, 2010.

LONA, A.; **Princípios básicos da elaboração de vinhos e espumantes**. Alimentos e Tecnologia. Ano VI, n° 29, p. 66-74,1990.

LUGUERA, C., MORENO-ARRIBAS, V., PUEYO E., BARTOLOMÉ, B., POLO, M.C. Fractionation and partial characterization of protein fractions present at different stages of the production of sparkling wines. **Food Chemistry**, 63, 465-471, 1998.

MACNEIL, K. **A Bíblia do vinho**. Rio de Janeiro: Ediouro, 2003. 799p.

MAGALHÃES, P. J.; VIEIRA, J. S.; GONÇALVES, L. M.; PACHECO, J. G.; GUIDO, L. F.; BARROS, A. A. Isolation of phenolic compounds from hop extracts using polyvinylpyrrolidone: Characterization by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. 1217, p: 3258-3268, 2010.

MALVY, J.; ROBILLARD, B.; DUTEURTRE, B.; Influence des protéines sur le comportement de la mousse des vins de champagne. **Science des Aliments**. 14, p: 88-98, 1994.

MANFROI, V. **Elaboração de espumantes**. In: Curso de especialização por tutoria à distância. Vinificações especiais e subprodutos da uva e do vinho. Brasília: ABEAS; UFRGS, p: 20-24, 2000.

MAUJEAN A., POINSAUT P., DANTAN H., BRISSONET F., COSSIEZ, E., (1990), **Study of the performance and quality of the foam in sparkling wines. II. Perfecting of a measuring technique for foaming ability performance and stability of the foam in sparkling wines**. Boletim O.I.V., 63, 405-427.

MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, A. J.; CARRASCOSA, A. V.; MARTIN-ALVAREZ, P. J.; MORENO-ARRIBAS, V.; POLO, M. C. Influence of the yeast strain on the changes of the amino acids, peptides and proteins during sparkling wine production by the traditional method. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. 29, p: 314-322, 2002.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A. J.; POLO, M. C. Effect of the addition of bentonite to the tirage solution on the nitrogen composition and sensory quality of sparkling wines. **Food Chemistry**, 81, p: 383–388, 2003.

MESQUITA, P. R.; PIÇARRA-PEREIRA, M. A.; MONTEIRO, S.; LOUREIRO, V. B.; TEIXEIRA, A.; FERREIRA, R. B. Effect of wine composition on protein stability. **American Journal of Enology and Viticulture**. 52, p: 324-330, 2001.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2009**. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/prodvit2009vf.pdf>. Acesso em 24 de fevereiro de 2011.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2010**. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/prodvit2009vf.pdf>. Acesso em 26 de fevereiro de 2011.

MORETTI, R. H.; BERG, H. W.; Variability among wines to protein clouding. **American Journal of Enology and Viticulture**. 16, 18-32, 1965.

OUGH, C. **Tratado básico de Enologia**. Zaragoza. Acríbia, 1992. 294p.

PEYNAUD, E. **Enologia Practica: conocimiento y elaboración del vino**. Madrid. Ediciones Mundi-Prensa. 1989. 406p.

POCOCK, K. F.; ALEXANDER, G. M.; HAYASAKA, Y.; JONES, P. R.; WATERS, E. J.; Proteins and phenols. **Journal Agriculture and Food Chemistry**. 55, p: 1799-1807, 2007.

POERNER, N. **Composição mineral e diferenciação de vinhos-base produzidos em duas regiões do estado do Rio Grande do Sul e de Vinhos Espumantes provenientes de diferentes países**. 2009. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PÖTTER, G. H. **Efeito da desfolha e do armazenamento de cachos em câmara fria antes do esmagamento em uvas e vinhos Chardonnay e Cabernet Sauvignon da região da Campanha, RS**. 2009. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

PRIGONGINE, I. et KUNDEPUDI, D., **Thermodynamique, Des Moteurs Thermiques Aux Structures Dissipatives**, Jacob, Paris, 1999, 366pp.

PUIG-DEU, M., LÓPEZ-TAMAMES, E., BUXADERAS, S. **Quality of base and sparkling wines as influenced by the type of fining agent added pre-fermentation**. Food Chemistry, 1999.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B. **Handbook of Enology**. 2º ed. Vol 2. França. 2006b. 441 p.

RICHTER, G. T. **Nitrogênio total em pecíolo de videiras e nitrogênio amoniacal, assimilável e total em uvas e mostos**. 2008. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; ZANUZ, M. C. Composição química de alguns vinhos espumantes brasileiros. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Vol. 28, nº 1, p: 25-32, jan/jun 1994.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.; ARBAZUA, C. E.; **Elaboração de espumante na propriedade vitícola**. Bento Gonçalves, 2000. Série documentos. 45 p.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. **Determinação de acetoína e metanol em vinagres de vinho brasileiro**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Vol. 21, nº 1. 2003.

SANTOS, E.; **Processamento industrial do vinho tinto**. Disponível em: [http://www.esac.pt/noronha/pga/0708/trabalhos/Processamento\\_Industrial\\_Vinho\\_Tinto\\_PGA\\_07\\_08.pdf](http://www.esac.pt/noronha/pga/0708/trabalhos/Processamento_Industrial_Vinho_Tinto_PGA_07_08.pdf). 2007. Acesso em 28 de fevereiro de 2011.

SENÉE, J. ROBILARD, B., VIGNES-ADLER, M., Foaming of Glycoprotein Alcoholic Solution in Food Emulsions and Foams (Eds E. Dickinson and J.M. Rodriguez Patino), **Royal Society of Chemistry, Cambridge, England**. 227, p: 140-150, 1999.

SIEBERT, K. J.; STENROOS, L. E.; REID, D. S. Characterization of amorphous-particles haze. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**. 39, p: 1-11, 1981.

SIEBERT, K. J. Haze formation in beverages. **Swiss Society Food Science and Technology/ LWT**. 39, p: 987-994, 2006.

SILVA, H. R.; **Vitivinicultura: Retrospectiva histórica da trajetória da uva e do vinho no Rio Grande do Sul**. 2008. 42f. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso – Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

SOMERS, T.C.; ZIEMELIS, G. Direct determination of wine proteins. **American Journal of Enology and Viticulture**. 24, p: 47-50, 1973.

SOUSA, S. I. **Espumante: o prazer é todo seu**. São Paulo: Marco Zero, 2005. 165p.

STEFENON, C. A.; COLOMBO, M.; BONESI, C. M.; MARZAROTTO, V.; VANDERLINDE, R.; SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. Antioxidant activity of sparkling wines produced by Champenoise and Charmat methods. **Food Chemistry**. 119, p: 12-18, 2010.

STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C.; SCHNEIDER, P.; GIASSON, E.; PINTO, L. F. S. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2º Ed. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2008.

SUN, X.; LI, C., WU, Z., XU, X., REN, L., ZHAO, H. Adsorption of Protein from Model Wine Solution by Different Bentonites. **Chinese Journal Chemical and Engineering** . N° 15. p. 632-638. 2007.

TEDESCO, M. J. **Extração simultânea de nitrogênio , fósforo, potássio, cálcio e magnésio em tecido de plantas por digestão  $H_2O_2 - H_2SO_4$**  . Porto Alegre. Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS. 1982. 23p. (Informativo interno, p. 1-82).

TOOD, B. E. N.; FLEET, G. H.; HENSCHKE, P. A. Promotion of autolysis through the interaction of killer and sensitive yeasts: potential application in sparkling wine production. **American Journal of Enology and Viticulture**. 51, p: 65-72, 2000.

TONIETTO, J.; **Existe “o espumante brasileiro”?** Artigos técnicos. Disponível [http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/existe\\_espumante\\_brasileiro.pdf](http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/existe_espumante_brasileiro.pdf). Acesso em 20 de fevereiro de 2011.

TONIETTO, J.; MANDELLI, F. Uvas viníferas para processamento em Regiões de clima temperado – Clima. *Sistemas de Produção*, 4 ISSN 1678-8761. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2003. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/uvasviniferasregioesclimatemperado/clima.htm>. Acesso em 24 de fevereiro de 2011.

VANRELL, G.; ESTERUELAS, M.; CANALS, J. M.; ZAMORA, F. Influence Du type de clarification Du vin de base et des adjuvants de tirage sur la qualité de la mousse des vins effervescents. **Revue des Oenologues**. 114, p: 28-30, 2005.

VANRELL, G.; CANALS, R.; ESTERUELAS, M.; FORT, F.; CANALS, J. M.; ZAMORA, F. Influence of the use of the bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wines (Cava). **Food Chemistry**. 104, p:148-155, 2007.

WILT, P. M., Nucleation Rates and Bubble Stability in Water-Carbon Dioxide Solutions, **Journal of Colloid and Interface Science**. 112, p: 530-538, 1986.

WINKLER, A. J.; COOK, J. A.; KLIEWER, W. N. **General Viticulture**. Berkeley: University of California Press, 1974. 710p.

YOKOI, S., MAEDA, K., XIAO, R., KAMADA, K., KAMIMURA, M., **Characterization of beer proteins responsible for the foam of beer**. E.B.C . Congress, 593-600. 1989.

ZOECKLEIN, B. W. et. al. **Análisis y producción de vino**. Zaragoza. Acribia. 2001. 613 p.