



**POLITÉCNICO DE COIMBRA**  
**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**

Relatório de Estágio Profissionalizante

**PRODUÇÃO DE VINHO ESPUMANTE BRANCO NA  
BAIRRADA: ENQUADRAMENTO LEGAL E  
PROCESSOS TECNOLÓGICOS ATUAIS**

**Anabela Sofia de Sousa Estanqueiro**

Mestrado em Engenharia Alimentar

Coimbra, 2015



**POLITÉCNICO DE COIMBRA**  
**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**

Relatório de Estágio Profissionalizante

**PRODUÇÃO DE VINHO ESPUMANTE BRANCO NA  
BAIRRADA: ENQUADRAMENTO LEGAL E  
PROCESSOS TECNOLÓGICOS ATUAIS**

**Anabela Sofia de Sousa Estanqueiro**

Orientador: Doutora Goreti Botelho

Co-orientador: Mestre Dora Pedro

Local de Estágio: Factor Alimentar – Consultadoria e Segurança Alimentar, Lda.

Coimbra, 2015

Este relatório de Estágio Profissionalizante foi elaborado expressamente para a obtenção de grau de Mestre de acordo com o despacho nº 2032/2014 de 7 de fevereiro de 2014, referente ao Regulamento de Ciclo de Estudos conducente à obtenção do grau de Mestre do Instituto Politécnico de Coimbra.

## Resumo

Este trabalho refere-se à elaboração de vinho espumante branco na região da Bairrada. Devido à dificuldade em encontrar bibliografia com informação tão completa quanto necessária para a compreensão da produção deste tipo de vinho, este trabalho procura reunir os pontos principais da produção de vinho espumante juntamente com o seu enquadramento legal atual. São descritos os métodos de produção de vinho espumante em Portugal, o método charmat ou cuba fechada e o método tradicional ou champanhês, dando-se mais ênfase a este último por ser o mais utilizado. Assim, o objetivo principal deste trabalho centra-se na compilação da informação mais pertinente na elaboração de vinho espumante em Portugal e, em particular, na região da Bairrada, dando-lhe assim o devido reconhecimento, não deixando de abordar também aspetos relevantes deste tema a nível mundial. Os objetivos específicos passam por relacionar toda a informação descrita na literatura com a legislação em vigor adequada a todas as etapas do processo e complementando com a mais recente investigação e as mais recentes inovações tecnológicas. Desta forma, o presente relatório reúne dados estatísticos, descrição de métodos de produção, evidencia o controlo analítico a realizar, com base legal, quer ao vinho de base para espumante, quer ao vinho espumante enquanto produto acabado.

**Palavras-chave:** Vinho espumante branco; processos tecnológicos; método charmat; método tradicional; Bairrada; legislação.

## **Abstract**

This work refers to the elaboration of the white sparkling wine in the Bairrada region. Due to the difficulty of finding bibliography with necessary and complete information for the comprehension of producing this type of wine, this work tries to put together the main points of the sparkling wine production together with its fitting legal up-to-date. The production methods of the sparkling wine in Portugal are described as the charmat method or pressurized tank and the traditional method or fermenting in the bottle, giving more emphasis to the last one due to being more used. Therefore, the main object of this work concentrates on the compilation of the more pertinent information in elaborating the sparkling wine in Portugal and, in particular, the Bairrada region, showing the due recognition, as well as approaching also relevant aspects regarding this at a worldwide level. The specific objectives pass by relating all information described in literature with current legislation adequate to all phases of the process and finishing with the most recent investigation as well as the recent, innovating technologies. This way, the present report unites the given statistics, describing the methods of production, shows the analytical control to be done, with a legal basis regarding the basic wine for the sparkling wine as well as the sparkling wine as a finished product.

**Keywords:** white sparkling wine; technological processes; charmat method; traditional method; Bairrada; legislation.

## **Agradecimentos**

Este trabalho não ficaria completo sem agradecer a todos os que me ajudaram a concretizá-lo.

À Mestre Dora pela orientação, paciência, dedicação, ensino, formação e simpatia.

À Doutora Goreti pelo apoio, orientação e disponibilidade.

Ao meu irmão pela atenção, amizade, carinho e força dadas.

Aos meus amigos pela presença constante, incentivo, carinho e simpatia.

A todos os professores em geral que me deram a base para continuar o meu crescimento científico e profissional.

**Muito Obrigada.**

# Índice

Resumo .....	I
Abstract .....	II
Agradecimentos .....	III
Índice .....	IV
Índice de figuras .....	VI
Índice de tabelas .....	VII
Lista de siglas e abreviaturas .....	VIII
I. Introdução.....	1
II. Dados estatísticos .....	3
2.1 Os vinhos efervescentes no mundo .....	3
2.2 Portugal – exportações e importações de vinhos efervescentes .....	5
III. Produção de vinho espumante na Bairrada.....	7
3.1 A Comissão Vitivinícola da Bairrada.....	10
3.2 Principais castas .....	11
IV. Métodos de produção.....	13
4.1 Método charmat ou cuba fechada .....	14
4.2 Descrição das etapas do fluxograma .....	15
4.3 Método tradicional ou champanhês.....	16
4.3.1 Descrição do fluxograma de produção de vinho espumante pelo método tradicional .....	18
4.3.1.1 Etapa 1 - Lotação do vinho de base .....	18
4.3.1.1.1 Vinho de base .....	19
4.3.1.1.2 Tratamentos enológicos ao vinho de base .....	19
4.3.1.1.3 Estabilização proteica do vinho de base.....	20
4.3.1.1.4 Estabilização tartárica do vinho de base .....	21
4.3.1.1.5 Dióxido de enxofre (SO <sub>2</sub> ).....	22
4.3.1.1.5.1 Inovação: substituição de dióxido de enxofre na produção de vinho espumante .....	22
4.3.2 Etapa 2 - Filtração do vinho de base .....	23
4.3.3 Etapa 3 – Engarrafamento do vinho espumante .....	24
4.3.3.1 Licor de tiragem.....	24
4.3.3.2 A levedura adicionada ao vinho de base .....	24

4.3.3.2.1	Inovação: leveduras encapsuladas .....	26
4.3.3.2.1.1	O alginato de cálcio - Imobilização de leveduras .....	28
4.3.3.3	O açúcar no licor de tiragem .....	30
4.3.3.4	Substâncias azotadas .....	31
4.3.3.5	A mistura do vinho de base com o licor .....	32
4.3.3.6	Garrafas usadas na produção de vinho espumante .....	33
4.3.3.7	Obturador plástico (bidule) e cápsula coroa .....	33
4.3.4	Etapa 4 – A segunda fermentação.....	34
4.3.5	Etapa 5 – Estágio sobre borras.....	36
4.3.5.1	Autólise das leveduras durante o estágio .....	37
4.3.5.1.1	Os diferentes compostos libertados e sua influência no vinho espumante .....	39
4.3.5.1.2	Sobrepressão em vinhos.....	41
4.3.6	Etapa 6 - <i>Dégorgement</i> do vinho espumante.....	44
4.3.6.1	Inovação: alternativa ao monopropilenoglicol .....	45
4.3.7	Etapa 7 – Mistura do vinho com o licor de expedição .....	46
4.3.7.1	O licor de expedição .....	46
4.3.7.2	O açúcar no licor de expedição.....	46
4.3.8	Etapa 8 – Rolhagem .....	47
4.3.9	Etapa 9 - Rotulagem.....	49
4.3.10	Etapa 10 – Acondicionamento, armazenamento e expedição do vinho espumante.....	50
V.	Controlo analítico do vinho de base.....	51
VI.	Controlo analítico do vinho espumante .....	52
VII.	Conclusões .....	53
	Referências Bibliográficas .....	54

## Índice de figuras

Figura 1 - Área geográfica de produção da IG “Beira Atlântico” .....	8
Figura 2 - Área geográfica de produção da DO “Bairrada” .....	9
Figura 3 - (a) - Uva Bical; (b) - Uva Arinto; (c) - Uva Cercial.....	12
Figura 4 - (a) - Uva Chardonnay; (b) – Uva Fernão Pires; (c) - Uva Rabo de Ovelha.....	12
Figura 5 – Fluxograma de elaboração de vinho espumante pelo método Charmat.....	14
Figura 6 - Fluxograma de elaboração de vinho espumante pelo método clássico.....	17
Figura 7 - Processo produtivo de vinho espumante pelo método de leveduras livres.....	25
Figura 8 - Processo produtivo de vinho espumante pelo método de leveduras imobilizadas.....	26
Figura 9 - Vinho espumante com leveduras encapsuladas .....	27
Figura 10 - Leveduras imobilizadas secas .....	27
Figura 11 - Gelificação ionotrópica – Molécula de ácidos $\alpha$ -L-gulurónico e $\beta$ -D-manurónico com catião divalente $\text{Ca}^{2+}$ .....	29
Figura 12 - Processo de imobilização de leveduras em alginato.....	29
Figura 13 - Garrafa de vinho espumante.....	33
Figura 14 - Bidule .....	33
Figura 15 – Cápsula coroa.....	33
Figura 16 – Equação da conversão de açúcares em etanol e dióxido de carbono.....	34
Figura 17 - Aspeto do vinho espumante após 1 semana de fermentação.....	35
Figura 18 – Principais alterações durante a produção de Vinhos Espumante.....	35
Figura 19 – Representação esquemática das alterações morfológicas e bioquímicas da autólise da levedura na produção de vinho espumante. ....	37
Figura 20 - Libertação de gás num copo de vinho espumante .....	43
Figura 21 – Equipamento para “ <i>dégorgement</i> ”.....	44
Figura 22 - Garrafa de vinho espumante com leveduras encapsuladas.....	44
Figura 23 - Ecobac®.....	45
Figura 24 - Rolha de cortiça técnica para vinho espumante com 2 discos.....	47
Figura 25 - Gargalo de garrafa com muselet.....	48

## Índice de tabelas

Tabela 1 - Principais países consumidores de vinhos efervescentes .....	4
Tabela 2 – Evolução em hL das exportações de vinho espumantes e espumosos 2010 – 2014.....	5
Tabela 3 - Evolução em hL das importações de vinho espumantes e espumosos 2010 – 2014.....	5
Tabela 4 – Evolução do preço médio (€/L) das Importações e exportações de Vinho espumantes e Espumosos 2010 – 2014 .....	6
Tabela 5 – Evolução das exportações de vinhos efervescentes no período de janeiro a junho 2015 vs. período homólogo 2014.....	6
Tabela 6 - Métodos de produção de vinho espumante .....	13
Tabela 7 - Lista de menções tradicionais .....	36
Tabela 8 - Origem dos diferentes compostos libertados durante a autólise de leveduras e o seu potencial impacto no vinho espumante.....	38
Tabela 9 - Denominação da categoria do produto vitivinícola .....	41
Tabela 10 - Relação entre a sobrepressão, P <sub>ap</sub> 20 , de um vinho frisante ou espumante a 20 °C e a sobrepressão .....	42
Tabela 11 - Indicação do teor de açúcares.....	46
Tabela 12 – Valores de Referência para análise de vinho de base para espumante.....	51
Tabela 13 – Valores de Referência para análise de vinho de base para espumante.....	52

## **Lista de siglas e abreviaturas**

ADC – Autoridade da Concorrência

APCOR – Associação Portuguesa da Cortiça

Ca<sup>2+</sup> - Tartarato de cálcio

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

CVB – Comissão Vitivinícola da Bairrada

DO – Denominação de Origem

DRAPC - Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro

EVB – Estação Vitivinícola da Bairrada

IG – Indicação geográfica

IVV – Instituto da Vinha e do Vinho

K<sup>+</sup> - Tartarato de Potássio

OIV – *International Organization of Vine and Wine* (Organização internacional da vinha e do vinho)

SO<sub>2</sub> – Dióxido de enxofre

VEQ – Vinho espumante de qualidade

## I. Introdução

Este trabalho foi realizado no âmbito da Unidade Curricular de Estágio Profissionalizante do Mestrado em Engenharia Alimentar da Escola Superior Agrária de Coimbra que decorreu de dois de janeiro a trinta de julho de 2015.

Portugal apresenta uma grande diversidade de vinhos, variando consoante as regiões onde são produzidos e as castas utilizadas. Neste sentido verificou-se uma necessidade de compreensão de todos os processos de realização, mais especificamente os processos associados à produção de vinhos espumantes brancos na região da Bairrada. A pouca informação encontrada levou a alguma pesquisa bibliográfica e compilação das informações mais pertinentes e que mostram de que forma é produzido o vinho espumante.

O objetivo principal deste trabalho focou-se na compilação das informações mais pertinentes na elaboração de vinho espumante em Portugal, dando-lhe assim o devido reconhecimento, não deixando de abordar também aspetos relevantes deste tema a nível mundial.

Os objetivos específicos passam por relacionar toda a informação encontrada com a legislação em vigor adequada a todas as etapas do processo e complementando com a mais recente investigação e as mais recentes inovações.

Em Portugal é produzido vinho espumante branco, tinto e rosé, no entanto neste trabalho apenas se foca o vinho espumante branco, os tratamentos enológicos são ligeiramente diferentes nos tintos, bem como as características sensoriais e químicas do produto final.

É importante salientar que existem diferentes categorias de vinhos efervescentes, classificando-se, entre outros, pela sobrepressão presente no vinho. O dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) pode advir naturalmente e na sua totalidade de uma segunda fermentação ou ser parcialmente adicionado.

O presente trabalho está organizado em oito capítulos organizados onde se pretende, clarificar todos os processos relativos ao tema, elaborando por isso em cada capítulo subtemas, por forma a abordar toda a temática de forma tão pormenorizada quanto possível.

No capítulo I é feita uma introdução ao tema. O capítulo II aborda os dados estatísticos mais relevantes não só em Portugal, mas no mundo. O capítulo III foca essencialmente a produção de vinho espumante na Bairrada. O capítulo IV descreve os dois métodos de produção mais usados em Portugal, o método charmat ou em cuba fechada e o método tradicional ou champanhês. Uma vez que este último é o método de produção mais usado em Portugal, deu-se-lhe especial atenção descrevendo este processo de forma mais

detalhada. Os capítulos V e VI referem os principais controlos analíticos a realizar quer ao vinho de base para espumante, quer ao vinho espumante produto acabado. O processo de produção de vinho espumante exige acompanhamento em todas as etapas desde o loteamento do vinho de base até ao atesto para acabamento, para obtenção de um bom resultado. O capítulo VII é a conclusão do tema.

Este trabalho foi desenvolvido maioritariamente com base na bibliografia existente, não só em Portugal, mas nos países produtores de vinhos espumantes e com base na legislação existente e que regula a sua produção.

## II. Dados estatísticos

### 2.1 Os vinhos efervescentes no mundo

Os dados publicados focam todo o tipo de vinhos efervescentes, independentemente do processo produtivo (em cuba-fechada ou em garrafa), da gama de pressão (acima de 1 bar), e da origem do CO<sub>2</sub> (endógeno ou exógeno) (OIV, 2014).

Dados publicados pela OIV em 2014, denotam um crescimento do mercado de vinhos efervescentes, verificando-se uma alteração nos padrões de consumo. Habitualmente consumidos em épocas festivas como a passagem de ano, tem-se vindo a verificar cada vez mais um aumento do seu consumo, estando este associado a todo o tipo de celebrações, aniversários, casamentos e outros. No entanto presentemente verifica-se também regularmente o seu uso frequente em aperitivos, cocktails e outras bebidas (ex.<sup>o</sup> sangria).

A produção aumentou cerca de 40% em 10 anos; e os países europeus são líderes neste segmento de mercado comparativamente com o resto do mundo. Em 2013 apenas 4 países da Europa (França-20%; Itália-18%; Alemanha-15% e Espanha-10%) produziam 63% da produção de vinhos efervescentes no mundo. No mesmo período verificou-se um aumento da produção na Austrália, nos Estados Unidos, Brasil e Argentina (OIV, 2014).

O consumo mundial de vinho aumentou 4% nos últimos 10 anos, verificou-se um aumento de 30% nos vinhos efervescentes (o que representa 6% do total de consumo de vinho) (OIV, 2014).

Na China tem-se verificado também um aumento do consumo, atualmente este é o 5<sup>o</sup> país que mais importa no mundo (OIV, 2014).

A tabela 1 mostra os principais países consumidores de vinhos efervescentes no mundo.

Tabela 1 - Principais países consumidores de vinhos efervescentes

<b>1000hL</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>△ 2013/ 2003</b>
<b>Alemanha</b>	3134	2992	2838	3090	3047	2922	2820	2924	2813	3251	3052	-3%
<b>França</b>	1509	3220	3364	3589	3429	3458	2457	2120	2446	1403	2084	38%
<b>Rússia</b>	967	1363	1556	1626	2307	2271	2113	2509	2553	2363	2084	115%
<b>Estados Unidos</b>	1090	1166	1173	1222	1243	1209	1251	1386	1566	1593	1650	51%
<b>Itália</b>	1886	2576	2502	2422	1428	1226	1284	1288	1311	1078	1219	-35%
<b>Reino Unido</b>	641	670	713	936	756	740	664	765	936	809	815	27%
<b>Austrália</b>	348	383	437	457	485	490	461	503	449	459	495	42%
<b>Bélgica</b>	156	185	196	215	217	178	283	338	357	417	458	194%
<b>Espanha</b>	375	285	269	157	328	318	339	460	375	368	319	-15%
<b>Suíça</b>	128	127	132	133	149	144	153	161	168	175	174	37%
<b>Holanda</b>	70	61	77	96	109	96	92	85	94	91	84	20%
<b>Portugal</b>	57	60	70	71	76	79	71	85	44	68	75	31%

(Adaptado de OIV, 2014)

Portugal tem aumentado o seu consumo de vinhos efervescentes nos últimos 10 anos, tendo tido um crescimento de 31%.

## 2.2 Portugal – exportações e importações de vinhos efervescentes

De acordo com dados do IVV, é possível observar nas tabelas 2 e 3 a evolução das exportações e importações no período 2010-2014.

É possível observar um decréscimo quer na quantidade exportada quer na quantidade importada. Verifica-se que, comparativamente ao ano de 2010, em 2014 houve um aumento do volume exportado e uma redução das importações, o que representa boas notícias para a exportação de vinho espumante.

Tabela 2 – Evolução em hL das exportações de vinho espumantes e espumosos 2010 – 2014

Destino	Volume (hL)					$\Delta$ 2014 / 2013
	jan. – dez.					
	2010	2011	2012	2013	2014	hL
<b>Europa Comunitária</b>	7.005	31.578	13.357	12.126	6.622	-45,4%
<b>Países Terceiros</b>	8.542	10.868	14.747	14.834	11.466	-22,7%
<b>Total</b>	<b>15.546</b>	<b>42.446</b>	<b>28.103</b>	<b>26.960</b>	<b>18.087</b>	<b>-32,9%</b>

Adaptada de IVV, 2014

Tabela 3 - Evolução em hL das importações de vinho espumantes e espumosos 2010 – 2014

Origem	Volume (hL)					$\Delta$ 2014 / 2013
	jan. – dez.					
	2010	2011	2012	2013	2014	hL
<b>Europa Comunitária</b>	71.942	62.124	58.551	51.185	48.774	-4,7%
<b>Países Terceiros</b>	59	6	2	13	166	1133,4%
<b>Total</b>	<b>72.001</b>	<b>62.130</b>	<b>58.554</b>	<b>51.198</b>	<b>48.940</b>	<b>-4,4%</b>

Adaptada de IVV, 2014

Na tabela 4 é possível verificar a evolução do preço médio. Em 2014 verificou-se que o preço médio das exportações aumentou 178,4% no espaço europeu.

Tabela 4 – Evolução do preço médio (€/L) das Importações e exportações de Vinho espumantes e Espumosos 2010 – 2014

Destino	Exportações (€/L)					Δ	Importações (€/L)					Δ
	jan. – dez.					2014 /2013	jan. – dez.					2014 /2013
	2010	2011	2012	2013	2014	%	2010	2011	2012	2013	2014	%
<b>Europa Comunitária</b>	3,65	1,66	2,88	2,10	5,86	178,4%	2,99	3,42	3,70	4,07	4,28	5,0%
<b>Países Terceiros</b>	6,07	6,35	6,41	5,58	7,85	40,7%	3,28	5,79	40,43	26,84	3,08	-88,5%
<b>Total</b>	<b>4,98</b>	<b>2,86</b>	<b>4,73</b>	<b>4,01</b>	<b>7,12</b>	<b>77,3%</b>	<b>2,99</b>	<b>3,42</b>	<b>3,70</b>	<b>4,08</b>	<b>4,27</b>	<b>4,7%</b>

Adaptada de IVV 2014

Na tabela 5 é possível observar a evolução no primeiro semestre de 2015, e apesar de se verificar um decréscimo da quantidade exportada, o aumento de preços mantém-se.

Tabela 5 – Evolução das exportações de vinhos efervescentes no período de janeiro a junho 2015 vs. período homólogo 2014

Destino	Volume (hL)		Δ	Preço Médio (€/L)		Δ
	jan. – jun.		2015 / 2014	jan. – jun.		2015/2014
	2014	2015	%	2014	2015	%
<b>Europa Comunitária</b>	2.476	2.047	-17,3%	4,48	10,80	140,8%
<b>Países Terceiros</b>	3.820	3.256	-14,8%	4,06	4,61	13,4%
<b>Total</b>	<b>6.296</b>	<b>5.303</b>	<b>-15,8%</b>	<b>4,23</b>	<b>7,00</b>	<b>65,5%</b>

Adaptada de IVV 2015

### III. Produção de vinho espumante na Bairrada

Uma vez que este trabalho está direcionado apenas para a realização de vinho espumante numa determinada região - a Bairrada, é importante fazer um enquadramento legal.

De acordo com o nº 5 do anexo III do Regulamento (CE) N.º 491/2009, entende-se por vinho espumante de qualidade (VEQ) o produto que é obtido por primeira ou segunda fermentação alcoólica de uvas frescas, de mosto de uvas, ou de vinho, que liberta, quando se procede à abertura do recipiente, dióxido de carbono proveniente exclusivamente da fermentação e que apresenta, quando conservado à temperatura de 20°C em recipientes fechados, uma sobrepressão, devida ao dióxido de carbono em solução, igual ou superior a 3,5 bar.

Para enquadrar a organização do sector vitivinícola, o Decreto-Lei Nº 212/2004 vem definir o reconhecimento e proteção das denominações de origem e indicações geográficas, definindo como:

- a) “Denominação de origem (DO)”- o nome geográfico de uma região ou de um local determinado, ou uma denominação tradicional, associada a uma origem geográfica ou não, que serve para designar ou identificar um produto vitivinícola originário de uvas provenientes dessa região ou desse local determinado e cuja qualidade ou características se devem, essencial ou exclusivamente, ao meio geográfico, incluindo os fatores naturais e humanos, e cuja vinificação e elaboração ocorrem no interior daquela área ou região geográfica delimitada;
- b) “Indicação geográfica (IG)”- o nome do país ou de uma região ou de um local determinado, ou uma denominação tradicional, associada a uma origem geográfica ou não, que serve para designar ou identificar um produto vitivinícola originário de uvas daí provenientes em pelo menos 85%, no caso de região ou de local determinado, cuja reputação, determinada qualidade ou outra característica podem ser atribuídas a essa origem geográfica e cuja vinificação ocorra no interior daquela área ou região geográfica delimitada;

A Portaria Nº 238-A/2011 de 16 de Junho vem regulamentar a designação de indicação geográfica “Beira Atlântico”.

Esta área geográfica de produção da IG “Beira Atlântico”, conforme mostra a figura 1, integra e abrange:

- a) O distrito de Aveiro: com exceção dos municípios de Arouca, Castelo de Paiva e Vale de Cambra e a freguesia de Ossela, do município de Oliveira de Azeméis;

b) O distrito de Coimbra: com exceção dos municípios de Arganil, Oliveira do Hospital e Tábua;

c) O distrito de Leiria: os municípios de Alvaiázere, Ansião, Castanheira de Pêra, Figueiró dos Vinhos, Pedrógão Grande e Pombal (freguesias de Abiul, Pelariga, Redinha e Vila Cã).



Figura 1 - Área geográfica de produção da IG "Beira Atlântico"

Fonte: Portaria N.º 238-A/2011

Esta portaria define também quais os tipos de solos onde poderão ser instaladas as vinhas, as castas, as práticas culturais e o processo de vinificação.

A portaria nº 212/2014 vem definir a área geográfica de produção da DO "Bairrada" como mostra a figura 2 e que abrange os seguintes concelhos:

a) Os municípios de Anadia, Mealhada e Oliveira do Bairro;

b) Do município de Águeda, a União das freguesias de Recardães e Espinhel, a União das freguesias de Águeda e Borralha, a União das freguesias de Barrô e Aguada de Baixo, da União das freguesias de Travassô e Óis da Ribeira, apenas a freguesia de Óis da Ribeira, da União das freguesias de Belazaima do Chão,

Castanheira do Vouga e Agadão, apenas a freguesia de Belazaima do Chão, e as freguesias de Aguada de Cima, Fermentelos e Valongo do Vouga;

c) Do município de Aveiro, da União das freguesias de Requeixo, Nossa Senhora de Fátima e Nariz, apenas a freguesia de Nariz;

d) Do município de Cantanhede, a União das freguesias de Sepins e Bolho, a União das freguesias de Vilamar e Corticeiro de Cima, a União das freguesias de Covões e Camarneira, a União das freguesias de Portunhos e Outil, a União das freguesias de Cantanhede e Pocariça, e as freguesias de Ançã, Cadima, Cordinhã, Febres, Murtede, Ourentã, Sanguinheira e São Caetano;

e) Do município de Coimbra, a União das freguesias de Souselas e Botão, a União das freguesias de Trouxemil e Torre de Vilela, da União das freguesias de Antuzede e Vil de Matos, apenas a freguesia de Vil de Matos;

f) Do município de Vagos, da União das freguesias de Fonte de Angeão e Covão do Lobo, apenas a freguesia de Covão do Lobo, da União das freguesias de Ponte de Vagos e Santa Catarina, apenas a freguesia de Santa Catarina, e as freguesias de Ouca e Sosa.

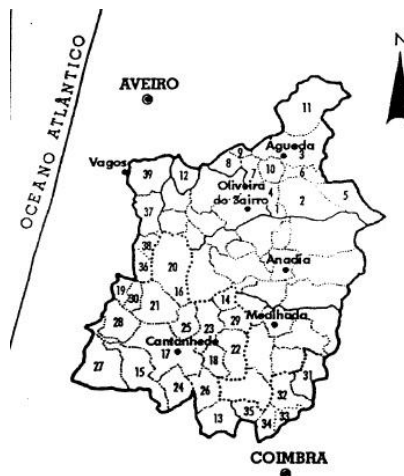


Figura 2 - Área geográfica de produção da DO "Bairrada"

Fonte: Decreto-Lei N.º 301/2003

A mesma portaria refere que na preparação dos vinhos espumantes com direito à DO Bairrada, o método tecnológico a utilizar é o de fermentação clássica em garrafa, com observação do disposto na legislação em vigor.

A Portaria nº 193/2012 de 19 de Junho designa a Comissão Vitivinícola da Bairrada (CVB) como entidade certificadora para exercer funções de controlo da produção e comércio e de certificação dos produtos vitivinícolas com direito à DO "Bairrada" e IG "Beira Atlântico".

### **3.1 A Comissão Vitivinícola da Bairrada**

Para que seja possível produzir e comercializar produtos vitivinícolas controlados com as designações DO “Bairrada” e IG “Beira Atlântico” os operadores do sector vitivinícola têm que estar inscritos na CVB e cumprir com os requisitos exigidos por esta (CVB, 2013).

É possível na CVB efetivar a inscrição não só destes agentes económicos, como das instalações de produção, armazenagem e pré-embalagem, e das vinhas. Efetua também certificação de produtos v\u00ednicos aptos a estas designações, realiza an\u00e1lise f\u00edsico-qu\u00edmica e sensorial com fins, n\u00e3o s\u00f3 de certifica\u00e7\u00e3o mas tamb\u00e9m, para exporta\u00e7\u00e3o e verifica\u00e7\u00e3o. Adicionalmente, aprova o engarrafamento de espumantes, circula\u00e7\u00e3o de produtos e controlo de conta-corrente. A aprecia\u00e7\u00e3o e aprova\u00e7\u00e3o de rotulagem e selos de garantia de certifica\u00e7\u00e3o tamb\u00e9m s\u00e3o da sua responsabilidade. Por fim, realiza tamb\u00e9m fiscaliza\u00e7\u00e3o e controlo, acompanhamento de reclama\u00e7\u00f5es externas efetuadas a agentes econ\u00f3micos e cobran\u00e7a de taxas (CVB, 2013).

### 3.2 Principais castas

A seleção das castas para a produção de vinho é de elevada importância, dado que cada uva tem as suas próprias características sensoriais. Difícilmente um único vinho, de uma única colheita, ou da mesma variedade de uva proporciona o equilíbrio perfeito entre sabor, nível de açúcar e acidez necessárias para realizar um bom vinho espumante, assim, muitas vezes os produtores de vinho efetuam a mistura de diferentes vinhos (Liger-Belair *et al.*, 2012).

O Artigo 5.º da Portaria nº 238-A/2011, refere que na elaboração dos vinhos, vinhos espumantes e vinhos frisantes com direito à IG “Beira Atlântico” devem ser obtidos a partir de determinadas castas. A Portaria nº 335/2015 vem atualizar algumas normas técnicas, nomeadamente no que se refere à data de colheita e à lista de castas e sua especificidade, de modo a que os produtos com direito à DO “Bairrada” mantenham a sua qualidade e características.

Nomeadamente as principais castas brancas utilizadas nesta região e previstas em ambas as portarias são: Arinto, Bical, Cercial, Chardonnay, Fernão Pires e Rabo de Ovelha, estas vão conferir determinadas características sensoriais inigualáveis ao produto final.

Os vinhos produzidos com a casta Bical (Figura 3a) são muito aromáticos, frescos e bem estruturados. Na Bairrada a casta Bical é muito utilizada na produção de vinho espumante (CVB, 2009).

Os vinhos produzidos pela casta Arinto (Figura 3b) atingem facilmente um teor alcoólico de 11 a 12 graus e uma boa acidez fixa. É deste perfeito equilíbrio entre o álcool e a acidez por um lado e os aromas primários intensamente frutados e citrinos por outro, que faz com que os vinhos desta casta se distingam dos restantes. Os vinhos desta casta em particular apresentam um grande potencial de envelhecimento, verificando uma evolução interessante no seu primeiro ano de vida, conservando essa complexidade aromática durante dois ou três anos, o que muito os caracteriza e lhes confere a sua individualidade. Os vinhos evidenciam características aromáticas particulares sendo muito finos e medianamente intensos; quanto ao sabor são frescos, vivos e persistentes (CVB, 2009).

As principais características das variedades da Cercial (Figura 3c) são a elevada produção e boa acidez. Os vinhos monovarietais desta casta são geralmente um pouco desequilibrados, por isso é costume lotar a Cercial com outras castas como a Bical, Fernão Pires ou Malvasia Fina. Nestes vinhos, a característica herdada da Cercial são a acidez elevada e os aromas delicados (CVB, 2009).

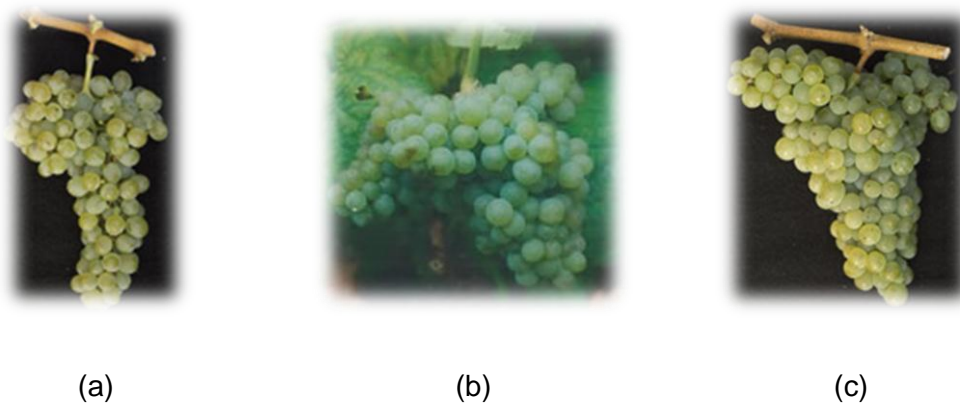


Figura 3 - (a) - Uva Bical; (b) - Uva Arinto; (c) - Uva Cercial

Adaptado de CVB, 2009

A casta Chardonnay (Figura 4a) é uma casta fácil de cultivar, em termos de produtividade e de rendimento económico. O mosto resultante desta casta adquire muitas das características do "terroir" onde é plantada e do tipo de maturação a que é sujeito (CVB, 2009).

A Fernão Pires (Figura 4b) é uma das castas brancas mais plantadas em Portugal. Esta casta possui um bom teor alcoólico e uma acidez baixa ou média, por isso os vinhos produzidos ou misturados com esta casta têm como característica intensos aromas florais (CVB, 2009).

As principais qualidades da casta Rabo de Ovelha (Figura 4c) nos vinhos são o alto teor alcoólico, boa longevidade e elevada acidez. Os vinhos que incluem esta casta na sua composição caracterizam-se por apresentar aromas discretos, com notas florais, vegetais e até minerais (CVB, 2009).

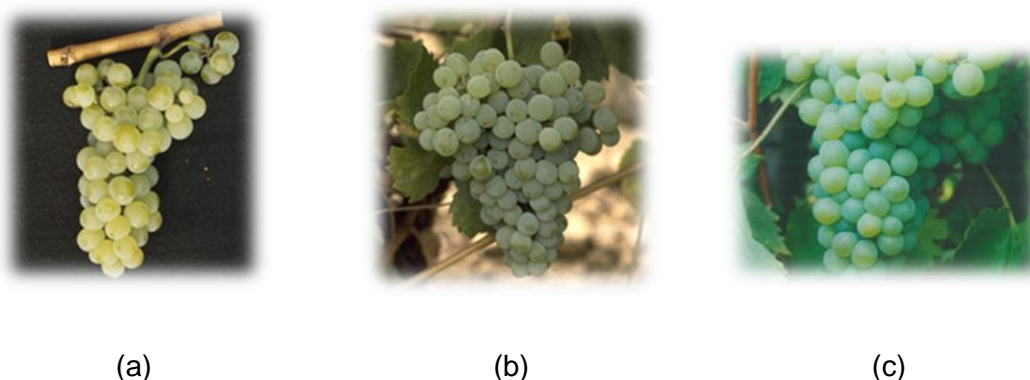


Figura 4 - (a) - Uva Chardonnay; (b) – Uva Fernão Pires; (c) - Uva Rabo de Ovelha

Adaptado de CVB, 2009

#### IV. Métodos de produção

Em Portugal a segunda fermentação para produção de vinho espumante, de acordo com o nº 10 do anexo II do Regulamento (CE) N° 606/2009, só pode efetuar-se em cuba fechada ou em garrafa.

Na tabela 6 encontram-se resumidos estes modos de produção e de que forma é feita a remoção do sedimento.

Tabela 6 - Métodos de produção de vinho espumante

	<b>Fermentação Secundária</b>	<b>Remoção do sedimento</b>
<b>Método tradicional ou método champanês</b>	Em garrafa	<i>Remuage e Dégorgement</i>
<b>Método charmat ou cuba fechada</b>	Em cuba	Filtração

## 4.1 Método charmat ou cuba fechada

O método charmat ou em cuba fechada, caracteriza-se pela realização da segunda fermentação em cuba fechada, em aço inoxidável, resistente à pressão. As cubas são equipadas com controlo de temperatura e possuem um agitador interno (Simonaggio e Lehn, 2014).

A figura 5 mostra o fluxograma de fabrico por este método.

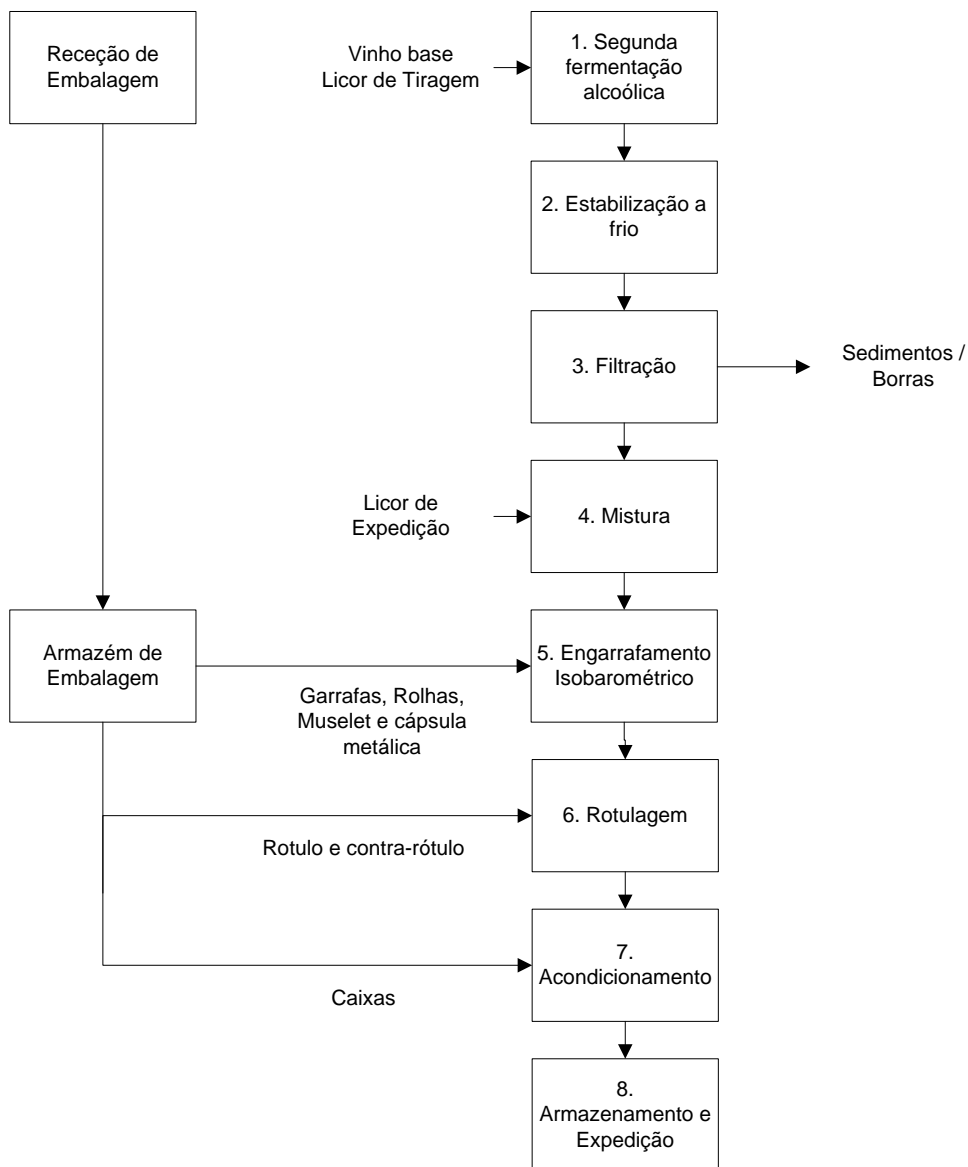


Figura 5 – Fluxograma de elaboração de vinho espumante pelo método Charmat.

(Adaptado de Simonaggio e Lehn, 2014)

## 4.2 Descrição das etapas do fluxograma

**Etapa 1** - O licor de tiragem é adicionado à cuba, já contendo o vinho de base e por meio do agitador a mistura é homogeneizada. Para favorecer a segunda fermentação e o crescimento levuriano, alguns produtores optam por adicionar ativadores de fermentação (Simonaggio e Lehn, 2014).

**Etapa 2** - Manter a temperatura mais baixa durante a segunda fermentação resulta num produto final mais frutado e com borbulhas finas. Esta etapa varia entre 20 a 30 dias (Simonaggio e Lehn, 2014).

**Etapa 3** - Decorrido o tempo de fermentação, o vinho espumante está pronto para filtração onde ocorre remoção do depósito. Porém, ultimamente, tem-se adotado o método chamado charmat longo, que consiste em deixar o vinho espumante em contato com as leveduras, aumentando a complexidade sensorial. Esta prática procura produzir um vinho espumante com características próximas ao elaborado pelo método tradicional. O tempo em que o vinho espumante repousa sobre as borras na cuba varia de 2 a 10 meses, em função do perfil do produto pretendido (Simonaggio e Lehn, 2014).

**Etapa 4** - O licor de expedição é inserido na cuba, para classificação do produto segundo o teor de açúcar, e ocorre a mistura do vinho com o licor de expedição (Simonaggio e Lehn, 2014).

**Etapa 5** – Posteriormente decorre o engarrafamento do vinho espumante que é realizado em ambiente isobárico (Simonaggio e Lehn, 2014), é aplicada a rolha, a cápsula metálica e por fim o *muselet*.

**Etapa 6** - Nesta etapa é aplicado o rótulo e contra-rótulo nas garrafas.

**Etapa 7 e 8** - Por fim as garrafas são embaladas em caixas de cartão, armazenadas e expedidas.

De acordo com o Anexo II do Regulamento (CE) N° 606/2009, a duração do processo de elaboração dos vinhos espumantes de qualidade com denominação de origem protegida, incluindo o envelhecimento na empresa de produção, calculada a partir do início da fermentação destinada a tornar o vinho espumante, não pode ser inferior a seis meses, se a fermentação destinada a tornar o vinho espumante for efetuada em cubas fechadas;

Atualmente em Portugal este método é usado na produção de Lancers Bruto Rosé.

### **4.3 Método tradicional ou champanhês**

Este método era inicialmente usado na região de Champanhe, tendo sido trazido para Portugal para a produção de vinhos espumantes. Caracteriza-se pela ocorrência da segunda fermentação dentro da própria garrafa, esta deve ter características específicas para a produção deste tipo de vinho.

Dado que a Portaria nº 212/2014 refere que na preparação dos vinhos espumantes de qualidade com direito à DO «Bairrada», o método tecnológico a utilizar é o de fermentação clássica em garrafa, este método é descrito com mais detalhe.

A figura 6 mostra o fluxograma de elaboração de vinho espumante pelo método tradicional.

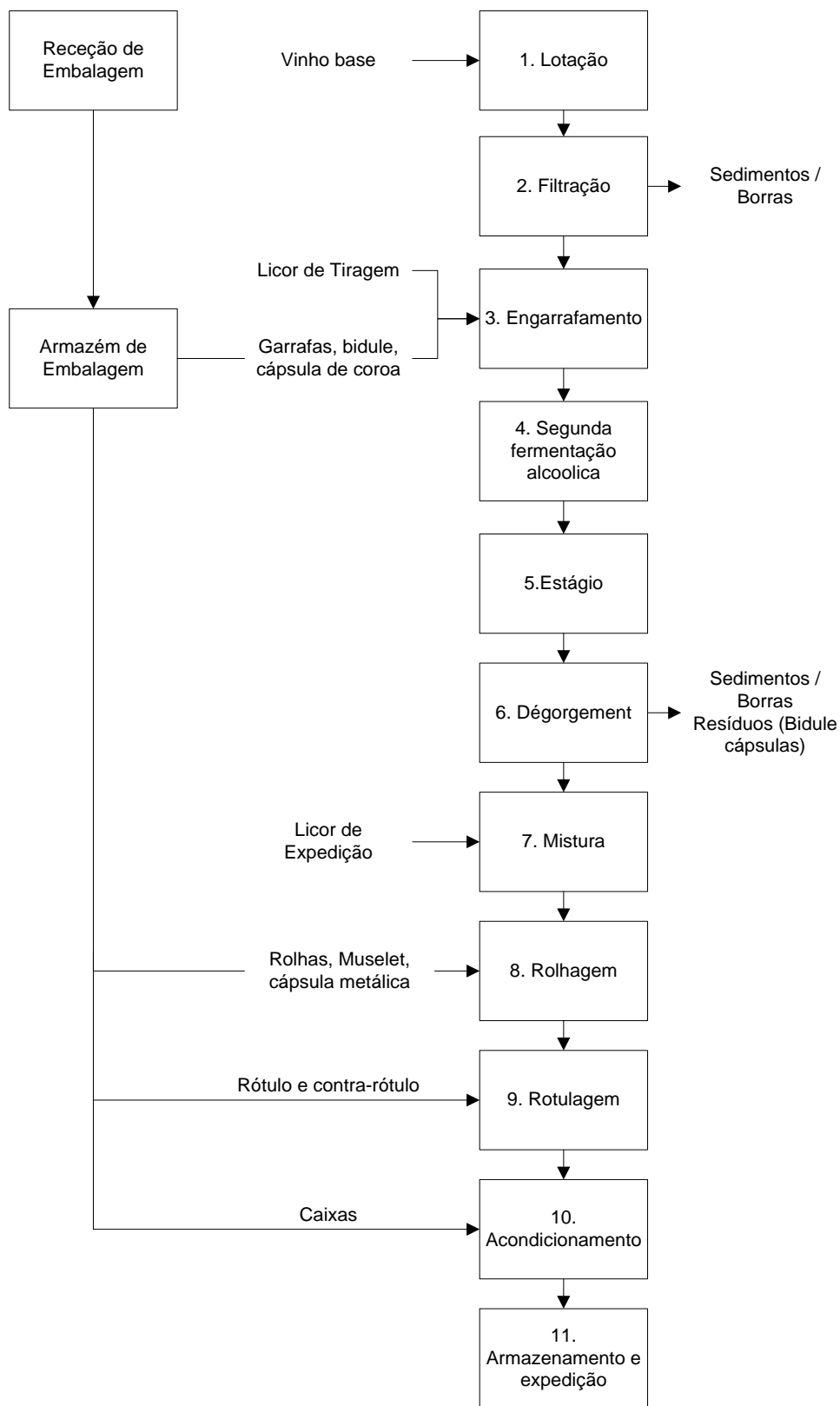


Figura 6 - Fluxograma de elaboração de vinho espumante pelo método clássico.

(Adaptado de Simonaggio e Lehn, 2014)

### **4.3.1 Descrição do fluxograma de produção de vinho espumante pelo método tradicional**

Todas as etapas de elaboração do vinho espumante são importantes para a sua qualidade final, desde a seleção do vinho de base e sua estabilização, a seleção de levedura e respetivos fatores de crescimento, a adição do licor de tiragem a segunda fermentação e por fim o envelhecimento em garrafa.

No sentido de clarificar cada um dos processos e produtos envolvidos, é especificada cada uma delas.

#### **4.3.1.1 Etapa 1 - Lotação do vinho de base**

A lotação permite ao produtor a possibilidade de produzir um vinho espumante com características distintas e associadas à sua marca, conseguindo alguma homogeneidade que poderá manter-se ao longo dos anos. Esta lotação contribui para melhorar a qualidade de alguns vinhos e para camuflar defeitos noutros e depende de uma boa escolha dos vinhos e da sua junção na proporção adequada.

Esta lotação é de extrema importância na preparação do vinho de base, essencialmente de ordem sensorial, mas também não ignorando os aspetos químicos característicos, como o álcool, acidez volátil, acidez total do vinho, SO<sub>2</sub> livre e a quantidade de CO<sub>2</sub> que possa estar presente no caso de vinhos novos (Cardoso, 2005).

O Regulamento (CE) N° 606/2009 define “lotação” como a combinação de vinhos ou mostos de proveniências, castas, anos de colheita ou categorias de vinho ou de mostos diferentes. Indica ainda que só se pode obter vinho por mistura ou lotação se os componentes dessa mistura ou lotação possuírem as características previstas para a elaboração de vinhos.

Após esta lotação e seleção final do vinho de base é necessário proceder à sua estabilização, antes da adição das leveduras.

#### **4.3.1.1.1 Vinho de base**

De acordo com o anexo I do Regulamento (CE) Nº 491/2009, entende-se por “Vinho de base”, o mosto de uvas, o vinho ou a mistura de mostos de uvas e/ou vinhos com diferentes características, destinados à preparação de um tipo determinado de vinho espumante.

A Portaria Nº 238-A/2011 refere que o vinho de base para vinho espumante deve ter 9 % v/v, no entanto, os vinhos, vinhos espumantes e vinhos frisantes com direito a IG “Beira Atlântico” devem ter um título alcoométrico volúmico adquirido mínimo de 10 % v/v

Para obter um bom vinho espumante é importante a seleção de um vinho de base de qualidade. Para a escolha deste vinho devem ser consideradas, não só as características físico-químicas e microbiológicas, mas também as suas características sensoriais (Liger-Belair *et al.*, 2012).

Estas características sensoriais são habitualmente avaliadas pelo enólogo responsável, ou por provadores experientes que verificam essencialmente atributos visuais, olfativos e aromáticos.

Genericamente são avaliados a intensidade da cor e limpidez, a complexidade e intensidade aromática, equilíbrio (acidez/doçura), adstringência/amargor, corpo/estrutura, sabor residual, entre outros (ISO 11035:1994) .

#### **4.3.1.1.2 Tratamentos enológicos ao vinho de base**

Todos os tratamentos enológicos que possam ser feitos ao vinho de base podem afetar o produto final e a sua qualidade, tanto ao nível da limpidez, do sabor e aroma, mas também a qualidade da espuma, uma vez que a efervescência do vinho espumante é a sua principal característica e a que mais facilmente se associa à sua qualidade.

É importante conhecer as características da espuma, e a sua persistência é de grande importância, as substâncias tensioativas são as principais responsáveis pela espumabilidade e persistência da espuma. Das moléculas com características tensioativas, as proteínas são as mais importantes.

#### **4.3.1.1.3 Estabilização proteica do vinho de base**

As proteínas naturalmente presentes no vinho de base para vinho espumante advêm das uvas e da autólise das leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. O teor de proteína aumenta nos mostos com a maceração pelicular (Cardoso, 2005).

Estas proteínas são importantes não só para a persistência da espuma, mas também para a qualidade do vinho, definindo não só a sua estrutura, mas também a sua untuosidade e fixação de aromas.

Uma das perturbações que pode ocorrer nos vinhos após engarrafamento é a floculação das proteínas, a denominada casse proteica. Estas desnaturam e turvam o vinho, o que é indesejável que aconteça após introdução do licor de tiragem (Cardoso, 2005).

A instabilidade das proteínas pode ter várias causas: como o pH, teor de etanol, temperatura e outros, que podem levar à sua precipitação (Navarre, 2007).

Para prevenir a casse proteica efetua-se uma colagem, que consiste na clarificação do vinho por adição de substâncias que provocam a precipitação das partículas em suspensão, a medida preventiva mais utilizada é a aplicação de bentonite (Navarre, 2007).

É verdade que o tratamento com bentonite elimina o risco de precipitação proteica, no entanto não se pretende a remoção de todas as proteínas, pois pode levar a uma perda de aromas de absorção e a uma diminuição da qualidade da espuma (Navarre, 2007).

Alguns estudos mostram que as proteínas com peso molecular entre 20 e 30 kDa são as que mais contribuem para a instabilidade do vinho, sendo que estas macromoléculas são também as que tem mais afinidade com as colas (Hsu e Heatherbell, 1987).

A persistência da bolha está relacionada com as proteínas de baixo peso molecular. Nos vinhos brancos recomenda-se a conjugação de gelatina com bentonite para evitar a colagem em excesso (Navarre, 2007).

#### 4.3.1.1.4 Estabilização tartárica do vinho de base

O vinho tem na sua composição ácido tartárico (na presença de catiões  $K^+$  e  $Ca^{2+}$  tartarato neutro de cálcio e tartarato ácido de potássio), também denominado bitartarato, que se encontra naturalmente presente nas uvas. A solubilidade destes sais varia com o pH, o grau alcoólico e a temperatura. Pode ser feita uma estabilização do vinho expondo-o a uma temperatura baixa, próxima do seu ponto de congelação ( $-4^{\circ}C$ ), o que induz uma cristalização mais rápida formando uma “casse tartárica” que posteriormente será eliminada por filtração ou centrifugação antes de se proceder ao reaquecimento do vinho (Navarre, 2007).

Refrigerar o vinho perto do seu ponto de congelação gera dois tipos de precipitados, precipitação tartárica (bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio) e precipitações coloidais (matérias corantes, complexos férricos, proteínas...) (Navarre, 2007).

Este tratamento melhora significativamente as qualidades gustativas do vinho (principalmente se for novo) tornando-o mais macio e mais harmonioso. No entanto, é importante que este tratamento seja feito antes da adição das leveduras, visto que, se for feito à posterior ou não for feito, a presença do bitartarato de potássio em abundância em vinhos espumantes, forma placas que dificultam as operações de *remuage* e pode provocar perdas maiores de vinho no *dégorgement*, pois favorecem a libertação excessiva de gás e consecutivamente afeta a qualidade da espuma (Navarre, 2007).

A aplicação de uma cola (substancia coloidal) provoca a floculação da cola juntamente com as substâncias que se pretende eliminar (Navarre, 2007).

#### **4.3.1.1.5 Dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>)**

De acordo com a lista e descrição dos métodos de análise (2010), designa-se por “dióxido de enxofre total” o conjunto das diferentes formas de dióxido de enxofre presentes, no estado livre ou combinadas com os componentes do vinho.

A adição de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) ao vinho, reveste-se de grande importância, uma vez que não só controla o crescimento microbiano, impedindo o crescimento de bactérias e leveduras indesejadas, como funciona como antioxidante evitando o escurecimento do mosto. É adicionada a quantidade adequada de forma a não ultrapassar os limites legais (Simonaggio e Lehn, 2014).

O vinho de base para a produção de espumante deverá conter um nível de SO<sub>2</sub> baixo, uma vez que se pretende que ocorra uma segunda fermentação, e que esta não seja inibida pela sua presença. De acordo com Carvalheira (2008), o teor de SO<sub>2</sub> total deve ser inferior ou igual a 100 mg/L reduzindo assim a probabilidade de derivados de enxofre.

Há ainda autores que defendem que para que não haja atrasos fermentativos, um vinho de base ideal para fazer vinho espumante, deve ter um valor de SO<sub>2</sub> livre inferior a 10mg/L e um SO<sub>2</sub> total inferior a 100 mg/L (Cardoso, 2005).

Relativamente ao teor de dióxido de enxofre presente num vinho espumante no momento da sua colocação no mercado, o Regulamento (CE) nº 606/2009, estipula que não pode exceder:

- 185 mg/L no caso de todas as categorias de vinho espumante de qualidade;
- 235 mg/L no caso dos outros vinhos espumantes.

##### **4.3.1.1.5.1 Inovação: substituição de dióxido de enxofre na produção de vinho espumante**

Recentemente foi desenvolvido um novo método que consiste na utilização de uma película com base em quitosana, que possui propriedades antimicrobianas e antioxidantes, em alternativa à utilização de SO<sub>2</sub> e que mantém as propriedades sensoriais do vinho (Coimbra, 2013).

A quitina e quitosana são polissacarídeos. A quitina é o principal componente do exosqueleto de crustáceos e insetos e da parede celular de fungos e leveduras. A quitosana pode ser obtida a partir da quitina por meio de desacetilação ou estar naturalmente presente em alguns fungos (Silva *et al.*, 2006).

A utilização destas substâncias tem aumentado na indústria de alimentos, sendo que esta película foi usada com sucesso para a conservação de vinho branco (Cunha, 2011). Foi adaptada para substituição de SO<sub>2</sub> durante o processo de espumantização e estágio em garrafa na produção de vinho espumante branco, sem alterar o processo de vinificação (Coimbra, 2013).

Desta forma, a utilização desta película vai permitir também a produção de vinho espumante sem sulfitos, um alergénio referenciado na lista de substâncias ou produtos que provocam alergias ou intolerâncias (Regulamento (UE) nº 1169/2011), mas mantendo a sua qualidade organolética e microbiológica (Coimbra, 2013).

### **4.3.2 Etapa 2 - Filtração do vinho de base**

É importante efetuar dois tipos de filtração com membranas de diferentes porosidades, com o fim de evitar qualquer depósito, bem como o desenvolvimento de microrganismos (Navarre, 2007). Normalmente é usado primeiramente um filtro de placas-filtração de desbaste com 0,60 µm (Navarre, 2007), e posteriormente com filtro microbiológico com título de retenção de microrganismos de porosidade 0,45 µm (Proenol, 2010).

Esta filtração torna-se ainda mais importante, uma vez que para efetuar o *dégorgement*, aquando da utilização de leveduras encapsuladas é suficiente a inversão da garrafa, evitando-se assim a contaminação/turvação do vinho durante a fermentação alcoólica em garrafa (Proenol, 2010).

### **4.3.3 Etapa 3 – Engarrafamento do vinho espumante**

#### **4.3.3.1 Licor de tiragem**

O licor de tiragem reveste-se de grande importância na qualidade da segunda fermentação e assim do produto final.

De acordo com o Regulamento (CE) nº 606/2009 entende-se por “licor de tiragem”, o produto adicionado ao vinho de base para provocar a segunda fermentação. Este só pode conter sacarose, mosto de uvas concentrado, mosto de uvas concentrado retificado, mosto de uvas ou mosto de uvas parcialmente fermentado ou vinho.

O mesmo regulamento refere também que a adição de licor de tiragem não pode provocar um aumento do título alcoométrico volúmico total do vinho de base superior a 1,5 %. Este aumento é medido através do cálculo da diferença entre o título alcoométrico volúmico total do vinho de base e o título alcoométrico volúmico total do vinho espumante antes da eventual adição de licor de expedição.

A segunda fermentação, a menos que se destine a transformar diretamente uvas, mosto de uvas ou mosto de uvas parcialmente fermentado em vinho espumante, só pode resultar da adição de licor de tiragem e só pode efetuar-se em garrafa ou em cuba fechada (Regulamento (CE) nº 606/2009).

Este licor de tiragem deve também conter substâncias azotadas (fosfato de diamónio) e vitaminas (tiamina) (Carvalheira, 2008; Proenol, 2010). Para uma segunda fermentação eficiente, Carvalheira (2008), recomenda a adição de 0,6 mg/L.

#### **4.3.3.2 A levedura adicionada ao vinho de base**

As leveduras utilizadas na preparação de vinhos espumantes devem ter características específicas, como a resistência ao frio, resistência à pressão e resistência ao álcool, uma vez que estes são inibidores de crescimento levuriano (Pretorius, 2000).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é muito resistente às mudanças das condições do meio, este microrganismo apresenta sob condições anaeróbias, somente a produção de etanol e CO<sub>2</sub>, é geneticamente estável e pode operar com pH mais baixo em altas concentrações de açúcar, tornando-a assim ideal para a segunda fermentação devido às suas características (Pretorius, 2000).

A levedura deve ter características para boa fermentação em garrafa como a capacidade fermentativa em ambiente com elevada quantidade de álcool, temperatura baixa e em pressão elevada (Simonaggio e Lehn, 2014).

Para o processo de produção de vinho espumante com leveduras livres, como mostra a figura 7, é realizado um pé-de-cuba que consiste na preparação das leveduras secas hidratadas previamente em água morna e posteriormente incorporadas em vinho de base com licor de tiragem (Cardoso, 2005).

Posteriormente as garrafas são colocadas em *pupitres* (estruturas de madeira em forma triangular) onde é realizada uma *remuage* manual que consiste em rodar lentamente ao mesmo tempo que se vão invertendo, ou em giropaletes (*remuage* mecânica) com o objetivo de os sedimentos contidos na garrafa irem descendo progressivamente para o gargalo e ai se acumularem para facilitar o *Dégorgement* (Cardoso, 2005).

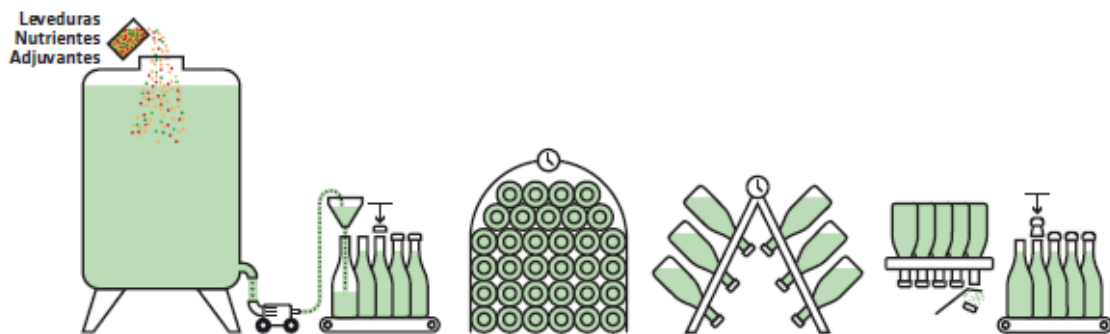


Figura 7 - Processo produtivo de vinho espumante pelo método de leveduras livres.

Fonte: Centeno, 2014

#### 4.3.3.2.1 Inovação: leveduras encapsuladas

A utilização de leveduras encapsuladas é uma inovação que possibilitou uma grande melhoria na produção de vinho espumante. Os microrganismos imobilizados apresentam a vantagem de serem facilmente introduzidos e retirados do meio de cultura após a “biotransformação” total ou parcial dos substratos (figura 8). Uma das técnicas utilizadas para a imobilização de microrganismos é a encapsulação, que consiste na inclusão dos microrganismos numa matriz permeável aos substratos e metabolitos da atividade fermentativa (Proenol, 2010).

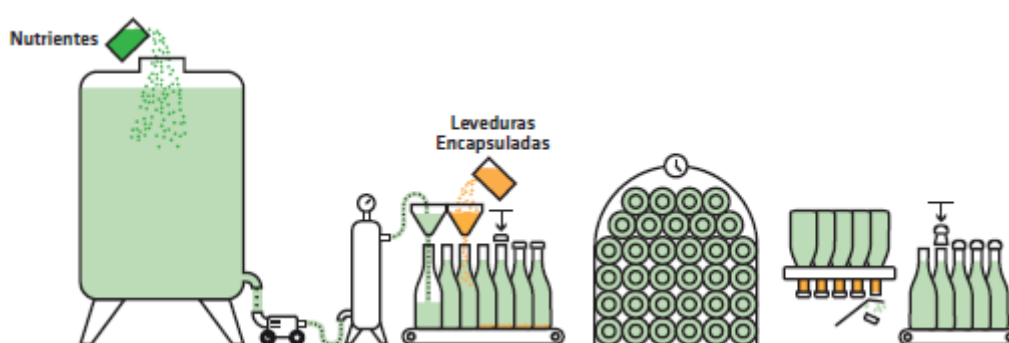


Figura 8 - Processo produtivo de vinho espumante pelo método de leveduras imobilizadas.

Fonte: Centeno 2014

Alguns dos benefícios apontados são (Proenol, 2010):

- Redução da mão-de-obra e eliminação da etapa de *remuage* - No método tradicional com utilização de leveduras livres, a remoção destas exige trabalho intensivo e grande consumo de tempo com um elevado custo para o produtor (Torresi *et al.*, 2011). Uma vez que é necessário girar lentamente as garrafas enquanto se inclinam, para que as leveduras se acumulem no gargalo da garrafa.
- Disponibilidade imediata do vinho e maior eficácia no planeamento das expedições;
- Inoculação direta das leveduras, eliminação da preparação do inóculo;
- Ganho de espaço disponível na cave, os equipamentos de *remuage* deixam de ser necessários, levando a um aumento da capacidade de armazenamento de garrafas;
- O produto acabado apresenta características organoléticas idênticas à fermentação com leveduras livres (Proenol, 2010).

França foi o primeiro país a obter a patente de produção de vinho espumante com utilização de leveduras encapsuladas (Torresi *et al.*, 2011).

A utilização de leveduras encapsuladas consiste na introdução em garrafa de uma determinada quantidade destas, estas são facilmente introduzidas e facilmente removidas no *dégorgement*, sendo suficiente a inversão da garrafa. A figura 9 mostra as leveduras dentro da garrafa (Torresi *et al.*, 2011).

Enquanto ocorre crescimento celular, as leveduras permanecem presas na “cápsula” de alginato e assim a limpidez do vinho é garantida, todas as trocas de solutos, como a entrada de açúcar e saída de álcool e outros, resultantes da autólise das leveduras que vão enriquecer o vinho, são efetuadas entre o vinho e o interior da “cápsula” (Torresi *et al.*, 2011).

Foram testados vários suportes como agar, alginato e carragenina entre outros, no entanto, o que é utilizado na produção de vinho espumante é o alginato e apresenta-se sob a forma de esferas desidratadas com cerca de 2mm de diâmetro (figura 10) (Proenol, 2010). Estas leveduras têm origem em culturas isoladas da uva (Pretorius, 2000).

A desidratação permite aumentar o tempo de conservação das esferas e a facilidade de inoculação em garrafa, em comparação com o produto húmido (Proenol, 2010).



Figura 9 - Vinho espumante com leveduras encapsuladas

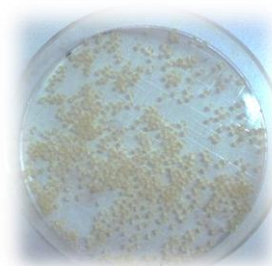


Figura 10 - Leveduras imobilizadas secas

Uma vez que ocorrerá uma segunda fermentação, deverão estar reunidas as condições ideais para o crescimento microbiano, para a utilização de leveduras encapsuladas o vinho de base deve obedecer a determinadas características (Proenol, 2010):

- SO<sub>2</sub> livre inferior a 15mg/L;
- pH superior ou igual a 3;
- Teor alcoólico inferior ou igual 11,5% (v/v) uma vez que durante a segunda fermentação o teor alcoólico aumenta cerca de 1,2 a 1,5% v/v.; um teor alcoólico muito elevado tem um efeito negativo no desenvolvimento das leveduras;
- Azoto assimilável superior ou igual a 100 mg/L;
- Estabilidade proteica e tartárica;
- Temperatura de fermentação superior ou igual a 12 °C.

#### **4.3.3.2.1.1 O alginato de cálcio - Imobilização de leveduras**

O Regulamento (CE) nº 606/2009 refere como prática enológica autorizada a utilização de alginato de cálcio ou de alginato de potássio, na elaboração de todas as categorias de vinhos espumantes e de vinhos frisantes, obtidos por fermentação em garrafa e cujas borras sejam separadas por expulsão - *dégorgement*.

Os alginatos são polissacáridos com grande capacidade gelificante extraídos de algas marinhas (*Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum*, *Macrocystis pyrifera*) ou produzidos por bactérias (*Laminaria japónica*, *Eclonia maxima*, *Lesonia negrescens* e espécie *Sagassum*) (Gombotz e Wee, 1998).

Devido às suas propriedades intrínsecas como biocompatibilidade, mucoadesão, porosidade e facilidade de manipulação, o gel de alginato de cálcio é muito utilizado como suporte de imobilização (Coviello *et al.*, 2007).

Existem várias técnicas de imobilização, no entanto a utilizada neste caso é a gelificação ionotrópica, em alginato. Esta gelificação baseia-se na propriedade de alguns polissacáridos formarem hidrogéis na presença de iões divalentes Ca<sup>2+</sup> (Fani, 2013). São constituídos por monómeros de ácido β-D-manurónico (M) e α-L-gulurónico (G). A razão entre o ácido β-D-manurónico e o ácido α-L-gulurónico determina a capacidade dos alginatos para formar hidrogéis (figura 11) (Centeno, 2014).

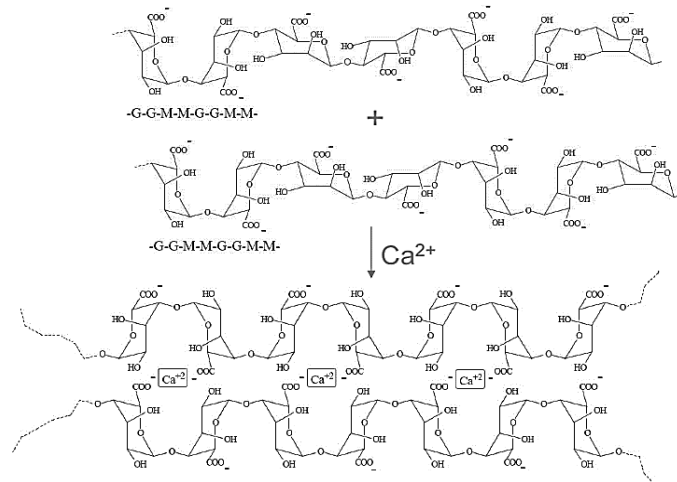


Figura 11 - Gelificação ionotrópica – Molécula de ácidos  $\alpha$ -L-gulurónico e  $\beta$ -D-manurónico com catião divalente  $Ca^{2+}$

Fonte: Centeno, 2014

A figura 12 mostra o processo de imobilização de levedura, que consiste em confinar células numa determinada região de espaço garantindo a preservação da atividade catalítica desejada (Centeno, 2014).

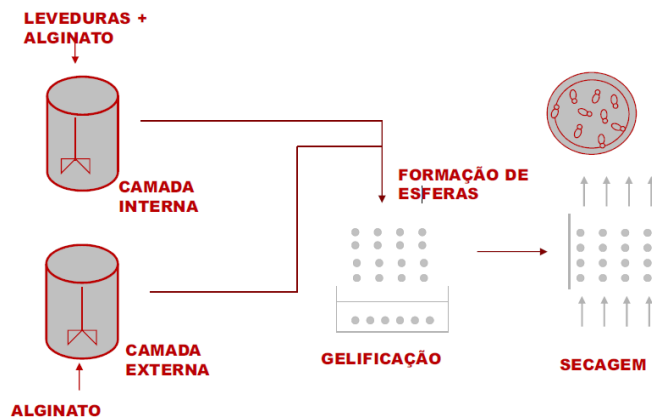


Figura 12 - Processo de imobilização de leveduras em alginato.

Fonte: Centeno, 2014

### 4.3.3.3 O açúcar no licor de tiragem

A adição de açúcar é de extrema importância uma vez que irá afetar o desenvolvimento levuriano, o teor alcoólico e a pressão final do vinho espumante. A quantidade de açúcar a adicionar, deve ser calculada de forma a permitir a formação da quantidade de dióxido de carbono suficiente para obter a pressão mínima necessária. De acordo com Cardoso (2005), 4g de açúcar por litro de vinho de base originam sobrepressão de 1 bar a 10°C, logo para 6 bar de pressão a quantidade ideal a adicionar será de 24g/L.

É importante que se determine a quantidade correta de açúcar a adicionar, uma vez que a sua adição em excesso poderá provocar um aumento indesejado da pressão e por consequência a perda elevada de espuma na abertura da garrafa aquando do *dégorgement*.

A *Saccharomyces cerevisiae* metaboliza os principais açúcares presentes na uva através da via glicolítica. O piruvato é descarboxilado em acetaldeído, e este por sua vez é reduzido a etanol. A taxa de fermentação e a quantidade de álcool produzido por unidade de açúcar é de elevada importância. Alguns estudos mostram que cerca de 95% do açúcar é convertido em dióxido de carbono e etanol (Pretorius, 2000).

De acordo com Cardoso (2005), 24g de açúcar irão provocar um aumento do teor alcoólico de cerca de 1,2 a 1,5% v/v.

#### **4.3.3.4 Substâncias azotadas**

Uma vez que a maioria dos compostos azotados assimiláveis presentes nos mostos foi consumida quase na totalidade aquando da fermentação do vinho, é de extrema importância a adição destas substâncias de forma a impedir um mau desempenho fermentativo, fermentações demasiado lentas ou até ausência de fermentação (Pretorius, 2000).

De acordo com Proenol (2010), é aconselhada a adição ao vinho de base de complementos nutritivos (tiamina e fosfato de diamónio), aquando da adição da levedura encapsulada. Estes irão favorecer uma rápida multiplicação das leveduras, com o aumento da população, do seu potencial enzimático e da velocidade de fermentação (Pretorius, 2000).

O uso indiscriminado de azoto inorgânico resulta frequentemente em níveis excessivos de azoto residual o que leva a instabilidade microbiana e à presença de fosfatos no produto acabado, daí a importância da existência de regulamentação (Pretorius, 2000).

O anexo I-A do Regulamento (CE) nº 606/2009 refere as práticas e tratamentos enológicos autorizados, as suas condições e limites de utilização. Para favorecer o desenvolvimento de leveduras é possível utilizar uma ou mais das seguintes substâncias, eventualmente acompanhadas de um suporte inerte:

- Fosfato diamónio ou sulfato de amónio (no caso da segunda fermentação dos vinhos espumantes - 0,3 g/L)
- Dicloridrato de tiamina (máximo 0,6 mg/L (expresso em tiamina) em cada tratamento).

#### **4.3.3.5 A mistura do vinho de base com o licor**

A linha de engarrafamento deve ter uma higienização rigorosa dos equipamentos, e as garrafas devem ser previamente enxaguadas. O vinho deverá ter uma filtração final (esterilizante) através de uma membrana de 0,45 $\mu$ m (tamanho de poro absoluto), porque uma vez que a utilização de leveduras encapsuladas elimina a etapa de *remuage*, esta filtração evita a contaminação/turvação do vinho durante a fermentação alcoólica em garrafa (Proenol, 2010).

Aquando da introdução das leveduras na garrafa, o diferencial de temperatura entre estas e o vinho não deverá ser superior a 10°C (Proenol, 2010). A melhor altura do ano para adição do licor de tiragem ao vinho para dar início à segunda fermentação é no final de inverno ou início da primavera com temperaturas baixas, mas não demasiado, o que levará a uma boa atividade das leveduras.

Após fecho da garrafa com bidule e cápsula metálica, as garrafas são dispostas em cave na horizontal de forma a garantir uma grande superfície de contacto entre as leveduras e o vinho, aumentando assim a eficácia da fermentação (Cardoso, 2005).

A Portaria Nº 836/2004, estabelece que os períodos mínimos de estágio para os vinhos espumantes com direito à denominação de origem Bairrada, carecem de um período mínimo de nove meses de permanência nas instalações do preparador, após a data do engarrafamento para poderem ser comercializados.

Este armazenamento das garrafas deve ser feito em locais frescos, com temperatura entre 12°C e 15°C, com o mínimo possível de flutuações de temperatura e pouca luminosidade. Estas condições da cave propiciam uma fermentação lenta o que irá influenciar a qualidade do produto final (Torresi *et al.*, 2011).

#### 4.3.3.6 Garrafas usadas na produção de vinho espumante

As garrafas utilizadas na produção de vinho espumante (figura 13) deverão obedecer a determinadas características específicas. Deverão ter uma capacidade de 750 mL e devem ter resistência a altas pressões de forma a suportarem o decorrer da segunda fermentação. O gargalo da garrafa deve também ser adequado à posterior colocação de rolha e adaptação do *muselet* (Cardoso, 2005).



Figura 13 - Garrafa de vinho espumante.

#### 4.3.3.7 Obturador plástico (bidule) e cápsula coroa

Após o engarrafamento do vinho é inserido o obturador plástico ou *Bidule* (figura 14) que consiste num copo de polietileno normalmente com 17 milímetros de diâmetro e 14 mm de altura. Estes “copos” têm a função de vedar a garrafa impedindo fugas de CO<sub>2</sub> e de reter as leveduras, o que facilita a sua expulsão aquando do *dégorgement*.

De seguida é colocada a cápsula metálica coroa (figura 15) com a inscrição do ano de engarrafamento. Esta cápsula é de inox com uma junta interna que melhora a vedação da garrafa, impedindo perdas de CO<sub>2</sub> e reduzindo o risco de oxidação (Cardoso, 2005).

Figura 14 - Bidule



Figura 15 – Cápsula coroa



Fonte: <http://champagne.capsules.pagesperso-orange.fr/bouchons.htm>

#### 4.3.4 Etapa 4 – A segunda fermentação

A segunda fermentação reveste-se de grande importância para a qualidade do vinho espumante, também conhecida por *prise de mousse*, é a principal responsável pela efervescência tão característica nos vinhos espumantes. Um conjunto de reações leva à conversão dos açúcares em moléculas de CO<sub>2</sub> e etanol. A equação que descreve esta reação química encontra-se na figura 16 (Liger-Belair, 2005).

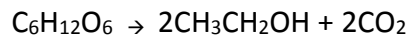


Figura 16 – Equação da conversão de açúcares em etanol e dióxido de carbono.

(Liger-Belair, 2005)

A duração da segunda fermentação depende de alguns fatores como a temperatura e a composição química do vinho de base (Torresi *et al.*, 2011).

A temperatura condiciona fortemente a qualidade do vinho espumante, é aconselhável que esta seja baixa e constante, para se obter um aroma rico e fino, tendo também algumas implicações na persistência da bolha e bolhas mais finas. A temperatura mais comum nas caves de refermentação varia entre os 12 °C e os 15 °C.

A temperatura condiciona também a atividade das leveduras, por exemplo para uma temperatura de 20 °C a segunda fermentação dura aproximadamente 15 dias, para uma temperatura de 15 °C durará cerca de 30 dias, abaixo de 10 °C e acima de 20 °C, podem ocorrer dificuldades fermentativas.

Esta segunda fermentação deve ser constantemente monitorizada através de medições frequentes pela análise da evolução da pressão dentro da garrafa (Torresi *et al.*, 2011). Esta monitorização deverá ser feita através da determinação da sobrepressão com um afrómetro de cápsula, e idealmente efetuar uma contagem da população levuriana (Carvalheira, 2008).

Visualmente consegue perceber-se alguma turvação ao longo do tempo:

- Vinho turvo (dias a semanas) (figura 17);
- Vinho limpo (ao final de 1-2 semanas);
- Surgimento de pequenas bolhas de ar (sinal de atividade das leveduras e libertação de CO<sub>2</sub>).



Figura 17 - Aspeto do vinho espumante após 1 semana de fermentação.

A figura 18 mostra as principais alterações que ocorrem durante a segunda fermentação, ao longo do tempo. De acordo com Jackson (2014) a 11°C a segunda fermentação demora cerca de 50 dias.

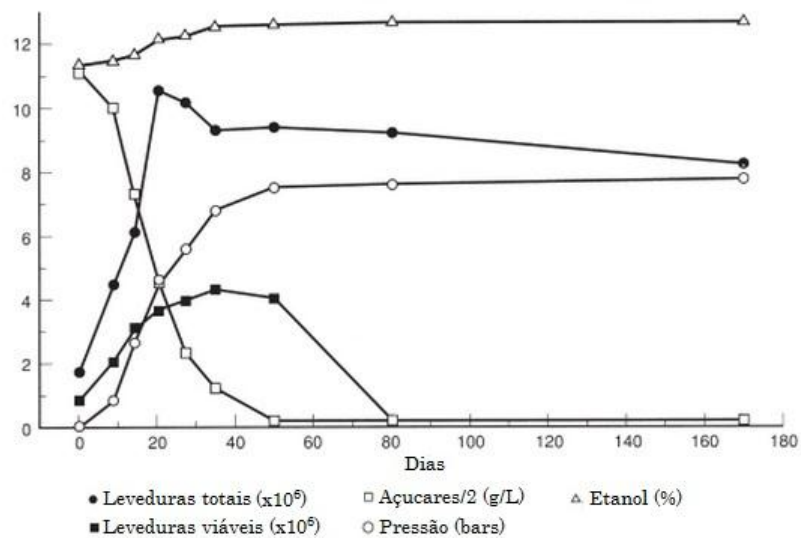


Figura 18 – Principais alterações durante a produção de Vinhos Espumante

(Adaptado de Jackson 2014)

### 4.3.5 Etapa 5 – Estágio sobre borras

Após término da segunda fermentação, consumo do açúcar disponível e a pressão no interior da garrafa se encontrar entre os 5 a 6 bar, o vinho fica em estágio em contacto com as leveduras. Durante este estágio o vinho espumante amadurece e desenvolvem-se os aromas que caracterizam o produto (Torresi *et al.*, 2011).

O período de envelhecimento do vinho com as leveduras tem uma duração variável, dependendo da legislação em vigor e do tipo de vinho espumante pretendido, pode durar entre 9 meses a vários anos consoante os atributos desejados (Jackson, 2014).

Qualquer vinho espumante produzido em Portugal é classificado conforme o tempo que esteve em estágio sobre as borras conforme tabela 7.

Tabela 7 - Lista de menções tradicionais

Menções Tradicionais	Resumo da definição / das condições de utilização
<b>Reserva</b>	Menção reservada para vinho espumante de qualidade, vinho espumante com indicação geográfica e vinho espumante com denominação de origem, desde que tenha entre 12 e 24 meses de engarrafamento antes do transvasamento, transbordamento ou extração da borra.
<b>Super reserva</b>	Menção reservada para vinho espumante de qualidade, vinho espumante com indicação geográfica e vinho espumante com denominação de origem, desde que tenha entre 24 e 36 meses de engarrafamento antes do transvasamento, transbordamento ou extração da borra.
<b>Velha Reserva (ou grande reserva)</b>	Menção reservada para vinho espumante de qualidade, vinho espumante com indicação geográfica e vinho espumante com denominação de origem, desde que tenha mais de 36 meses de engarrafamento antes do transvasamento, transbordamento ou extração da borra.

Fonte: Regulamento (CE) N° 607/2009

#### 4.3.5.1 Autólise das leveduras durante o estágio

Durante o envelhecimento ocorre a autólise das leveduras, resultando na auto-degradação enzimática dos constituintes celulares. As leveduras libertam compostos/substâncias e enzimas para o meio, que vão dar sabor e aroma ao vinho espumante influenciando assim as suas propriedades físico-químicas e a sua qualidade sensorial (Alexandre e Guilloux-benatier, 2006).

Este processo de lise celular é um processo irreversível que consiste na hidrólise de biopolímeros intracelulares por enzimas endógenas das leveduras, o que resulta na libertação de vários compostos intracelulares, como aminoácidos, péptidos, proteínas, polissacáridos, derivados de ácidos nucleicos e lípidos que contribuem para a evolução das propriedades organoléticas do vinho espumante (Torresi *et al.*, 2011).

A autólise ocorre geralmente no final da fase estacionária do crescimento após a fase de crescimento e está normalmente associada à morte celular (Alexandre e Guilloux-benatier, 2006).

Esta lise celular demora algum tempo devido às características do vinho, pH 3 a 4, envelhecimento a temperatura relativamente baixa entre 12°C a 15°C e à presença de álcool (12% v/v). A autólise das leveduras em vinhos espumantes só inicia 2 a 4 meses após a conclusão da segunda fermentação (Alexandre e Guilloux-benatier, 2006).

A figura 19 mostra a libertação dos principais compostos na autólise das leveduras imediatamente após a segunda fermentação alcoólica e até aos 12 meses a célula vai perdendo compostos e reduzindo dimensões. A parede celular permanece intacta, mas as células perdem a maior parte do seu conteúdo citoplasmático (Alexandre e Guilloux-benatier, 2006).

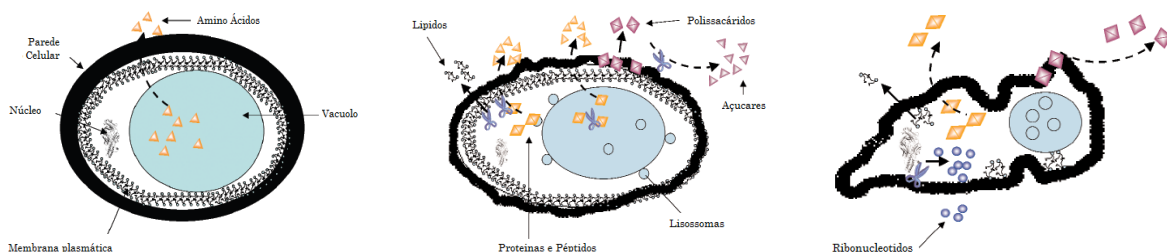


Figura 19 – Representação esquemática das alterações morfológicas e bioquímicas da autólise da levedura na produção de vinho espumante.

(Adaptado de Alexandre, Guilloux-benatier 2006)

A tabela 8 resume os principais compostos libertados e o seu potencial impacto na evolução das propriedades sensoriais do vinho espumante.

Tabela 8 - Origem dos diferentes compostos libertados durante a autólise de leveduras e o seu potencial impacto no vinho espumante.

Origem	Composto	Possível impacto sobre o vinho espumante
<b>Conteúdo celular</b>	Nucleósido	Agente <i>flavour</i>
	Nucleótidos	
	Amino Ácidos Péptidos Proteínas	Percursos de aroma Qualidade da espuma Gosto doce e amargo
	Proteína	Gosto doce e amargo Qualidade da espuma
	Lípidos	Qualidade da espuma
<b>Parede celular</b>	Glucanos	Qualidade da espuma
	Manoproteína	Aumento do paladar

Adaptado de Alexandre e Guilloux-benatier, 2006

A difusão de pequenas moléculas como a glucose e o etanol não é afetado pela matriz de alginato, enquanto que, a difusão de moléculas maiores (proteínas), depende do seu peso molecular. O aumento da concentração de alginato nas “*billes*” diminui o rácio de difusão das proteínas através do gel (Gombotz e Wee, 1998). Daí a importância do equilíbrio entre o ácido  $\beta$ -D-manurónico e o ácido  $\alpha$ -L-gulurónico para não afetar a passagem dos compostos.

#### **4.3.5.1.1 Os diferentes compostos libertados e sua influência no vinho espumante**

##### **Compostos azotados**

As proteínas das leveduras estão presentes no vinho de base após a fermentação alcoólica e a sua concentração aumenta no estágio sobre borras após a segunda fermentação.

A autólise modifica a composição proteica, libertando péptidos e aminoácidos. Os péptidos são hidrolisados originando péptidos de baixo peso molecular e aminoácidos livres. Estes péptidos de baixa densidade têm propriedades funcionais nos vinhos como a função tensioativa e propriedades bioativas (antioxidante, antimicrobiana, anti-hipertensivo). Estes estão envolvidos nas propriedades sensoriais dos vinhos (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

Durante o estágio do vinho espumante e autólise levuriana, a atividade enzimática (proteases e glucanases) provoca a quebra dos glucanos e a libertação de manoproteínas. As manoproteínas estão associadas ao melhoramento das propriedades da espuma no vinho espumante (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

##### **Açúcares**

Os açúcares presentes no vinho espumante poderão advir tanto da uva como da levedura. No vinho de base a arabinose é o açúcar com maior presença, e no vinho espumante a manose e a glucose (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

Alguns estudos mostram que a concentração de polissacáridos contendo glucose e manose na sua estrutura aumentam em 3 ou 4 vezes durante o envelhecimento dos vinhos espumantes em contacto com a levedura. As quantidades libertadas variam não só com o tempo de envelhecimento, mas também com a estirpe de levedura, a temperatura e a preparação das leveduras (se encapsuladas ou não) (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

Após estágio sobre borras é ainda possível adicionar açúcar de forma e produzir um vinho espumante com diferentes teores de açúcar.

## **Compostos voláteis**

Alguns compostos voláteis poderão ser utilizados para distinguir entre vinhos espumantes (mais novos (<9 meses) e velhos (> 20 meses)) com diferentes tempos de envelhecimento. Alguns estudos mostram que o aumento dos compostos aromáticos importantes envelhecidos durante períodos de tempo maiores (mais de 21 meses) se deve à atuação de enzimas libertadas durante a autólise celular das leveduras nos carotenoides presentes nos vinhos (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

A segunda fermentação e o tempo de estágio sobre borras alteram significativamente a composição volátil dos vinhos espumantes (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

Durante o envelhecimento sobre borras, a concentração de alguns compostos voláteis pode reduzir, devido à interação entre compostos aromáticos e as paredes da levedura, e que poderão ser removidos do vinho juntamente com as borras (principalmente os hidrofóbicos). Além disso, as manoproteínas libertadas pelas leveduras podem também afetar a solubilidade de alguns destes compostos e podem ter efeitos no aroma do vinho espumante (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

## **Lípidos**

A presença de lípidos no vinho espumante é atribuída à ação de enzimas hidrolíticas na parede celular, aquando do envelhecimento sobre borras, e assim a libertação de compostos para o meio circundante (Pozo-Bayón *et al.*, 2009).

A presença de lípidos nos vinhos espumante afeta a sua qualidade sensorial, estas propriedades tensioativas, existindo assim uma relação entre a presença de alguns ácidos gordos e as características de formação da espuma. A estabilidade e altura da espuma estão relacionadas essencialmente com a presença de ácido linoleico e palmítico (Pérez-Serradilla e Castro, 2008).

Os trigliceróis, ácidos gordos livres e esteróis, têm pouco ou nenhum sabor próprio, no entanto, podem melhorar o sabor e aroma de outros compostos na boca. Quanto maior o tempo de envelhecimento sobre borras, mais aumenta a presença destes compostos (Pérez-Serradilla e Castro, 2008).

### 4.3.5.1.2 Sobrepressão em vinhos

A principal característica de um vinho espumante é a sua efervescência, a aparência da espuma após abertura da garrafa é uma propriedade organolética de elevada importância (Reynolds, 2010).

Existem diferentes categorias de vinhos efervescentes cuja denominação varia de acordo com determinadas características, sendo uma delas a sobrepressão. A tabela 9 mostra os diferentes níveis de pressão, bem como a origem do CO<sub>2</sub> presente no vinho (Regulamento (CE) N° 491/2009).

Tabela 9 - Denominação da categoria do produto vitivinícola

Denominação	Pressão	Proveniência do CO <sub>2</sub>
Vinho espumante natural	Igual ou superior a 3 bar	exclusivamente da fermentação
Vinho espumante de qualidade	Igual ou superior a 3,5 bar	exclusivamente da fermentação
Vinho espumante de qualidade aromático	Igual ou superior a 3 bar	exclusivamente da fermentação
Vinho espumante gaseificado	Igual ou superior a 3 bar	total ou parcialmente de adição
Vinho frisante natural	Não inferior a 1 bar nem superior a 2,5 bar	exclusivamente da fermentação
Vinho frisante gaseificado	Não inferior a 1 bar nem superior a 2,5 bar	total ou parcialmente de adição

Fonte: Regulamento (CE) N° 491/2009

O aumento progressivo do CO<sub>2</sub> é inibidor do crescimento microbiano e da velocidade de fermentação atuando também como fator determinante para a morte das leveduras e fim da fermentação (Liger-Belair, 2005).

Para obter um vinho espumante de qualidade é necessária uma sobrepressão, devida ao dióxido de carbono em solução, igual ou superior a 3,5 bar, no entanto, e tendo em conta as possíveis perdas durante o processo o ideal é que durante a segunda fermentação este atinja 5 ou 6 bar de pressão.

No anexo II do Regulamento (CE) N° 606/2009 pode ler-se que o dióxido de carbono contido num vinho espumante só pode resultar da fermentação alcoólica do vinho de base a partir do qual o vinho espumante é elaborado.

Uma vez que as garrafas se encontram fechadas e não ocorre libertação do gás, este vai-se dissolvendo progressivamente no vinho, até atingir o equilíbrio entre o dióxido de carbono que se encontra no espaço entre o vinho espumante e a rolha e o dissolvido no vinho (Liger-Belair, 2005).

A pressão de 6 atm, ou seja, do CO<sub>2</sub> livre, é medido abaixo da rolha (a 12°C) com a ajuda de um afrómetro. Caso a garrafa não se encontre a esta temperatura é necessário fazer a correção desse resultado, multiplicando a pressão medida pelo coeficiente apropriado, de acordo com a tabela 9.

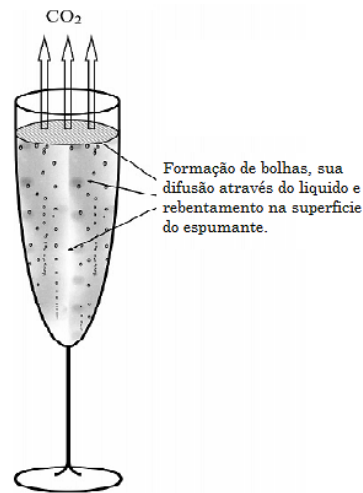
Tabela 10 - Relação entre a sobrepressão, Paph 20 , de um vinho frisante ou espumante a 20 °C e a sobrepressão

°C	Coeficiente	°C	Coeficiente
0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

Adaptado de Lista e Descrição Dos Métodos de Análise referidos no artigo 120º-G do Regulamento (CE) No 1234/2007

Quando a garrafa é aberta, a pressão parcial de CO<sub>2</sub> livre no cimo da garrafa reduz, desta forma a concentração de CO<sub>2</sub> no vinho espumante deixa de estar em equilíbrio com a pressão parcial dissolvida (Liger-Belair, 2005).

Para recuperar para um novo estado de equilíbrio praticamente todas as moléculas de  $\text{CO}_2$  dissolvidas no vinho espumante tendem a sair do líquido. O vinho espumante fica sobressaturado com  $\text{CO}_2$ , explicando desta forma a efervescência no copo (Figura 20), que não é mais do que a formação das bolhas, crescimento e subida até à superfície do líquido (Reynolds, 2010).



*Figura 20 - Liberação de gás num copo de vinho espumante*

(Adaptado de Liger-Belair 2005)

Quanto mais baixa a temperatura do vinho espumante, mais elevada é a solubilidade do gás diminuindo assim a liberação do gás e aumentando a durabilidade da efervescência (Liger-Belair, 2005).

Como já foi referido, o vinho espumante tem na sua composição diferentes compostos e substâncias tensioativas com diferentes características. Uma vez que as bolhas de gás libertadas têm carácter anfifílico (molécula cuja estrutura tem uma parte hidrofílica (solúvel em água) e outra lipofílica (solúvel em lípidos e não em água)), alguns dos compostos do vinho espumante, como álcoois, aldeídos, ácidos orgânicos e alguns tióis, são suscetíveis de ser arrastados juntamente com a subida do gás para a superfície contribuindo assim para a perceção sensorial global do vinho espumante (Liger-Belair, 2005). Além disso, algumas substâncias tensioativas (como as proteínas e glicoproteínas) criam uma barreira na superfície da bolha prevenindo o seu rebentamento aumentando assim a sua estabilidade (Reynolds, 2010).

#### 4.3.6 Etapa 6 - *Dégorgement* do vinho espumante

Terminada a segunda fermentação e o estágio em garrafa, é necessário proceder ao *dégorgement*. Este consiste na expulsão conjunta da cápsula, do *bidule* e do depósito de leveduras após formação de um cubo de gelo, sob o efeito da pressão interna. Para se efetuar este passo com o mínimo de perda possível, o gargalo da garrafa é congelado numa solução de monopropilenoglicol a  $-30^{\circ}\text{C}$  (Figura 21) (Cardoso, 2005).



Figura 21 – Equipamento para “*dégorgement*”

A utilização das leveduras encapsuladas, como já referido anteriormente, facilita a etapa de *dégorgement*, uma vez que a inversão da garrafa é suficiente para que em poucos segundos estas sedimentem no gargalo (figura 22) (Proenol, 2010).



Figura 22 - Garrafa de vinho espumante com leveduras encapsuladas.

É de extrema importância que o *dégorgement* seja realizado a baixas temperaturas, para evitar a perda excessiva do dióxido de carbono dissolvido no líquido.

Após o *dégorgement* a garrafa perdeu parte do seu volume e, por isso, será necessário fazer um atesto. Normalmente este atesto é feito com o mesmo vinho espumante de outras garrafas podendo, no entanto, ser adicionado um licor de expedição que lhe vai dar características próprias (Cardoso, 2005).

Este processo é feito com um equipamento semi-automático que realiza o *dégorgement* seguido do atesto com o licor de expedição.

#### 4.3.6.1 Inovação: alternativa ao monopropilenoglicol

O Instituto de Vinificação de Champanhe encontrou uma alternativa a este produto químico que consiste em fazer passar o gargalo da garrafa por um túnel de ar frio que é obtido através de um permutador de calor alimentado por azoto líquido entre  $-70^{\circ}\text{C}$  e  $-100^{\circ}\text{C}$  denominado “*Ecobac*”<sup>®</sup> (figura 23) (Charton, 2009).

Este sistema apresenta vantagens uma vez que reduz o consumo de água no enxaguamento das garrafas e reduz a quantidade de água contaminada pelo monopropilenoglicol. Cumulativamente o frio residual do “*Ecobac*”<sup>®</sup> é usado para arrefecer as paletes antes do *dégorgement* evitando uma libertação excessiva de vinho espumante aquando da abertura da garrafa (Charton, 2009).



Figura 23 - *Ecobac*<sup>®</sup>

(Fonte: [http://www.institut-oenologique.com/index.php?option=com\\_content&task=view&id=20&Itemid=550](http://www.institut-oenologique.com/index.php?option=com_content&task=view&id=20&Itemid=550))

## 4.3.7 Etapa 7 – Mistura do vinho com o licor de expedição

### 4.3.7.1 O licor de expedição

De acordo com o Regulamento (CE) N° 606/2009, entende-se por “licor de expedição” o produto adicionado aos vinhos espumantes que lhe vai conferir características gustativas especiais. O licor de expedição só pode conter: sacarose, mosto de uvas, mosto de uvas parcialmente fermentado, mosto de uvas concentrado, mosto de uvas concentrado retificado, vinho ou uma mistura destes produtos, eventualmente adicionados de destilado de vinho.

### 4.3.7.2 O açúcar no licor de expedição

A adição de açúcar ao licor de expedição vai permitir classificar o vinho espumante de acordo com o seu teor em açúcares, expresso em frutose e glucose, apresentado na tabela 10 (Regulamento (CE) N° 607/2009).

Tabela 11 - Indicação do teor de açúcares

Menções	Teor de açúcares (g/L)
<b>Bruto natural</b>	Inferior a 3
<b>Extra-bruto</b>	Entre 0 e 6
<b>Bruto</b>	Inferior a 12
<b>Extra-seco</b>	Entre 12 e 17
<b>Seco</b>	Entre 17 e 32
<b>Meio-seco</b>	Entre 32 e 50
<b>Doce</b>	Superior a 50

Fonte: Regulamento (CE) N° 607/2009

O Regulamento (CE) N° 606/2009, refere que o título alcoométrico volúmico adquirido dos vinhos espumantes de qualidade com denominação de origem protegida, incluindo o álcool contido no licor de expedição eventualmente adicionado, não pode ser inferior a 10 % v/v.

Complementando esta informação, a Portaria nº 212/2014, refere que os vinhos espumantes DO Bairrada devem apresentar um título alcoométrico volúmico adquirido mínimo de 11% v/v, e relativamente ao grau de doçura, só podem ser utilizadas as indicações tradicionais «bruto natural», «extra-bruto», «bruto», «seco» e «meio-seco».

A restante mistura contida no licor de expedição é sigilo de cada fabricante, sempre tendo em conta os requisitos legais, já referidos anteriormente.

### 4.3.8 Etapa 8 – Rolhagem

Após a adição do licor de expedição é colocada rolha, *muselet* e procede-se à rotulagem da garrafa e embalamento.

Há vários tipos de rolhas que podem ser utilizadas na produção de vinhos espumantes com diferentes características, as rolhas técnicas, as rolhas de cortiça aglomerada e as rolhas de microgranulado, estão entre as mais utilizadas, também existem rolhas / vedantes sintéticos, contudo pouco utilizados em Portugal (AdC, 2012).

A rolha técnica para vinhos espumantes é a mais utilizada, trata-se de uma rolha de qualidade superior que é produzida a partir de um corpo formado por aglomerado de grânulos de cortiça, ao qual, num dos topos são aplicados dois discos de cortiça natural selecionada que ficam em contacto com o vinho (é ideal para vinhos destinados a ser consumidos em geral num prazo de 2 a 3 anos). Estas rolhas são quimicamente estáveis e mecanicamente muito resistentes de forma a suportar as forças de inserção e extração necessárias. Têm também boa capacidade de vedação uma vez que mantêm a necessária concentração de SO<sub>2</sub> livre na garrafa evitando a oxidação prematura do vinho e o desenvolvimento de aromas desagradáveis (figura 23) (AdC, 2012).



*Figura 24 - Rolha de cortiça técnica para vinho espumante com 2 discos.*

(Fonte: <http://www.masilva.pt/>)

As rolhas para vinho espumante têm um diâmetro superior ao das rolhas dos outros vinhos, por forma a responder às elevadas pressões geradas pelo vinho espumante. No seu processo produtivo são vários os procedimentos para eliminar a contaminação química, microbiológica e física que possa afetar a qualidade do vinho (APCOR, 2015).

Após produção das rolhas e já na fase de acabamento, estas são submetidas a uma lavagem/desinfecção com um banho de água oxigenada ou ácido paracético que tem por objetivo de limpar/desinfetar as rolhas (existem também outros métodos como micro-ondas ou ozono). Posteriormente é estabilizado o teor de humidade o que leva a uma otimização

da performance da rolha como vedante, reduzindo assim também a contaminação microbiológica. É também feita uma colmatagem que consiste em obturar (“tapar”) os poros na superfície com uma mistura de pó de cortiça e tem por objetivo obter uma melhor vedação. Posteriormente a superfície da rolha é tratada com parafina ou silicone para facilitar quer a sua introdução na garrafa quer a sua posterior extração na altura do consumo (e também para melhoria do aspeto). Por fim as rolhas são embaladas em sacos de plástico com SO<sub>2</sub> – gás inibidor de desenvolvimento microbiano (APCOR, 2015).

Atualmente a Portaria N<sup>o</sup> 322/2015 no artigo 15<sup>o</sup>-A vem regulamentar as menções relativas ao tipo de vedante em cortiça utilizado nos produtos vitivinícolas engarrafados em território nacional a indicar no rótulo. Apesar de facultativa a sua indicação rege-se pelas seguintes regras:

- a) A cortiça deve representar mais de 50 % da matéria-prima presente no vedante;
- b) O fabrico do vedante de cortiça deve respeitar o Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR), devendo a empresa produtora do vedante estar certificada em conformidade com o Systecode, com certificação válida durante o ano em que o vedante foi produzido;
- c) Os engarrafadores e os operadores económicos responsáveis pela introdução dos produtos no mercado devem estar na posse de documento que assegure a rastreabilidade necessária à comprovação do cumprimento das alíneas anteriores.

Após aplicação da rolha é colocado o *muselet* em Portugal também conhecido por cabresto, um pequeno arame (figura 24) que tem a função de segurar a rolha de cortiça para que esta não seja expulsa com a pressão do gás.



*Figura 25 - Gargalo de garrafa com muselet*

Para finalizar são aplicadas as cápsulas de vinho espumante, que são produzidas em alumínio.

### 4.3.9 Etapa 9 - Rotulagem

De acordo com a Portaria N.º 239/2012, na rotulagem e apresentação do vinho espumante são obrigatórias as seguintes disposições:

- A expressão “engarrafador” ou “engarrafado por” que precede a indicação do nome ou a denominação social do engarrafador;
- Na rotulagem dos vinhos com DO ou IG e de vinho espumante de qualidade, referidos no nº 1 do artigo 1.º, a referência ao local de engarrafamento pode ser efetuada por uma das seguintes expressões, podendo, no caso dos vinhos espumantes, o termo “engarrafado” ser substituído por “preparado”, ou “Engarrafado na Adega Cooperativa”;
- A indicação do nome ou denominação social do engarrafador;
- A indicação do volume nominal deve ser efetuada em litros, centilitros ou mililitros e expressa em algarismos,
- A referência ao lote deve ser precedida da letra maiúscula “L”, seguida da identificação do lote e de modo a ser facilmente visível, claramente legível e indelével;
- A denominação de venda de acordo com o previsto na legislação aplicável;
- Indicação do país de origem;
- Indicação do título alcoométrico volúmico adquirido;
- As menções obrigatórias devem ser inscritas no mesmo campo visual, no recipiente, de modo a poderem ser lidas simultaneamente, sem necessidade de o rodar, e devem apresentar -se em caracteres indeléveis e distinguir – se claramente de outras indicações escritas.
  - Além das menções “Branco”, “Tinto”, “Rosado” ou “Rosé”, podem ser utilizados na sua rotulagem os seguintes designativos: “Branco de uvas brancas”, menção prevista para vinho branco e vinhos espumantes obtidos exclusivamente de uvas brancas;

Para além do cumprimento da legislação em vigor, a rotulagem a utilizar na região da Bairrada tem que ser aprovada pela CVB.

#### **4.3.10 Etapa 10 – Acondicionamento, armazenamento e expedição do vinho espumante**

Posteriormente as garrafas são colocadas em caixas, paletizadas, seguem para armazenamento e para posterior expedição para o cliente.

Uma vez satisfeitos todos os requisitos legais, o vinho espumante pode entrar no circuito comercial nacional ou internacional.

## V. Controlo analítico do vinho de base

Após efetuados os tratamentos enológicos, é necessário verificar a qualidade do vinho, não só através de análises físico-químicas mas também uma análise sensorial ao produto que deve apresentar prova organolética perfeita, sem oxidação, aroma limpo, fino e fresco (Carvalheira, 2008).

No artigo 120º do Regulamento (CE) nº 1234/2007, encontra-se a lista dos métodos de análise aplicáveis na verificação da observância dos limites e requisitos estabelecidos na regulamentação comunitária para a elaboração de produtos vitivinícolas.

Na tabela 11 encontram-se as análises habitualmente realizadas bem como os valores de referência legislados.

Tabela 12 – Valores de Referência para análise de vinho de base para espumante.

	Valores de Referência / Recomendações	Limites legais
<b>Álcool (v/v)</b>	Teor Alcoólico $\leq$ 11,5% (v/v) porque durante a segunda fermentação o teor alcoólico aumenta cerca de 1,2 a 1,5% (v/v). (Cardoso, 2005; Proenol, 2010)	$>$ 9% (v/v) (Regulamento (CE) N° 491/2009)
<b>Acidez Volátil (g/L)</b>	$\leq$ 0,50 g/L (expresso em ácido acético) (Cardoso, 2005)	Os limites do teor de acidez volátil em vinhos não podem exceder: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1,08 g/L no caso dos mostos de uvas parcialmente fermentados;</li> <li>• 1,08 g/L no caso dos vinhos brancos e dos vinhos rosados ou “rosés”;</li> </ul> (Regulamento (CE) nº 606/2009)
<b>Acidez Total (g/L)</b>	$>$ 7 g/L (Expresso em ácido tartárico) (Cardoso, 2005)	O vinho deve conter um teor de acidez total, expresso em ácido tartárico, não inferior a 3,5 gramas por litro. (Regulamento (CE) N° 491/2009)
<b>pH</b>	$\geq$ 3 (Proenol, 2010)	
<b>SO<sub>2</sub> Livre (mg/L)</b>	$<$ 15 mg/L (Proenol, 2010)	Esta determinação apesar de não ter limites legais, é pertinente uma vez que poderá afetar a fermentação.
<b>SO<sub>2</sub> Total (mg/L)</b>	$\leq$ 100 mg/L (Carvalheira, 2008)	
<b>Açúcar Residual (g/L)</b>	Adicionar ao vinho de base, 4g de açúcar por litro, o que originará sobrepressão de 1 bar a 10°C, logo para 6 bar de pressão - 24g/L. (Cardoso, 2005)	Esta determinação apesar de não ter limites legais, é pertinente uma vez que um excesso de açúcar irá provocar um aumento excessivo quer da pressão quer do teor alcoólico.
<b>CO<sub>2</sub></b>	Baixo teor (Carvalheira, 2008)	
<b>Azoto assimilável</b>	$\geq$ 100 mg/L (Proenol, 2010)	

## VI. Controlo analítico do vinho espumante

Concluída a produção do vinho espumante é necessário verificar a sua qualidade através de análises físico-químicas mas também uma análise sensorial ao produto final (Carvalheira, 2008).

Na tabela 12 encontram-se os parâmetros a ensaiar habitualmente realizados bem como os valores de referência legislados.

Tabela 13 – Valores de Referência para análise de vinho de base para espumante.

	Limites legais	
<b>Álcool (v/v)</b>	IG “Beira Atlântico”: Teor alcoométrico volúmico adquirido > 10 % (v/v); (Portaria nº 238-A/2011) DO Bairrada: Teor alcoométrico volúmico adquirido > 11% (v/v). (Portaria nº 212/2014)	
<b>SO<sub>2</sub> Livre (mg/L)</b>	O teor total de dióxido de enxofre dos vinhos espumantes não pode exceder, no momento da sua colocação no mercado para consumo humano direto:	
<b>SO<sub>2</sub> Total (mg/L)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 185 mg/L no caso de todas as categorias de vinho espumante de qualidade;</li> <li>• 235 mg/L no caso dos outros vinhos espumantes.</li> </ul> (Regulamento (CE) nº 606/2009)	
<b>Açúcar -&gt; glucose + frutose (g/L)</b>	Designação	Quantidade (g/L)
	Bruto Natural	Inferior a 3
	Extra Bruto	Entre 0 e 6
	Bruto	Inferior a 12
	Extra seco	Entre 12 e 17
	Seco	Entre 17 e 32
	Meio Seco	Entre 32 e 50
	Doce	Superior a 50
	(Regulamento (CE) Nº 607/2009)	
<b>Sobreprensão</b>	Superior ou igual a 3,5 bar à temperatura de 20°C. (Regulamento (CE) Nº 491/2009)	

Ambas as análises terão que ser realizadas em laboratório certificado, sendo que a CVB possui protocolo com três entidades onde essas análises poderão ser realizadas: laboratório de Química Enológica da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, o laboratório da Comissão Vitivinícola da Regional do Dão e o laboratório da Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes (CVB, 2013).

## VII. Conclusões

A elaboração dos vinhos espumantes vai muito além de um simples processo teórico. Todo o processo vinícola é um mundo bem particular e isto faz perceber que o vinho espumante é dotado de vida e por isso merece o maior cuidado e responsabilidade na sua elaboração.

Cuidado este que é tido desde as escolhas das castas até a elaboração do vinho espumante. Foi neste contexto que este trabalho se desenvolveu, foi possível compreender os processos de produção de vinhos espumantes brancos, percebendo cada etapa e a sua importância para a qualidade do vinho espumante.

De um modo geral os objetivos deste trabalho foram cumpridos, a maior dificuldade na realização deste foi a pouca informação disponível no nosso país sobre a produção de vinho espumante em geral.

Para obter um vinho espumante branco de qualidade é fundamental garantir a seleção de um bom vinho de base, garantir uma boa estabilidade deste e possibilitar um estágio sobre borras com condições adequadas de forma a obter um vinho espumante com características sensoriais distintas.

Este trabalho reuniu não só a informação pertinente encontrada em Portugal, como estudos publicados internacionalmente e que explicam de forma mais detalhada a produção deste tipo de vinho.

Conjugar todas estas informações com a legislação em vigor, é de extrema importância, não só para salvaguardar a qualidade do produto final, como para garantir a segurança do consumidor.

Um dos impedimentos para a produção de vinho espumante são os elevados custos de produção, faltou compreender se não existem alternativas que facilitem uma produção mais económica.

Foi possível perceber que há ainda muita investigação a realizar, principalmente no que diz respeito aos compostos existentes no vinho espumante, e se a utilização “excessiva” de produtos enológicos, não nos faz distanciar de um produto mais original e genuíno.

## Referências Bibliográficas

- AdC. (2012). Relatório final: Análise do sector e da fileira da cortiça em Portugal. Disponível em: [http://www.concorrenca.pt/vPT/Estudos\\_e\\_Publicacoes/Estudos\\_Economicos/Outros/Documents/AdC-Relatorio-Cortica\\_2012.pdf](http://www.concorrenca.pt/vPT/Estudos_e_Publicacoes/Estudos_Economicos/Outros/Documents/AdC-Relatorio-Cortica_2012.pdf), acessado em 10/05/2015
- Alexandre, H.; Guilloux-benatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine – a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*; Dijon; France, 119–127.
- APCOR. (2015). Rolhas de Champanhe. Associação Portuguesa de Cortiça.
- Cardoso, A. (2005). Tecnologia de vinhos espumantes. DRABL, Anadia.
- Carvalho, J. (2008). Elaboração de Vinhos Espumantes - Método Clássico. DRAPC - EVB.
- Centeno, F. (2014). Utilização de leveduras imobilizadas na produção de espumante. XII Jornadas Técnicas; Proenol/Academia Do Vinho Verde.
- Charton, D. (2009). L'azote liquide rend le champagne plus « vert ». *Les Echos* - França.
- Coimbra, M. (2013). Película de quitosana para a substituição do anidrido sulfuroso na produção de vinho espumante. Catálogo de Tecnologias FOOD I&DT - Folheto Alimentaria & Horexpo, Lisboa, p: 45.
- Coviello, T., Matricardi, P., Marianecci, C., & Alhaique, F. (2007). Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *Science Direct - Elsevier*, 119, 5–24.
- Cunha, Â. M. (2011). Desenvolvimento de filmes de quitosana com atividade antioxidante. Dissertação de Mestrado : Universidade de Aveiro, 102.
- CVB. (2009). Castas Brancas. Disponível em: <http://www.cvbbairrada.pt/pt/castas/castas/scripts/core.htm?p=castas&f=castas&lang=pt&idsec=131&idcont=137>; acessado em 12/03/2015
- CVB. (2013). Regulamento interno para a produção e comercialização de produtos vinicos com direito a DO “ Bairrada ” e a IG “ Beira Atlântico ”. Comissão Vitivinícola Da Bairrada - Versão 2, 1–22.
- Decreto-Lei n.º 212/2004. (2004). *Diário Da República*, 1.ª Série-A.
- Decreto-Lei n.º 301/2003 de 4 de Dezembro de 2003. (2003). *Diário Da República*- I Série-A, 8203–8207.
- Fani, M. (2013). Os alginatos e suas múltiplas aplicações. *Food Ingredients Brasil*, nº 26, 34–38.
- Gombotz, W. R., & Wee, S. F. (1998). Protein release from alginate matrices. *Elsevier - Advanced Drug Delivery Reviews*, 31, 267–285.

- HSU, J. C.; Heatherbell, D. A. (1987). Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 38, p. 6–10.
- ISO 11035:1994 - Sensory analysis -- Identification and selection of descriptors for establishing a sensory profile by a multidimensional approach. (2015).
- IVV. (2014). Dados estatísticos do Sector Vitivinícola. Disponível em: <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/estatistica>, acedido em 03/04/2015
- Jackson, R. S. (2014). *Wine Science - Principles and Applications (IV Edição)*. Elsevier, USA: 710-713.
- Liger-Belair, G. (2005). The physics and chemistry behind the bubbling properties of champagne and sparkling wines: a state-of-the-art review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2788–2802.
- Liger-Belair, G., Polidori, G., & Zéninari, V. (2012). Unraveling the evolving nature of gaseous and dissolved carbon dioxide in champagne wines: A state-of-the-art review, from the bottle to the tasting glass. *Analytica Chimica Acta*, 732, 1–15.
- Lista e descrição dos métodos de análise referidos no artigo 120º-G do Regulamento (CE) nº 1234/2007 do Conselho. *Jornal Oficial Da União Europeia*.
- Navarre, C. (2007). *Enologia: Técnicas de Produção do Vinho*. Publicações Europa-América.
- OIV. (2014). *The sparkling wine market*. International Organization of Vine and Wine. Paris; França.
- Pérez-Serradilla, J. a., & de Castro, M. D. L. (2008). Role of lees in wine production: A review. *Food Chemistry*, 111(2), 447–456.
- Portaria n.º 238-A/2011 de 16 de Junho. (2011). *Diário Da República*, 1.ª Série — N.º 115.
- Portaria n.º 239/2012. (n.d.). *Diário Da República*, 1.ª Série — N.º 154 — 9 de Agosto de 2012, 4284–4289.
- Portaria n.º 335/2015 de 6 de Outubro. (2015). *Diário Da República*, 1.ª Série — N.º 195, 8613.
- Portaria nº 193/2012 de 19 de Junho. (1982). *Diário Da República*, 1.ª Série — N.º 117, 43, 19–20.
- Portaria nº 322/2015. (2015). *Diário Da República*, 1.ª Série — N.º 28 — 10 de Fevereiro de 2015, 14, 944–954.
- Portaria nº 836/2004 (2ª série). (2004). *Diário Da República - II Série*, nº 173.

- Pozo-Bayón, M. Á., Martínez-Rodríguez, A., Pueyo, E., & Moreno-Arribas, M. V. (2009). Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 289–299.
- Pretorius, I. S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: Novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast*, 16(8), 675–729.
- Proenol. (2010). Proelif - Leveduras Encapsuladas - Ficha técnica, 2.
- REGULAMENTO (CE) N.º 479/2008 do conselho de 29 de Abril de 2008. (2008). *Jornal Oficial da União Europeia*. *Jornal Oficial Da União Europeia*, 93–98.
- Regulamento (CE) nº 1234/2007 do conselho, de 22 de Outubro de 2007. *Jornal Oficial Da União Europeia*.
- Regulamento (CE) Nº 491/2009 do conselho, de 25 de Maio, *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Regulamento (CE) nº 606/2009 da comissão de 10 de Julho que estabelece regras de execução do Regulamento nº 479/2008 do conselho, no que respeita às categorias de produtos vitivinícolas, às práticas enológicas e às restrições que lhes são aplicáveis. *Jornal Oficial Da União Europeia*.
- Regulamento (CE) Nº 607/2009 DA COMISSÃO de 14 de Julho de 2009 que estabelece normas de execução do Regulamento (CE) nº 479/2008 do Conselho no que respeita às denominações de origem protegidas e indicações geográficas protegidas, às menções tradicionais, *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Regulamento (UE) nº 1169/2011 do parlamento europeu e do conselho de 25 de outubro, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. *Jornal Oficial Da União Europeia*.
- Reynolds, A. G. (2010). *Managing wine quality: Oenology and wine quality (vol 2)*. Middlesex, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Silva, H., Santos, K., & Ferreira, E. (2006). Quitosana: Derivados Hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços (Revisão). In *Química Nova (Vol. 29, pp. 776–785)*.
- Simonaggio, D.; Lehn, D. N. (2014). Diferentes métodos para elaboração de vinho espumante. *Caderno Pedagógico, Lajeado*, v.11, n.1(2003), 78–90.
- Torresi, S., Frangipane, M. T.; Anelli, G. (2011). Biotechnologies in sparkling wine production. Interesting approaches for quality improvement: A review. *Food Chemistry*, 129(3), 1232–1241.