



INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Avaliação da componente sensorial da casta loureiro na região dos Vinhos Verdes

Ana Catarina Ventura Cravo

Relatório de Estágio Profissionalizante para obtenção do Grau de
Mestre em Agro-Pecuária

Júri:

Presidente: Doutor, Fernando Delgado, Professor adjunto, ESAC
Arguente: Mestre, Justina Franco, Professora adjunta, ESAC
Orientador: Doutora, Isabel Viana Andrade, Professora adjunta, ESAC
Co-orientador: Eng^o. Fernando José Leão Machado

Coimbra, 2015

Agradecimentos

Nunca conseguiria ter chegado até aqui sem o apoio de algumas pessoas. Antes de mais quero agradecer às pessoas mais importantes da minha vida, os meus pais, pelo apoio que sempre me deram, pela educação e valores que me inculcaram.

Das melhores coisas que levo da passagem pela Escola Superior Agrária são as amizades que fiz, foram seis anos memoráveis, com muitas peripécias memoráveis, em duas áreas diferentes em que aprendi muito.

Agradeço a todos que de uma maneira ou de outra participaram neste capítulo da minha vida.

Gostaria de agradecer à empresa – Quinta das arcas, por me ter dado a oportunidade de uma experiência única e um conhecimento ímpar em matéria de vinificação. Agradeço com especial apreço a ajuda prestada por todas as pessoas que participaram no meu estágio, ao meu coordenador Fernando Machado por ter aceite coordenar este estágio, pela disponibilidade manifestada no decorrer do mesmo e pela ajuda e sugestões apresentadas para a realização deste trabalho, ao Engenheiro Henrique Lopes pela paciência e ajuda dada ao longo de todo o tempo.

A todos os colegas da Quinta das arcas por me terem recebido tão bem, e por me fazem sentir parte desta família.

Um muito obrigado à Marisa Magalhães, orientadora, colega de casa, colega de viagens, uma verdadeira amiga.

Queria agradecer à minha orientadora interna, Isabel Andrade, da Escola Superior Agrária de Coimbra e a todos os Professores que ministraram este Mestrado, a quem dirijo os meus sinceros agradecimentos pela rica experiência laboral e pedagógica.

RESUMO

Neste trabalho pretendeu-se comparar as diferenças sensoriais em vinhos, produzidos na região dos vinhos verdes da casta Loureiro, com leveduras *Sachacomycetes* e não *Saccharomyces* associadas.

O ensaio decorreu no ano de 2013 numa vinha situada em Grandra, freguesia de Sobrado, pertencente à empresa Quinta das arcas.

Para avaliação dos efeitos sensoriais da aplicação de diferentes leveduras foram utilizadas três amostras distintas, em que duas foram inoculadas diferentes leveduras não *Saccharomyces* associadas a uma *Saccharomyces* e na terceira apenas uma levedura *Saccharomyces*. No fim do decorrer da fermentação foram feitas três análises sensoriais e retiradas conclusões.

Palavras-passe: Loureiro, leveduras, *Saccharomyces* e não *Saccharomyces*, análise sensorial.

ABSTRACT

This work is intended to compare the sensory differences in wines produced in the Vinho Verde region of Loureiro, with *Sacharomyces* yeast *Saccharomyces* and not associated.

The test took place in 2013 in a vineyard situated in Grandra, parish Sobrado, belonging to the Quinta das Arcas company.

For sensory evaluation of the effects of applying different yeasts were used three different samples were inoculated on two different *non-Saccharomyces* yeast *Saccharomyces* associated with the third and only *Saccharomyces* yeast. At the end of the course of the fermentation were made three sensory analysis and conclusions reached.

Keywords: Loureiro, yeast, *Saccharomyces* and *non-Saccharomyces*, sensory analysis

ÍNDICE

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	viii
I. INTRODUÇÃO	9
II. OBJECTIVOS	11
III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. Caracterização da região vitivinícola dos Vinhos Verdes	12
3.3. Compostos de aroma.....	18
3.3.1. Aroma varietal.....	19
3.3.2. Tios voláteis	19
IV. METODOLOGIAS	25
4.1. Campo de ensaio.....	25
4.2. Caracterização do material vegetativo	26
4.3. Controlo de maturação e determinação de época de vindima.....	27
4.4. Vindima	33
4.5. Análises foliares à colheita	34
4.6. Leveduras utilizadas	35
4.6.1. <i>Pichia kluyveri</i>	35
4.6.2. <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	37
4.6.3. QA 23	38
4.7. Metodologia do ensaio.....	39
4.7.1. Inoculação de Leveduras.....	39
4.8. Análise Sensorial	44
V. RESULTADOS e DISCUSSÃO	45
5.1. Estimativa de produção.....	45
5.2. Controlo de Maturação	45
5.3. Cinética Fermentativa	46
5.4. Análise sensorial	49
5.4.1. Primeira análise.....	49
5.4.2. Segunda análise.....	53

5.4.3. Terceira análise	55
VI. APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS À COMUNIDADE	59
VII. CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
IX. Anexos	64
Anexo I – Protocolos da empresa utilizados nas análises químicas	65
Anexo II – Modelo de Provas sensoriais da CVRVV	69
Anexo III – Apresentação nas XI Jornadas Técnicas da CVRVV	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração das sub-regiões dos Vinhos Verdes fonte: CVRVV	14
Figura 2 – Exemplificação da colheita em zig-zag.....	17
Figura 3 Ilustração dos locais onde são sentidos os sabores básicos na língua humana	24
Figura 4- Parcela onde decorreu o ensaio, coordenadas 41.221602, -8.443585 Fonte: Googlemaps	25
Figura 5 – Cacho da casta Loureiro	26
Figura 7 – Colheita de bagos	29
Figura 8 – À esquerda pesagem dos bagos com pedicelo e à direita pesagem dos bagos sem pedicelo	30
Figura 9 - Volume dos bagos.....	31
Figura 10 - Secagem dos bagos	31
Figura 11 – À esquerda esmagamento dos bagos e à direita mosto obtido	32
Figura 6- Exemplificação de marcação feita para controlo de maturação	33
Figura 12 - Forma de venda da levedura <i>Pichia Kluyveri</i>	36
Figura 13 – À esquerda Pesagem das uvas e colheita de amostra, à direita recepção da uva no tegão.....	40
Figura 14 - Desengaçador.....	41
Figura 15 - Prensas pneumáticas	41
Figura 16- Flutuador.....	42
Figura 17 - Hidratação da QA23	43

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Principais tióis voláteis e seus descritores.....	20
Tabela 2- Resultados das análises feitas à floração	34
Tabela 3- Características nutricionais foliares à colheita	35
Tabela 4 - Classificação taxonómica da levedura <i>Pichia Kluyveri</i>	36
Tabela 5 - Classificação taxonómica da levedura <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	38
Tabela 6 - Classificação taxonómica da levedura QA23.....	38
Tabela 7- Estimativa de produtividade	45
Tabela 8 - Evolução da maturação	46
Tabela 9 – Cinética fermentativa da amostra aplicada a <i>Pichia kluyveri</i> + QA23.....	47
Tabela 10- Cinética fermentativa da amostra aplicada a <i>Metchinikowia pulcherima</i> + QA23	47
Tabela 11- Cinética fermentativa da amostra aplicada a levedura <i>Saccharomyces</i> – QA23	48
Tabela 12 – Análise química de final de fermentação.....	49
Tabela 13- Avaliação do aspecto na primeira análise sensorial	50

Tabela 14 -Avaliação Olfactiva na primeira análise sensorial	51
Tabela 15 -Avaliação gustativa na primeira análise sensorial.....	51
Tabela 16 - Análises químicas efetuadas na primeira análise sensorial	52
Tabela 17 - Avaliação olfactiva na segunda sessão de análise sensorial.....	53
Tabela 18 -Avaliação gustativa na segunda análise sensorial	54
Tabela 19 - Análises químicas efetuadas na segunda análise sensorial	54
Tabela 20- Avaliação do aspecto na terceira sessão de análise sensorial.....	55
Tabela 21- Avaliação olfactiva na terceira sessão de análise sensorial.....	56
Tabela 22- Avaliação gustativa na terceira análise sensorial	57
Tabela 23 Análises químicas efetuadas na segunda análise sensorial -	57

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

DOC - Denominação de Origem Controlada

DO - Denominação de Origem

CVRVV – Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes

I. INTRODUÇÃO

Inserida na economia de produção do neolítico, a cultura da vinha tem uma história ligada à vida do homem, tanto a nível económico como cultural. Tal como o trigo a cultura da videira é uma das mais antigas.

Desde os tempos mais remotos, o vinho tem vindo a desempenhar um papel de relevo em quase todas as civilizações. "Fruto da videira e do trabalho do Homem", nenhum outro produto agrícola é ultrapassado por ele pois, aliado ao fruto tem o seu precioso néctar. [<http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/91.html>]

Embora as dúvidas sejam muitas, pensa-se que a vinha terá sido cultivada pela primeira vez em Portugal cerca de 2000 anos a.C. no vale do Tejo e Sado, pelos Tartessos. Julga-se que estes habitantes estabeleciam negociações comerciais com outros povos, permutando diversos produtos, entre os quais o precioso néctar. [<http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/91.html>]

É de salientar o papel da Igreja católica na difusão da vinha e do vinho. Consagrou o pão e também, o vinho passando este a fazer parte do ritual sagrado da missa. Com a necessidade de obterem sempre o chamado vinho de missa os monges tornaram-se, durante a Idade Média, os grandes impulsionadores e mestres da cultura da videira e fabrico de vinho. Durante o domínio dos mouros na Península Ibérica, a cultura da vinha e o fabrico do vinho foram muito prejudicados, pelo facto do islão proibir o consumo de álcool.

No início da Nacionalidade já a produção e o comércio do vinho mereceram, por parte dos monarcas, especial atenção manifestada em doações, testamentos, Cartas régias e cartas de foral. Os Reis D. Dinis e D. Fernando protegeram o comércio do vinho pois este era um dos produtos mais exportados para o norte da Europa e um factor dinâmico de uma economia monetária e de uma burguesia em expansão. Sempre presente como vector dinâmico da nossa economia, Portugal possui a região demarcada mais antiga do mundo. Foi em 1756 que o Marquês de Pombal denominou como Região Demarcada o Alto Douro.

A vinificação é o conjunto de processos que transformam o bago de uva no precioso néctar. As uvas utilizadas na produção de vinho assim como, os métodos utilizados na transformação destas têm uma relação crítica com o produto final. Ao longo dos tempos foram inúmeras as inovações presenciadas nos equipamentos utilizados na transformação, bem como nos produtos utilizados.

A complexidade aromática é um parâmetro da vinificação que assume cada vez mais importância e a utilização de *Saccharomyces* como única estirpe nem sempre conduz aos efeitos mais desejados. Este é um dos motivos, que levaram os investigadores a mostrarem grande interesse pela diversidade da flora presente no bago, não se centrando apenas na *Saccharomyces cerevisiae*. Uma parte não negligenciável da tipicidade aromática dos vinhos deverá ser atribuída às outras espécies de leveduras *Saccharomyces* ou *não-Saccharomyces* que se desenvolvem ou não no início da fermentação espontânea dos mostos (Salmon, 2006).

No tempo que corre inovação é a palavra de ordem e, indo de encontro as necessidades/gostos dos consumidores, torna-se bastante importante para as empresas corresponderem às expectativas dos consumidores e criar produtos mais diferenciados no mercado. Visto que os consumidores procuram vinhos cada vez mais aromáticos, a empresa Quinta das Arcas propôs-se fazer um estudo que será aqui descrito com aplicação de leveduras *não-Saccharomyces* associadas a *Saccharomyces* em vinhos da casta Loureiro e que foi objecto deste estágio.

II. OBJECTIVOS

A necessidade de ir ao encontro do que os consumidores cada vez mais procuram, ou seja, vinhos com maior complexidade aromática e mais tiólicos e das pressões causadas pelas empresas de leveduras que apresentam produtos inovadores com perspectivas de resultados diferenciados das ora existentes no mercado levou-nos a encetar este estudo.

O nosso principal objectivo foi, estudar as diferenças sensoriais obtidas em vinhos a partir da casta Loureiro com diferentes leveduras fermentativas *Saccharomyces* e não *Saccharomyces* associadas.

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Caracterização da região vitivinícola dos Vinhos Verdes

Em Portugal, o conceito jurídico de região Demarcada deve-se a Marquês de Pombal, com a delimitação da Região demarcada do Alto Douro no século XVII. As regiões demarcadas são, portanto, zonas de lavoura estanques, abrangidas por legislação própria para defesa e promoção da produção vinícola inconfundível de cada uma delas.

As regiões Vitivinícolas, bem como os produtores estabeleceram o sistema de Denominação de Origem Controlada (DOC) após a entrada de Portugal na Comunidade Europeia em 1986.

As Demarcações criadas em Portugal são as seguintes:

- Vinhos Verdes;
- Trás-os-Montes;
- Douro;
- Bairrada;
- Dão;
- Beira Interior, Távora-Varosa e Lafões;
- Lisboa;
- Tejo;
- Península de Setúbal;
- Alentejo;
- Algarve;
- Madeira;
- Açores

Este trabalho foi executado na região dos Vinhos Verdes, *‘Onde predominam as tonalidades verdes da vegetação exuberante típica de uma região com bastante humidade. Contudo, o nome Vinhos Verdes não se deve apenas ao meio envolvente onde crescem as vinhas: é nesta região que se produz um vinho tipicamente acidulo, leve, medianamente alcoólico e de óptimas propriedades digestivas.’*
[<http://www.infovini.com/pagina.php?codNode=3889>]

Vários autores defendem que a designação desta região se deve à acidez e à frescura características do vinho verde e que fazem lembrar os frutos ainda verdes. Outros afirmam que a origem "Verde" explica-se pelo facto do vinho ser produzido numa região muito rica em vegetação e por isso, muito "verde" mesmo no Inverno. [<http://www.infovini.com/pagina.php?codNode=3889>]

Esta é a maior região vitícola Portuguesa e situa-se no Nordeste do País, tendo como fronteiras a norte o rio Minho, a nascente e a sul zonas montanhosas que constituem a separação natural entre o Entre-Douro-e-Minho Atlântico e as zonas do país mais a interior de características Mediterrânicas, e finalmente o Oceano Atlântico a poente.

A riqueza desta região não se limita às Denominação de Origem (DO), apresenta outras potencialidades, sendo uma delas a exploração dos Vinhos Regionais Minho - Indicação Geográfica (IG). Estes vinhos pretendem, também, alcançar grandes níveis de qualidade, tendo a possibilidade de apresentar características físico-químicas e sensoriais diferentes ou de serem elaborados com outras castas [<http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/75>]

A Portaria nº 28/2001, de 16 de Janeiro *Reconhece as sub-regiões da área geográfica de produção de vinhos com direito à denominação de origem «Vinho Verde». Sendo elas:*

- **Sub-região de Amarante** - integra os concelhos de Amarante e Marco de Canavezes.
- **Sub-região do Ave** - integra os concelhos de Vila Nova de Famalicão, Fafe, Guimarães, Santo Tirso, Trofa, Póvoa de Lanhoso, Vieira do Minho, Póvoa de Varzim, Vila do Conde e o concelho de Vizela, com excepção das freguesias de Vizela (Santo Adrião) e Barrosas (Santa Eulália);
- **Sub-região de Baião** - integra os concelhos de Baião, Resende (excepto a freguesia de Barrô) e Cinfães (excepto as freguesias de Travanca e Souselo);
- **Sub-região de Basto** - integra os concelhos de Cabeceiras de Basto, Celorico de Basto, Mondim de Basto e Ribeira de Pena;
- **Sub-região do Cavado** - integra os concelhos de Esposende, Barcelos, Braga, Vila Verde, Amares e Terras de Bouro;
- **Sub-região do Lima** - integra os concelhos de Arcos de Valdevez, Ponte da Barca, Ponte de Lima e Viana do Castelo;

- **Sub-região de Monção e Melgaço** - integra os concelhos de Melgaço e Monção;
- **Sub-região do Paiva** - integra o concelho de Castelo de Paiva e as freguesias de Travanca e Souselo do concelho de Cinfães;
- **Sub-região do Sousa** - integra os concelhos de Paços de Ferreira, Paredes, Lousada, Felgueiras, Penafiel e no concelho de Vizela as freguesias de Vizela (Santo Adrião) e Barrosas (Santa Eulália).

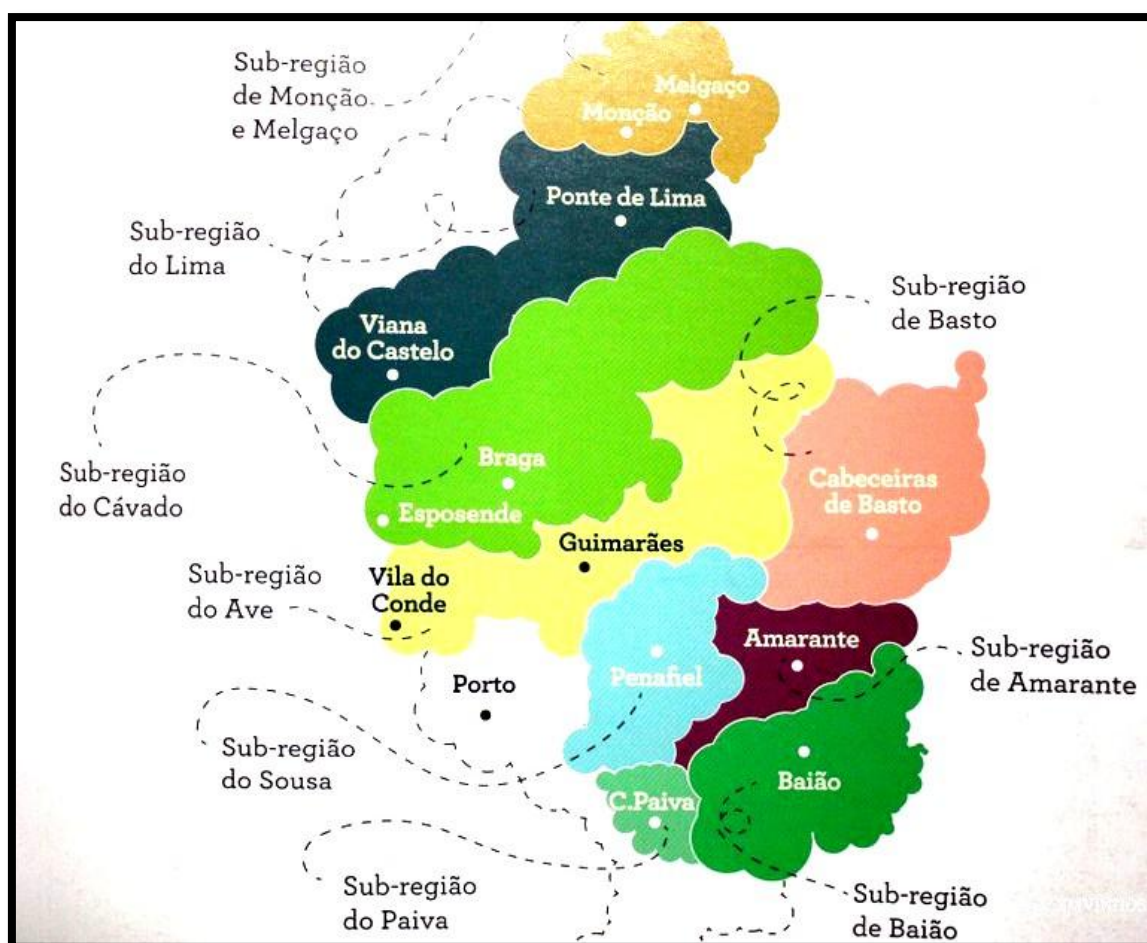


Figura 1 - Ilustração das sub-regiões dos Vinhos Verdes fonte: CVRVV

As principais castas desta bela região para a vinificação de brancos são:

- **Alvarinho:** uma das mais nobres castas portuguesas, é cultivada particularmente na sub-região de Monção, onde exprime todo o seu potencial. Origina vinhos

com graduações alcoólicas elevadas e acidez muito equilibrada, cor intensa, palha com reflexos citrinos, aroma complexo (frutos tropicais, frutos secos e um carácter floral subtil) e sabor distinto, harmonioso e persistente [<http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Alvarinho>].

- **Loureiro:** a casta branca com mais expressão na Região, estando mais adaptada às zonas litorais. Os vinhos apresentam cor intensa, palha aberta, aroma fino e elegante, desde o frutado ao floral, e sabor vivo e elegante [<http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Loureiro>].
- **Arinto:** Predomina em toda a Região, mas atinge o seu mais elevado nível de qualidade nas zonas interiores. Os vinhos apresentam uma cor citrina a palha, com aroma frutado e sabor fresco e agradável [<http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Pedern%E3>].
- **Trajadura:** casta de qualidade cultivada em quase toda a Região. Dá origem a vinhos de cor intensa, palha, aroma intenso a frutos de árvore maduros e sabor complexo e macio, devido ao seu natural baixo teor de acidez [<http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Trajadura>].

Para a vinificação de tintos o Vinhão, é a casta por excelência na região, conquistada pela sua qualidade e por ser a única casta regional tintureira. Os vinhos têm cor intensa, aroma complexo e encorpado.

O Espadeiro é a principal casta utilizada para vinificações de rosé, originando vinhos de cor rosada a rubi, com aroma frutado e sabor fresco.

3.2. Controlos de evolução de maturação e a sua importância enológica

Para garantir a produção de um vinho de qualidade, é necessário conhecer a composição química e física da uva ao longo da maturação e, em particular, o tempo que antecede a vindima. Para acompanhar a evolução do bago recorre-se ao controlo de maturação.

Este acompanhamento é de extrema importância quer na determinação correta da data de vindima e da ordem com que as castas são vindimadas nas diferentes parcelas da exploração quer para termos conhecimento da composição do mosto, a fim de lhes adaptar a técnica de elaboração do vinho, e eventualmente, efectuar alguma correcção necessária (acidificação, desacidificação, etc.)

As principais análises executadas são:

- Peso dos bagos
- Álcool provável
- Acidez total
- pH

Este controlo consiste na colheita de bagos, seguida de pesagem e análise físico-química.

Esta colheita de bagos segue protocolo e seguinte metodologia:

- Marcam-se duas linhas na parcela e a colheita é feita em zig-zag (figura 2), evitando as cepas da bordadura.

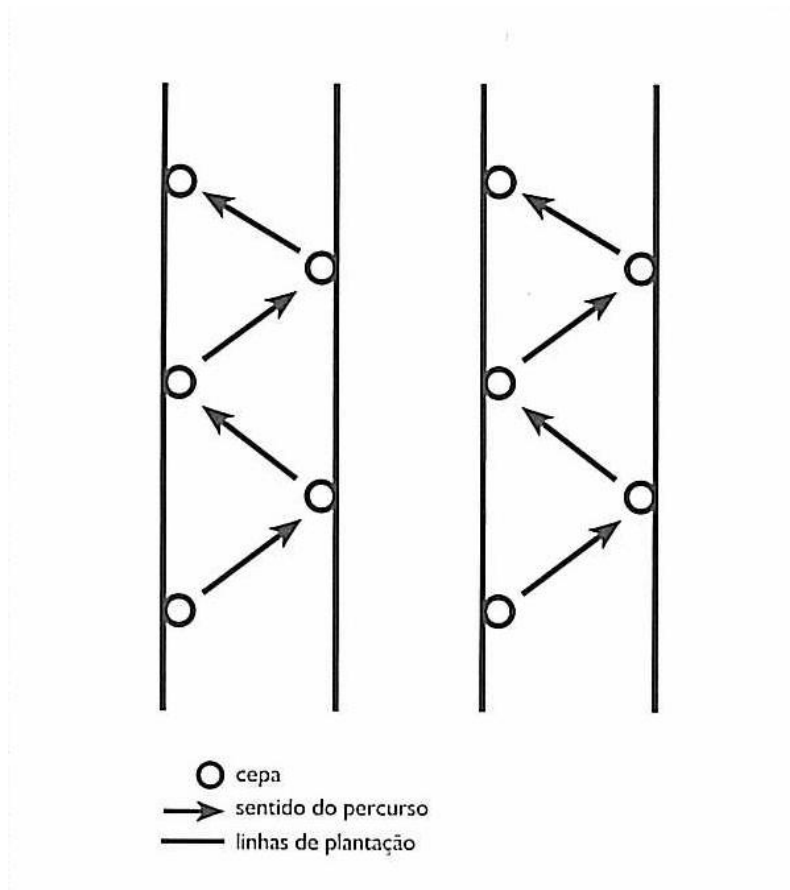


Figura 2 – Exemplificação da colheita em zig-zag

Em cada cepa escolhe-se ao acaso um cacho e desse cacho colhem-se ao acaso alguns bagos (da extremidade ou da base). Os bagos colhidos são colocados num saco de material inerte e colocados em caixas frigoríficas.

3.3. Compostos de aroma

O aroma do vinho é para a maioria dos consumidores o factor determinante no seu consumo e constitui uma das mais relevantes características de qualidade e tipicidade dos vinhos.

O aroma do vinho traduz, a sensação recebida pelo cérebro quando o epitélio olfactivo é atingido por uma fracção de moléculas que se vaporizou no copo – via nasal directa – ou em contacto com a boca – via retronasal (Dubourdieu, 1988). Por conseguinte, a intensidade de uma sensação olfactiva não depende somente da concentração desse componente na fase líquida mas também da sua volatilidade, da sua pressão de vapor e do seu limiar de percepção olfactivo (Meilgaard et al., 1999).

Os aromas classificados conforme a sua origem, podem apresentar quatro categorias:

Aroma varietal - característico da cepa, e depende essencialmente do tipo de solo, clima, estado sanitário e grau de maturação da uva.

Aroma pré-fermentativo - revelado durante o processamento da vindima e das operações subsequentes nomeadamente, transporte, prensagem, maceração e clarificação.

Aroma fermentativo - originado pelas leveduras durante a fermentação alcoólica e depende da sua condução, nomeadamente da temperatura e da estirpe de levedura utilizada. No caso de ter lugar uma fermentação maloláctica podem ser, também, originados compostos deste grupo pelas bactérias lácticas.

Aroma pós-fermentativo - resulta de transformações ocorridas durante a conservação e envelhecimento do vinho, e é caracterizado por um conjunto de reacções físico-químicas de oxidação e de redução dos compostos existentes no vinho jovem.

De entre os compostos que constituem a mistura complexa que é o vinho, apenas as substâncias voláteis são capazes de estimular os órgãos sensoriais responsáveis pelo olfacto. São moléculas de pequeno tamanho, de hidrofobicidade média e peso molecular compreendido, geralmente, entre 30 e 300 g/mol (Morrot e Brochet, 2000).

3.3.1. Aroma varietal

O potencial de aroma do bago está relacionado com uma grande multiplicidade de compostos presentes em diversas formas.

O aroma varietal pode não ser directamente reconhecível na uva, como é o caso dos moscatéis e somente revelar-se no decorrer da fermentação e conservação do vinho. Isto permite explicar o facto de castas neutras como a Cabernet Sauvignon, a Sauvignon Blanc ou a Chardonnay originarem vinhos aromáticos com características particulares, indissociáveis da variedade (Ribéreau-gayon et al., 2000).

Na película, assim como em todo o bago, os compostos responsáveis pelo aroma encontram-se na forma livre, volátil e odorante, e na forma glicosidicamente ligada, não volátil e odorante. Estes glicosídeos são designados como precursores de aroma. Os precursores são sobretudo substâncias não voláteis como glicosídeos, ácidos fenólicos, ácidos gordos e conjugados de cisteína capazes de originar compostos aromáticos pela acção de certas enzimas específicas. (Buettner, A.; Schieberle, P. 1999)

As substâncias voláteis livres e odorantes mais estudadas do aroma varietal são os terpenóides, em particular os monoterpenóis, como o linalol e o geraniol, com aroma a rosa, característicos das castas Moscatel e outras castas brancas como por exemplo a Maria Gomes e a casta em estudo Loureiro (Cardoso, 2007).

3.3.2. Tios voláteis

Vulgarmente chamados de tióis voláteis ou mercaptanos, os compostos enxofrados possuem grupo químico S-H. Possuem alta volatilidade e reactividade e são, em norma, poderosos odorantes mesmo a baixas concentrações. (Rauhut, D. 1993).

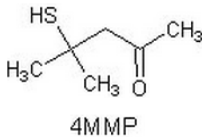
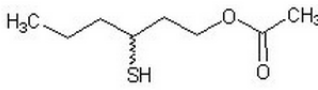
Normalmente associa-se uma conotação negativa ao cheiro originado pelos compostos sulfurados. No entanto, foram identificados em vinhos alguns compostos desta família química com propriedades aromáticas interessantes, quer por apresentar um limiar de percepção extremamente baixo, quer pelos descritores de aroma a eles associados. (DARRIET et al., 1991).

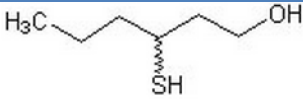
No decorrer das últimas duas décadas, foram executados variadíssimos trabalhos com vista a identificar os aromas associados a compostos de enxofre (tióis). A maioria destes compostos são considerados como prejudiciais para o aroma de vinhos brancos. No entanto, alguns dos compostos dão origem a “nuances” de aromas agradáveis, sendo estes considerados como aromas varietais.

Estes aromas são tidos como varietais porque resultam da divisão de precursores inodoros, presentes nas uvas ou mostos, pelas leveduras durante a fermentação alcoólica.

O interesse na contribuição dos tióis varietais em vinhos jovens tem crescido consideravelmente nas últimas décadas. Os tióis considerados mais importantes pela sua contribuição aromática (Tabela 1) são o 4-mercapto-4-metil-2-pentanona (4MMP), o acetato de 3-mercaptohexilo (A3MH) e 3-mercapto-1-hexanol (3MH). Tendo como descritores mais comuns: espargos, relva, físalis, buxo, giesta, gomos de cassis, eucalipto, toranja, maracujá (TOMINAGA ET AL., 2000).

Tabela 1 - Principais tióis voláteis e seus descritores

Tióis voláteis	Esquema químico	Descritor
4-mercapto-4-metil-2-pentanona	 <p>4MMP</p>	<p>Buxo</p> <p>Cassis</p> <p>Eucalipto</p> <p>Relva</p>
Acetato de 3-mercaptohexilo	 <p>3MHA</p>	<p>Maracujá</p> <p>Toranja</p>

3-mercapto-1-hexanol		Maracujá
	3MH	Toranja
		Casis

Através de reacções enzimáticas as leveduras libertam precursores aromáticos durante a fermentação. Os substratos desta reacção são vários tipos de compostos precursores que existem na uva ou mosto, os S-conjugados da cisteína, conjugados da glutatona e o (E)-hexen-2-al entre outros ainda não identificados (Murat et al., 2001; Subileau et al., 2008).

3.4. Leveduras

Tradicionalmente, a fermentação alcoólica durante o processo de vinificação era assegurada pelas populações indígenas, nas quais a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é amplamente dominante. Contudo, nos últimos anos a tendência é a generalização da inoculação de uma estirpe pura sob a forma de Levedura Seca Activa para melhor controlar as fermentações e evitar incidentes organolépticos (Salmon, 2006).

O processo tradicional de obtenção de vinho, fermentação natural (espontânea) do mosto de uva é realizado por uma sequência de diferentes espécies de leveduras.

Inúmeras leveduras, *não-Saccharomyces cerevisiae*, como as do género *Kloeckera*, *Candida*, *Hansenula*, *Hanseniospora*, *Pichia*, *Zigossacharomyces*, entre outras, fazem parte da microflora da uva e podem iniciar a fermentação (HEARD, G.M. et al., 1986).

As leveduras do vinho apresentam uma grande diversidade e podem ser considerar-se três grupos:

- Leveduras fortemente fermentativas, com capacidade para produzir grandes quantidades de etanol dando origem a fermentações completas;
- Leveduras fracamente fermentativas que produzem quantidades baixas de etanol;
- Leveduras de degradação.

Tal como foi dito anteriormente, no início da fermentação alcoólica existe no mosto uma mistura de populações de leveduras normalmente constituída por *Saccharomyces*, *Kloeckera*, *Candida*, *Hansenula*, *Hanseniospora*, entre outras. Devido a um processo de selecção fortemente influenciado pelas condições ambientais (SO₂, etanol, acidez, temperatura de fermentação) a levedura *Saccharomyces cerevisiae* torna-se dominante.

As espécies não *Saccharomyces* carecem de competitividade em condições enológicas uma vez que não são suficientemente fortes para a realização da fermentação (Schuller, 2006). Apesar de só participarem no início da fermentação, produzem compostos de aroma que têm grande contribuição para a qualidade sensorial do vinho (Mamede, 2004).

São menos resistentes ao etanol e morrem no terceiro ou quarto dia de fermentação.

3.5. Análise Sensorial

Numa prova de análise sensorial utiliza-se a visão, o olfacto e o paladar.

3.5.1. Visão

Numa prova de vinhos começa por se observar o aspecto do vinho e os parâmetros visuais considerados são a cor, a limpidez, a fluidez (também chamada de lágrima) e a efervescência.

A **cor** é a primeira distinção do vinho e pode fornecer informação sobre o corpo, a idade e a estrutura. Se a cor for forte, profunda e concentrada provavelmente o vinho será forte, áspero e rico em substâncias taninas. Se pelo contrário, a cor for débil e aberta o vinho é ligeiro e fácil de boca.

A **limpidez** é caracterizada pela presença de partículas em suspensão.

A **fluidez** é a referência para a viscosidade. Quando se agita o vinho no copo escorregam gotas pelas paredes, e são conhecidas pela 'lágrima' do vinho. Isto ocorre devido à condensação produzida pela evaporação do álcool.

A **efervescência** que pode ser natural ou induzida está directamente ligada ao gás carbónico. A efervescência e a correspondente formação de espuma providência algumas pistas da qualidade da fermentação ou gaseificação do vinho. Quanto mais fina

for a bolha, melhor terão sido as condições em que o vinho foi submetido para a formação deste gás.

3.5.2. Olfacto

É no centro do sentido do olfacto que radica o núcleo olfactivo, que está situado no cimo das fossas nasais. O núcleo olfactivo estimula-se através de moléculas odoríferas no estado gasoso por duas vias diferentes: o nariz e a boca. Inspira-se pelo nariz as moléculas odoríferas, que se propagam pelas fossas nasais através da longitude do nariz até, chegarem ao núcleo olfactivo. As moléculas odoríferas percorrem também a boca, pela garganta chegando ao nariz e ao núcleo olfactivo, a isto, chama-se “retro nasal” (Venâncio, 2012).

Este sentido é o grande responsável pela definição de se gostar ou não da amostra, ou seja, se não se gostar do aroma dificilmente se gosta do paladar. O olfacto é o sentido de alerta, a sensibilidade olfactiva é superior à do gosto.

Tal como referido em 3.3, os aromas são classificados conforme a sua origem, podendo ser classificados em quatro categorias: varietal, pré-fermentativo, fermentativo e pós-fermentativo.

3.5.3. Paladar

Regra geral, o paladar é o sentido da confirmação do que se cheira. Os órgãos receptores gustativos são as papilas gustativas. Uma substância só tem sabor se for solúvel na saliva.

Existem vários tipos de papilas, caliciformes ou circunvaladas, fungiformes e filiformes ou papilas tácteis, que se distribuem em determinadas zonas da língua. É por isso que cada um dos sabores básicos, doce, salgado, amargo, ácido e umami (figura 3) se intensificam numa determinada parte da língua (Venâncio, 2012).

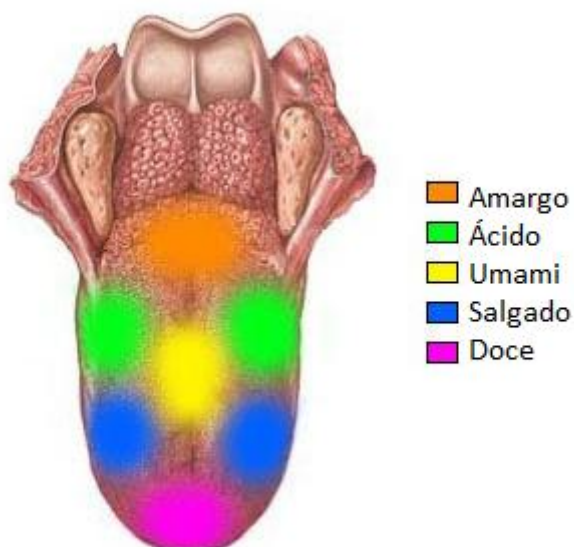


Figura 3 Ilustração dos locais onde são sentidos os sabores básicos na língua humana

Fonte: http://3.bp.blogspot.com/-TDG9dTA0_c0/UE9UVeEk9JI/AAAAAAAAAGh0/h4DDlkKK200/s400/4.jpg

A **textura** é a sensação de contacto que produz a fluidez e a untuosidade na boca conforme a sensação geral de todos os seus componentes.

A **adstringência** reconhece-se através da impressão de secura, rugosidade e aspereza da boca. Esta sensação é essencialmente encontrada nos vinhos tintos.

A **acidez** é a sensação que está em íntima relação com a frescura, é uma componente importante do seu equilíbrio e da sua longevidade. As sensações ácidas mais comuns são a frescura, a dureza e a verdura.

O **corpo** é o conjunto das sensações que o vinho produz no paladar, devido por um lado à sua corpulência e graduação alcoólica, e por outro devido à consistência do líquido e da intensidade dos seus gostos palatais (Venâncio, 2012).

IV. METODOLOGIAS

4.1. Campo de ensaio

O ensaio decorreu numa parcela de vinha da empresa Quinta das Arcas situada na freguesia de sobrado, na Quinta da Gandra (Figura 4).

O clima nesta região onde a vinha está instalada, é influenciado pelas brisas marítimas do Oceano Atlântico apresentando temperaturas amenas durante todo ano. Os níveis de precipitação são elevados e mesmo no Verão os valores podem ser significativos. [<http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/default.asp>]

O solo é xisto-argiloso, pouco ácido (pH 6), de textura média e quantidade de matéria orgânica média.

A vinha, plantada em 1999, é conduzida em cordão bilateral ascendente, possui em 5 hectares a casta mais representativa da região o Loureiro enxertado no porta-enxerto 1103P, possui um compasso de 2,60x1,40m. Quanto à poda é feita em sistema ascendente com cordão bilateral.



Figura 4- Parcela onde decorreu o ensaio, coordenadas 41.221602, -8.443585 Fonte: Googlemaps

4.2. Caracterização do material vegetativo

O ensaio foi executado na casta branca Loureiro (figura 5), tal como foi referido anteriormente é a que tem mais expressão na Região dos Vinhos Verdes e é de grande valor na empresa, com aromas muito nobres de composição terpénica, originária do vale do rio Lima é possível encontra-la em toda a região pois é muito produtiva dando origem a vinhos harmoniosos e saborosos com aroma acentuado.

[<http://www.infovini.com/classic/pagina.php?codPagina=45&codCasta=3&flash=1>]



Figura 5 – Cacho da casta Loureiro

O cacho é grande, às vezes médio, cilíndrico-cónico e não muito compacto, com pedúnculo de comprimento médio e lenhificação média.

O bago é de tamanho médio e uniforme; arredondado, às vezes ligeiramente achatado e de cor verde amarelada; a película, de espessura média e hilo pouco aparente, possui

pruína; a polpa é mole, succulenta e de sabor especial; o pedicelo tem comprimento médio e é de fácil separação (Bohn, Jorge).

4.3. Controlo de maturação e determinação de época de vindima

Tal como já foi referido anteriormente para acompanhar o desenvolvimento do bago recorre-se ao controlo de maturação.

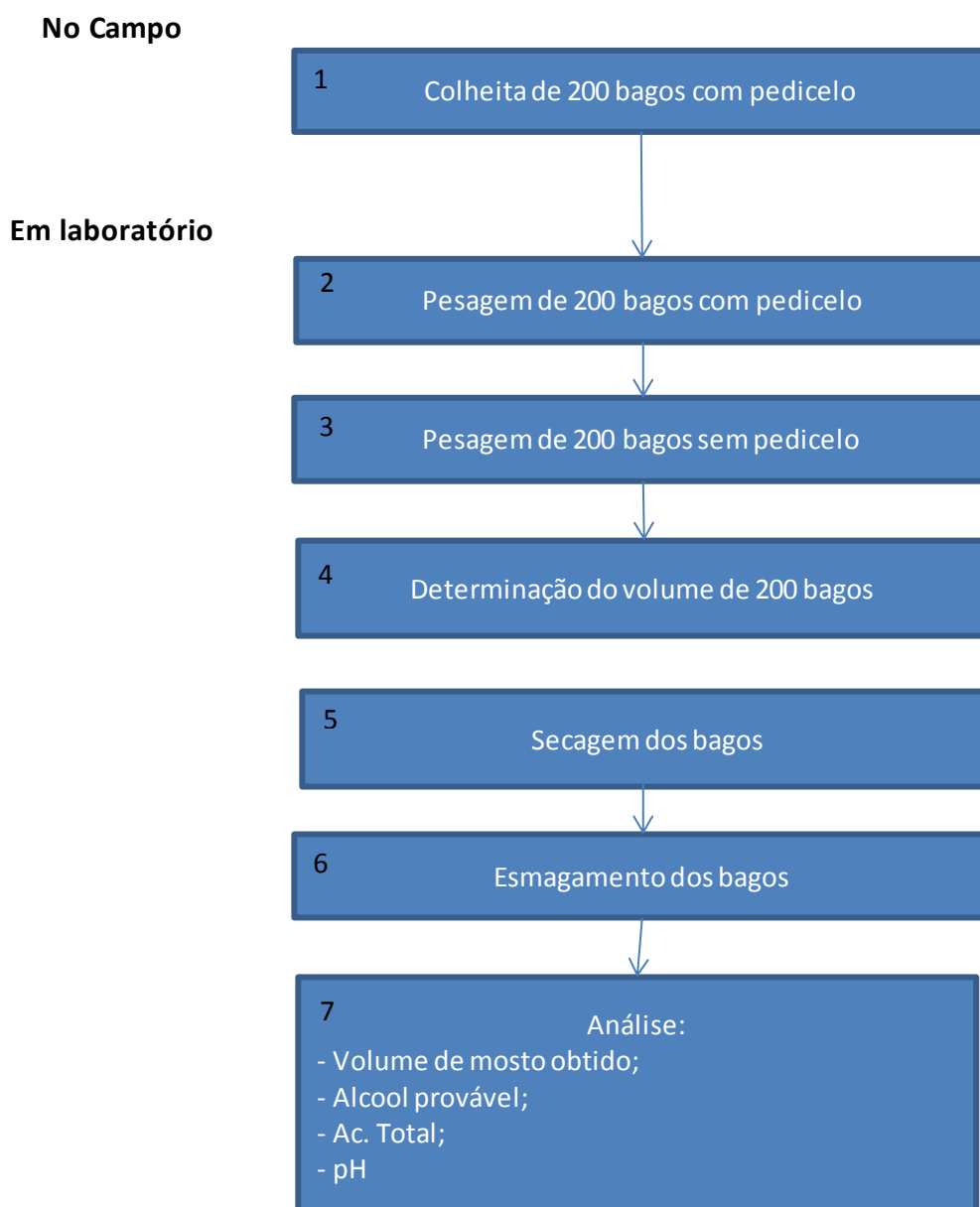
Os dados do controlo de maturação executados ao longo deste estudo serão apresentados de duas formas, uma vez que foi feito um controlo interno na Quinta das arcas e um controlo executado em parceria com a Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes (a colheita era da responsabilidade da empresa e as análises físico-químicas eram executadas nos laboratórios na CVRVV).

Estas colheitas foram feitas duas vezes por semana, à terça-feira e à quinta-feira.

A colheita dos bagos foi executado conforme descrito no ponto 3.2.

Visto que na CVRVV tínhamos dados semanais foram usados os dados para a escolha da data de vindima. Para apoio a esta colheita foram feitos 2 controlos internos através do método da OIL, executados no dia 19 de Setembro e 26 de Setembro.

Este método era feito integralmente na empresa, o procedimento foi o seguinte:



1 Colheita de 200 bagos com pedicelo

A colheita de 200 bagos foi executada segundo procedimento já explicado anteriormente – em zig-zag, os bagos foram colhidos de cepas e cachos ao acaso (sendo retirados de diferentes localizações no cacho).



Figura 6 – Colheita de bagos

2 e 3 - Pesagem de 200 bagos com pedicelo e sem pedicelo

No laboratório, a primeira análise executada, foi o peso, inicialmente com os pedicelos e de seguida sem pedicelos.



Figura 7 – À esquerda pesagem dos bagos com pedicelo e à direita pesagem dos bagos sem pedicelo

4 - Determinação do volume de 200 bagos

Para a determinação do volume dos bagos colhidos, foi utilizada uma proveta de 1000 ml. Enchendo-se de água destilada até os 500ml e de seguida colocando os bagos (a diferença de volumes dá o volume total dos 200g bagos).



Figura 8 - Volume dos bagos

5 - Secagem dos bagos

Visto que no processo anterior os bagos foram molhados, e para que não hajam erros nas análises seguintes, este processo (secagem dos bagos) foi executado com bastante rigor pois a água iria influenciar nos resultados seguintes.



Figura 9 - Secagem dos bagos

6- Esmagamento dos bagos

Visto que a empresa carece de uma prensa de laboratório, os bagos foram esmagados à mão. Foram colocados num saco de material inerte, (idêntico ao usado na recolha dos bagos), e esmagados. Seguidamente foi coado o líquido para um goblet para se executar as análises químicas.



Figura 10 – À esquerda esmagamento dos bagos e à direita mosto obtido

7 – Análises químicas

Neste processo foram executadas as análises padrão de controlo de maturação:

- Álcool provável;
- Acidez Total;
- pH.

Os procedimentos utilizados nestas análises foram executados conforme protocolos da empresa, encontrando-se estes em anexo (Anexo I).

4.4. Vindima

Para o controlo de produção foi escolhida uma linha na parcela e foram marcadas 5 videiras seguidas de cada lado da linha, tal como exemplificado na figura 6. A marcação é feita nos dois lados da linha.



Figura 11- Exemplificação de marcação feita para controlo de maturação

Para o controlo de produção na videira eleita retiramos:

- Unidades de frutificação;
- Número de lançamentos;
- Gomos não abrolhados;
- Ladrões;
- Gémeos;
- Número de cachos;
- Peso dos cachos.

No dia da vindima, os cachos das cepas eleitas foram colhidos e pesados.

4.5. Análises foliares à colheita

Para controlo do estado nutricional das plantas, a empresa onde o trabalho se desenvolveu, realizou análises foliares à floração.

Apesar de ainda não estar em desenvolvimento o estudo, essas análises serão aqui apresentadas.

No início da floração, foram colhidos pecíolos para fazer o acompanhamento da nutrição da planta com o objectivo de estabelecer e gerir adequadamente a fertilização da vinha.

Na tabela seguinte, segue-se o resultado da análise foliar à floração.

Tabela 2- Resultados das análises feitas à floração

Parâmetro / Método	Resultado da análise	Interpretação	Valores de referência
Azoto total	1,07 ± 0,05 %	Bom	0,90 a 1,20 %
Método interno baseado em ISO 16634-1:2008			
Fósforo	0,78 ± 0,00 %	Excesso	0,20 a 0,40 %
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Potássio	3,22 ± 0,04 %	Excesso	1,50 a 2,50 %
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Cálcio	1,50 ± 0,04 %	Bom	1,3 a 2,8 %
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Magnésio	0,41 ± 0,02 %	Bom	0,30 a 0,60 %
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Sulfure	0,34 ± 0,00 %		Sem dados
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Ferro	12,5 ± 0,5 mg/kg	Baixo	40 a 300 mg/kg
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Manganês	87,1 ± 8,1 mg/kg	Bom	30 a 150 mg/kg
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Boro	54,6 ± 0,1 mg/kg	Excesso	25 a 45 mg/kg
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Cobre	10,0 ± 0,4 mg/kg	Bom	5 a 50 mg/kg
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Zinco	81,1 ± 0,4 mg/kg	Bom	25 a 100 mg/kg
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Molibdénio	<0,08 mg /kg		Sem dados
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Sódio	199,1 ± 22,3 mg/kg		Sem dados
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			
Alumínio	220,8 ± 0,3 mg/kg		Sem dados
Método interno baseado em EN 13805:2002 / ICP-AES			

Como é possível observar na tabela a parcela em estudo tinha excesso de Fósforo Potássio e Boro.

Na colheita, para fazer uma gestão de necessidades das plantas, foram novamente efetuadas análises foliares. Desta vez as análises foram executadas no laboratório da ESAC.

Tabela 3- Características nutricionais foliares à colheita

Parâmetro	Metodologia	Valor	Valores de referência	
Azoto (%N)	Kjeldahl (Bremner, 1979)	0.5	0.90-1.20	
Enxofre (%S)	Combustão a 1350° (ISSO 15178,200E; Leco,1997)	--	---	
Fósforo (%P)	Mineralização por via seca (480-500°C) e doseamento por EAM (Pedologia, 1976; Ribas <i>et al.</i> 1988)	0.13	0.20-0.40	
Potássio (%K)	Mineralização por via seca (480-500°C) e doseamento por EAA com chama (Pedologia, 1976)	1.26	1.50-2.50	
Cálcio (%Ca)		1.85	1.30-2.80	
Magnésio (%Mg)		0.70	0.30-0.60	
Cobre (mg Cu Kg⁻¹)		12.1	>5	
Zinco (mg Zn Kg⁻¹)		56.7	>25	
Ferro (mg Fe Kg⁻¹)		99.4	>15	
Manganês (mg Mn Kg⁻¹)		229	>25	
Boro (mg B Kg⁻¹)		Azometina- H (Skalar, 2004)	42.4	25-45

Pela análise da tabela, observamos que Azoto, Fósforo e Potássio estão abaixo dos valores de referência, mas defendemos que a nutrição não foi factor limitante pois as análises são à colheita e nesta altura a planta já tinha gasto as substâncias de reserva.

Estes dados são importantes, para que no ano seguinte a fertilização da vinha seja mais eficiente indo de encontro as necessidades das plantas.

4.6. Leveduras utilizadas

4.6.1. *Pichia kluyveri*

Descoberta na Nova Zelândia por Dr. Mat Goddard, a *Pichia* é um género de leveduras da família *Saccharomycetaceae* com células esféricas, elípticas ou oblongo-acuminadas. *Pichia* é um teleomorfo, e durante a reprodução sexuada forma ascósporos redondos, hemisféricos ou em forma de chapéu. (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Pichia>)

Segue-se a classificação taxonómica:

Tabela 4 - Classificação taxonómica da levedura Pichia Kluyveri

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Subfilo	<i>Saccharomycotina</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Saccharomycetaceae</i>
Género	<i>Pichia</i>
Espécie	<i>kluyveri</i>

De nome comercial Frootzen, esta levedura foi cedida pela empresa Ângelo Coimbra. O inóculo é vendido congelado, pronto a ser inoculado directamente nas cubas. Esta levedura tem preço de tabela de 176 €/embalagem. Em cada 10.000 litros de mosto é usada uma embalagem.



Figura 12 - Forma de venda da levedura Pichia Kluyveri

Segundo a empresa fornecedora, esta levedura proporciona maior intensidade aromática (tióis), aumentando o carácter frutado e notas tropicais, acentua a frescura em boca e o sabor a floral e frutado. Na boca reduz notas verdes e herbáceas e aumenta a intensidade do sabor.

4.6.2. *Metschnikowia pulcherrima*

De nome comercial Flavia, esta levedura foi seleccionada na universidade de Santiago no Chile.

Reproduz-se por brotamento, ovóide a elipsoidal. É globosa e de paredes espessas,

Começa a fermentação mais rápido que uma *Saccharomyces*. Este tipo de levedura só é capaz de fermentar até que o teor alcoólico atinja os 5%, quando a sua sensibilidade ao etanol impede a continuação do metabolismo, as *Saccharomyces* tornam-se responsáveis pela continuação da fermentação. É por este motivo que a *Metschnikowia pulcherrima* tem de ser utilizada em paralelo com uma *Saccharomyces*. (http://wineserver.ucdavis.edu/industry/enology/winemicro/wineyeast/metschnikowia_pulcherrima.html)

Sendo a sua taxonomia apresentada na tabela 3.

Tabela 5 - Classificação taxonómica da levedura Metschnikowia pulcherrima

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Subfilo	<i>Saccharomycotina</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Metschnikowiaceae</i>
Género	<i>Metschnikowia</i>
Espécie	<i>pulcherrima</i>

Proporciona aromas varietais (tióis voláteis) mais ricos e complexos, sendo também ela tolerante ao álcool.

O fornecedor desta levedura foi a Proenol, que apresenta um preço de tabela de 110€/kg.

4.6.3. QA 23

QA23 foi a levedura *Saccharomyces* utilizada, este nome usado é o nome comercial da levedura, sendo constituída por *Saccharomyces bayanus*, sendo a sua taxonomia a seguinte.

Tabela 6 - Classificação taxonómica da levedura QA23

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Subfilo	<i>Saccharomycotina</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Saccharomycetaceae</i>
Género	<i>Saccharomyces</i>
Espécie	<i>bayanos</i>

Seleccionada na região dos vinhos verdes, esta levedura, segundo o fabricante, oferece segurança em condições de fermentação difíceis, pois tem baixas necessidades nutritivas. Fermentação de mosto brancos muito clarificados feitos em baixas temperaturas, preservando sempre o perfil varietal. Esta levedura necessita de hidratação anterior à sua aplicação.

Considerada, ‘todo o terreno’ pelo fabricante, esta levedura oferece bastante segurança fermentativa, obtendo-se a partir dela vinhos secos frutados e ligeiramente florais. Esta levedura está tabelada a 33.65€/kg.

4.7. Metodologia do ensaio

4.7.1. Inoculação de Leveduras

De seguida é apresentado o fluxograma de produção que foi executado para a inoculação das Leveduras.

1. Vindima

Denomina-se vindima a operação da colheita de uva para a vinificação.

O momento da colheita depende de vários fatores, sendo os mais importantes, o estado sanitário e o grau de maturação que dependerá do tipo de vinho que será elaborado.

A colheita da casta em estudo foi executada no dia 26 de Setembro. No campo as uvas foram acondicionadas em recipientes apropriados de forma a manter a sua integridade.

2. Recepção

Na adega, as uvas foram pesadas sendo nessa altura, feita uma colheita com sonda própria para leitura de grau provável, de seguida deu-se início ao processo de vinificação propriamente dito.



Figura 13 – À esquerda Pesagem das uvas e colheita de amostra, à direita recepção da uva no tegão

3. Desengace

Inicialmente as uvas foram desengaçadas, esta operação consiste na separação do bago do seu suporte, as raques.



Figura 14 - Desengaçador

4. Prensagem

De seguida procedeu-se à prensagem que consiste na extracção do mosto, ou seja, do líquido que se encontra nos bagos esta extracção foi feita através de uma prensa pneumática hidráulica, nesta operação foram aplicados 600mL de Enzima Compact liquid.



Figura 15 - Prensas pneumáticas

5. Flutuação

Depois de finalizar a prensagem há em suspensão várias partículas como resto de películas, engaços, pó, resíduos de pesticidas aplicados na vinha, etc., para retirar estas partículas vulgarmente denominadas de borras, executou-se uma flutuação que consistiu na separação de duas fases a líquida e a sólida, para auxiliar esta etapa foram aplicados 12g de gelatina alimentar, límpida hidro-solubilizada de pronta aplicação em flutuação.



Figura 16- Flutuador

6. Transfega para cuba de fermentação

Concluída a flutuação procedeu-se à trasfega para cubas de fermentação, onde se dividiram em três cubas com os seguintes lotes - 205 LP, 206 LP e 207 LP, sendo aplicada em cada cuba substâncias activas.

7. Inoculação de Leveduras não *Saccharomyces*

Com o mosto, já nas cubas de fermentação foram inoculadas as leveduras não *Saccharomyces*. Inicialmente inoculou-se a *Pichia kluyveri*, esta levedura foi de aplicação direta, pois estava congelada, utilizando-se duas embalagens (procedimento segundo fornecedor).

De seguida hidratou-se a *Metschnikowia pulcherrima*, utilizando-se 25g/hectolitro, ou seja, foram utilizados 5kg de levedura.

O método seguido foi facultado pelo fornecedor, num recipiente higienizado colocou-se água (temperatura entre os 35-40°C), mosto (para que a levedura se habituasse ao meio) e foi se dissolvendo com agitação o inóculo. No fim de dissolvido aguardou-se 20 minutos e foi colocado nas cubas de hidratação onde permaneceu 24 horas antes de ser colocado na cuba de fermentação.

8. Inoculação de Leveduras *Saccharomyces*

De seguida, hidratou-se a levedura *Saccharomyces*, o método seguido foi facultado pela empresa, tal como a *Metschnikowia pulcherrima*, num recipiente higienizado colocou-se água (temperatura entre os 35-40°C), mosto (para que a levedura se habituasse ao meio) e foi se dissolvendo com agitação o inoculo. No fim de dissolvido aguardou-se 20 minutos e foi colocado nas cubas de hidratação onde permaneceu 24 horas antes de ser colocado na cuba de fermentação.

Após 24h da inoculação e hidratação das Leveduras *não Saccharomyces* e da hidratação da levedura QA23, esta foi inoculada, nas três cubas de fermentação.



Figura 17 - Hidratação da QA23

9. Fermentação

Finalmente o mosto está preparado para fermentar, esta deu-se com condições iguais para as três cubas em estudo. Acompanhou-se duas vezes por dia a cinética fermentativa, ou seja, evolução da densidade e controlo de temperaturas.

4.8. Análise Sensorial

No fim da fermentação, com vista a observar as diferenças sensoriais produzidas pelos três tipos de leveduras utilizadas na fermentação, foram marcadas três análises sensoriais. A primeira foi marcada para um mês após o final da fermentação dia 23 de Outubro, a segunda dois meses depois (dia 20 de Novembro) e a última, dia 20 Maio.

As análises foram executadas nas instalações da CVRVV, do painel de provas fizeram parte os enólogos da Quinta das Arcas (Eng. Fernando Machado e Eng. Henrique Lopes), um representante de cada empresa que facultaram as leveduras, da Proenol Fernando Pedrosa, da Ângelo Coimbra Tiago Vidal e António Luís Cerdeira como representante da CVRVV.

As provas foram avaliadas segundo o modelo de provas da CVRVV, em anexo, onde foi avaliado numa escala de 1 a 5 o aspecto, feita uma avaliação olfactiva, avaliação Gustativa e examinada a existência de defeitos.

V. RESULTADOS e DISCUSSÃO

5.1. Estimativa de produção

A estimativa de produção foi executada como explicada no ponto 4.3, sendo apresentada na tabela seguinte (tabela 5).

Tabela 7- Estimativa de produtividade

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média
Nº de lançamentos	16	19	17	20	13	12	14	13	18	19	16
Unidade de frutificação	9	10	9	10	7	8	8	8	11	9	9
Não abrolhados	5	4	4	3	2	3	3	2	5	3	3
Ladrões	12	8	10	7	7	5	12	6	5	8	8
Gêmeos	1	2	1	2	2	1	1	0	0	1	1
Nº Cachos	10	35	22	22	22	15	13	15	10	15	18
Peso (kg)	3,15	9,9	8,8	7,85	7,8	2,65	3,9	4,95	3,7	3,85	5,66

Tendo em conta que o compasso na parcela em estudo é de 2.60*1.40, o número total de plantas em estudo é 2747. Para a estimativa de produção é usada a fórmula seguinte:

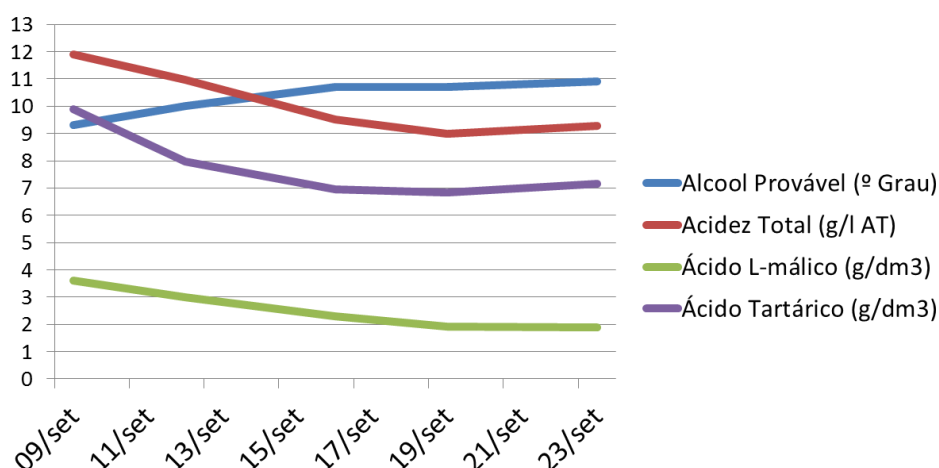
$$\textit{Estimativa de produção} = \textit{média de peso de cachos} \times \textit{nº de plantas por hectare}$$

A produção estimada na parcela em estudo foi de 15kg/ha, ou seja, foi um ano considerado de boa produção, é de salientar que esta casta é considerada uma casta de produtividade elevada (10.000 - 18.000 kg/ha).

5.2. Controlo de Maturação

Tal como referido anteriormente, o desenvolvimento da maturação foi acompanhado por análises efetuadas pela CVRVV.

Tabela 8 - Evolução da maturação



Tal como se pode observar na tabela apresentada anteriormente, tabela 6, a maturação ocorreu como esperado. O álcool provável apresentou um aumento gradual, apresentando na última colheita de vagos, 11° provável.

5.3. Cinética Fermentativa

É de salientar que as condições, para o desenvolvimento da fermentação foi igual para todas as três amostras em questão.

De seguida irão ser apresentados individualmente os gráficos obtidos pelo acompanhamento da cinética fermentativa das três leveduras em estudo.

Tabela 9 – Cinética fermentativa da amostra aplicada a *Pichia kluyveri* + QA23

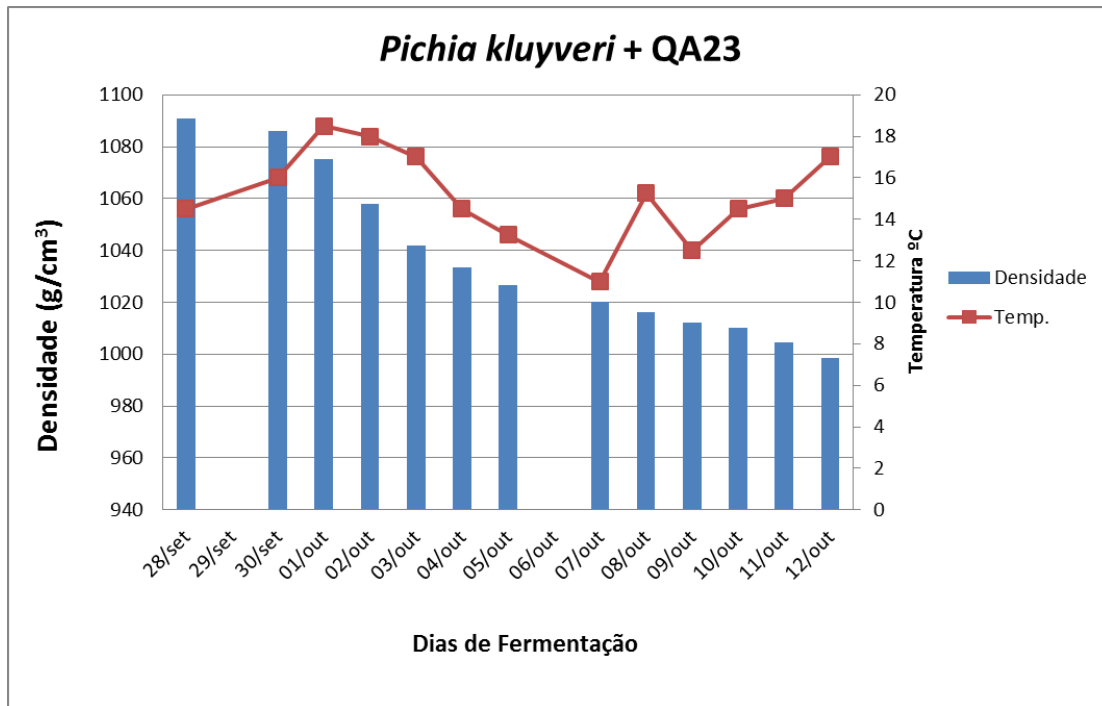


Tabela 10- Cinética fermentativa da amostra aplicada a *Metchnikowia pulcherima* + QA23

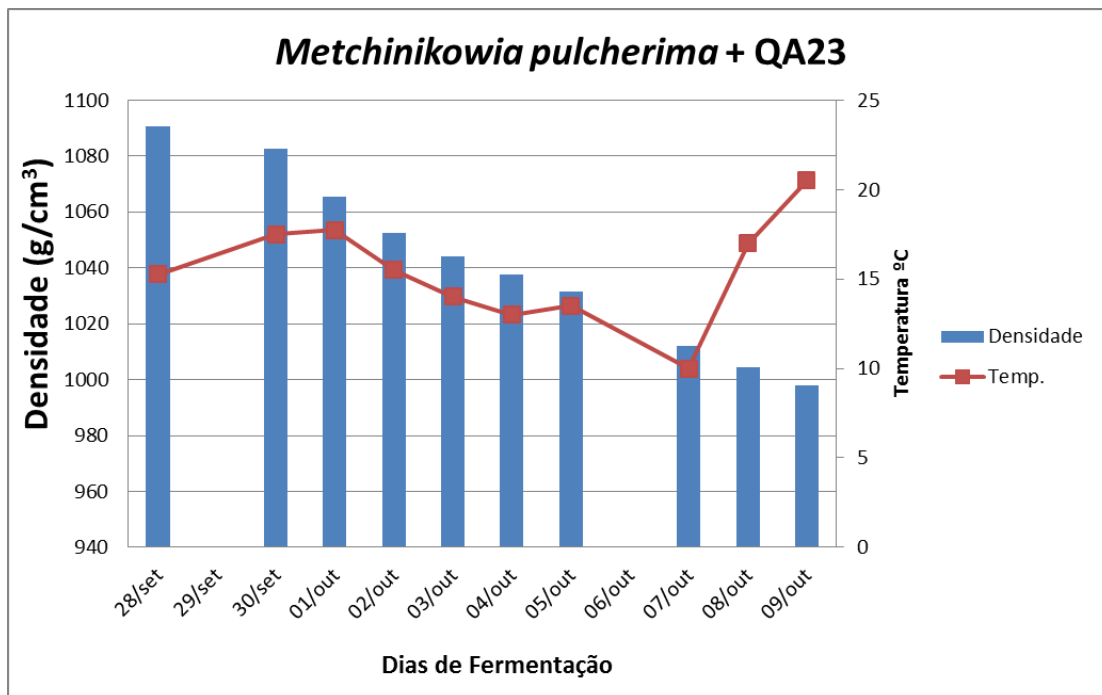
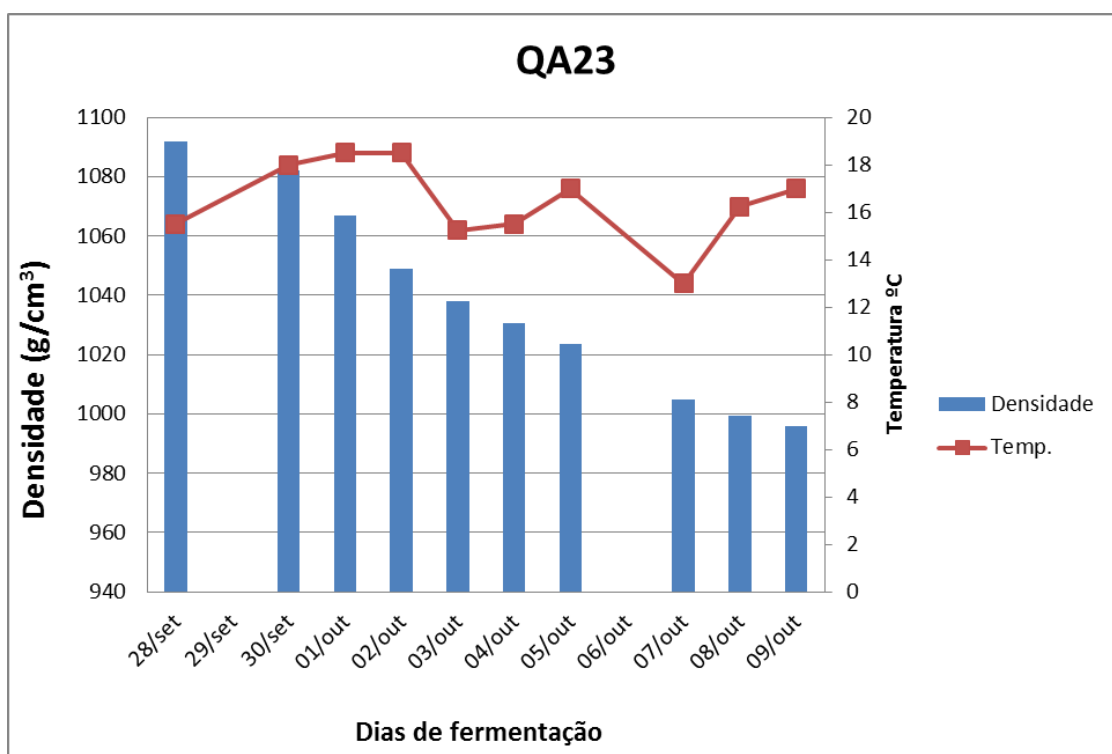


Tabela 11- Cinética fermentativa da amostra aplicada a levedura *Saccharomyces* – QA23



Como é possível observar, na comparação dos gráficos apresentados anteriormente, no início do acompanhamento todas as amostras estavam com valores de densidade muito próximos, notando-se no início (ao terceiro dia de acompanhamento) um atraso da *Pichia kluyveri* + QA23 em relação as outras amostras. No sexto dia de acompanhamento a *Pichia kluyveri* + QA23 apresenta uma descida acentuada, enquanto as restantes amostras apresentam uma descida mais gradual, nesta descida a *Pichia kluyveri* + QA23 apresenta uma densidade inferior à *Metchnikowia pulcherima* + QA23, esta descida é apresentada até ao décimo dia de acompanhamento, neste dia a *Metchnikowia pulcherima* + QA23 apresenta um decréscimo mais acentuado.

A amostra *Pichia kluyveri* + QA23 demora mais tempo a acabar a fermentação, precisando de 13 dias para fermentar, as restantes amostras acabaram a fermentação ao mesmo tempo, tendo esta decorrido em 10 dias.

Relativamente à temperatura, ambas começaram a fermentação entre os 15°C, mas no decorrer da mesma não tiveram um comportamento semelhante, sendo a da *Pichia kluyveri* + QA23 aquela que mais apresentou variações.

No final da fermentação foram executadas análises químicas às três amostras, para verificar se quimicamente alguma amostra se demonstrava diferente.

Tabela 12 – Análise química de final de fermentação

	<i>Pichia kluyveri</i> +QA23	<i>Metschnikowia</i> <i>pulcherrima</i> + QA23	QA23
% vol.	12,6	12,8	12,8
Ác. Total (g/l ác. Tartárico)	6,15	6,3	6,3
Ác. Volátil (g/l ác. Tartárico)	0,39	0,42	0,42
Sulfuroso livre (mg/l)	12,8	10,24	11,52
Sulfuroso total (mg/l)	44,8	38,4	39,68
pH	3,25	3,3	3,3
Açúcares totais (g)	1,8	1,6	1,6

Análises executadas segundo protocolo da empresa

Tal como é possível observar na tabela anterior, nenhuma das amostras se diferenciou. A *Pichia kluyveri* + QA23 apresentava apenas 12.6° de teor alcoólico mas visto que ainda tinha açúcares residuais não é uma diferença a considerar. Esta amostra difere um pouco das outras, mas como a fermentação acabou mais tarde que as restantes, as diferenças não são consideradas significativas.

5.4. Análise sensorial

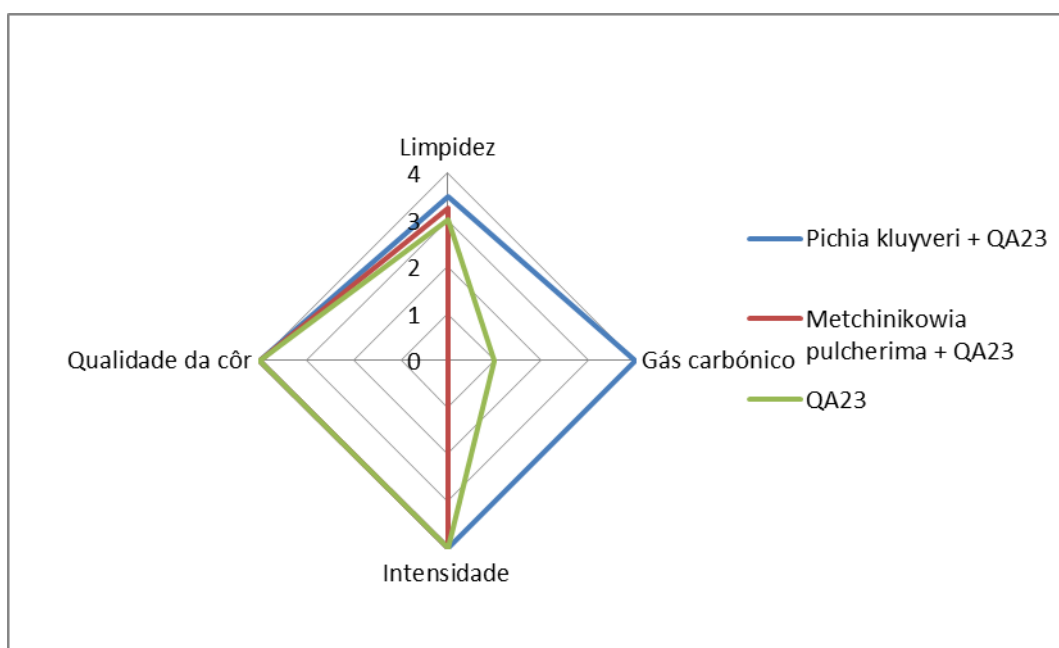
5.4.1. Primeira análise

Tal como foi dito anteriormente, a análise sensorial seguiu um modelo de prova utilizado na CVRVV.

No fim de cada análise sensorial foram executadas análises químicas nos laboratórios da CVRVV.

Os principais grupos avaliados foram o aspecto, a avaliação olfactiva e a avaliação gustativa.

Tabela 13- Avaliação do aspecto na primeira análise sensorial

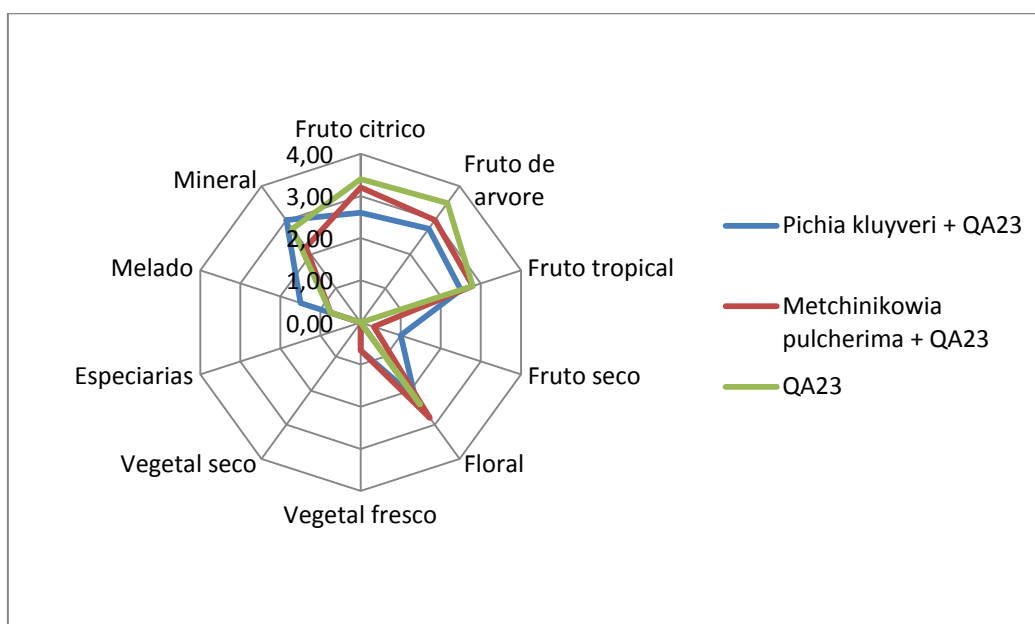


Dentro da apreciação do aspecto, foi avaliada a limpidez, a qualidade da cor, a quantidade de gás carbônico e a intensidade.

A *Pichia kluyveri* + QA23 é aquela que apresenta maior quantidade de gás carbônico, sendo avaliada com valor máximo, e a *Metchnikowia pulcherima* + QA23 não apresentou nenhum gás carbônico.

Relativamente à qualidade de cor e intensidade todas elas apresentam valor máximo, na limpidez estão bastante próximas.

Tabela 14 -Avaliação Olfactiva na primeira análise sensorial

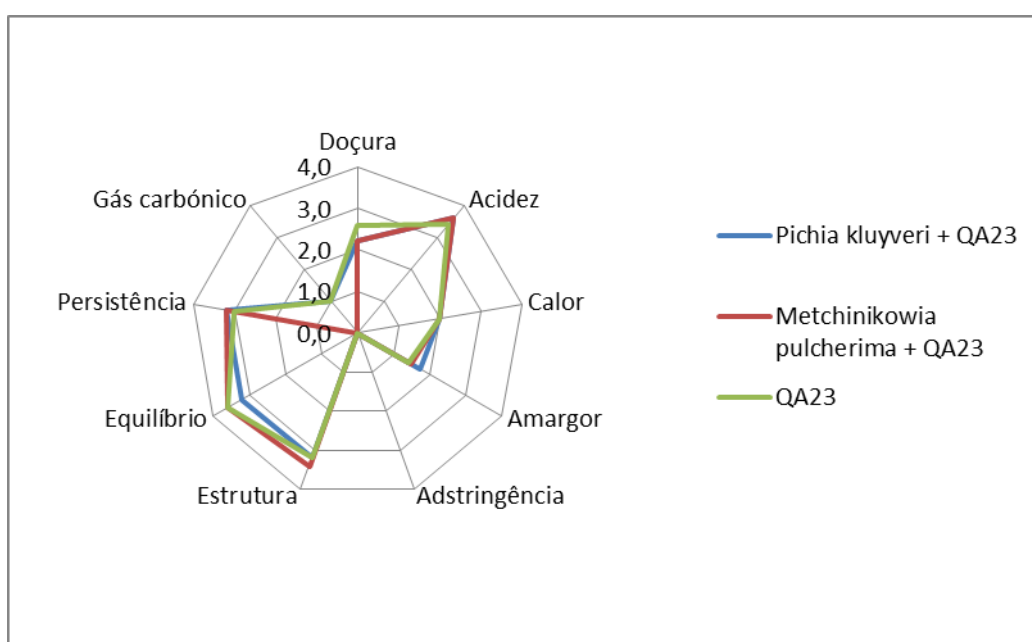


Os parâmetros Fruto cítrico, Fruto de árvore, Fruto tropical, Fruto seco, Floral, Vegetal fresco, Vegetal seco, Especiarias, Melado e Mineral fazem parte da Avaliação olfactiva.

Nesta avaliação a amostra que obteve melhores cotações foi a QA23, apresentando nota máxima no fruto de árvore, e quase máxima no aroma a fruto cítrico.

A *Pichia kluyveri* + QA23 apresenta melhores cotações no mineral e frutos secos. Nenhuma das amostras apresenta aroma a vegetal seco nem especiarias.

Tabela 15 -Avaliação gustativa na primeira análise sensorial



Na apreciação gustativa os parâmetros avaliados são a doçura, acidez, calor, amargor, adstringência, estrutura, Equilíbrio, Persistência e finalmente gás carbônico.

Nesta avaliação as amostras em estudo apresentaram-se bastante semelhantes. O único parâmetro em que uma delas se destacou foi na presença de gás carbônico em que a *Metchinikowia pulcherima* + QA23 teve uma avaliação nula.

Nos restantes parâmetros a *Metchinikowia pulcherima* + QA23 e a QA23 estiveram bastante próximas. A *Pichia kluyveri* + QA23 apresentou um pouco mais de amargor que as restantes e menos equilíbrio.

Tabela 16 - Análises químicas efetuadas na primeira análise sensorial

	Pichia kluyveri + QA23	Metschnikowia pulcherrima + QA23	QA23
Título alcoométrico volúmico adquirido (% vol.)	12,8	12,9	12,8
Massa volúmica (g/cm ³)	0,9894	0,989	0,9895
Extrato seco total (g/dm ³)	20,4	19,7	20,7
Extrato não redutor (g/dm ³)	19,4	18,7	19,7
Açúcares totais (g/dm ³)	<1,0	<1,0	<1,0
Acidez total (g(ác. tartárico)/dm ³)	6,6	6,3	6,6
Acidez volátil (g(ác. acético)/dm ³)	0,25	0,17	0,28
Acidez fixa (g(ác. tartárico)/dm ³)	6,3	6,1	6,2
pH	3,26	3,26	3,26
Dióxido de enxofre livre (mg/dm ³)	8	<8	8
Dióxido de enxofre total (mg/dm ³)	28	27	31
Ácido L-málico (g/cm ³)	2,6	2,6	2,6

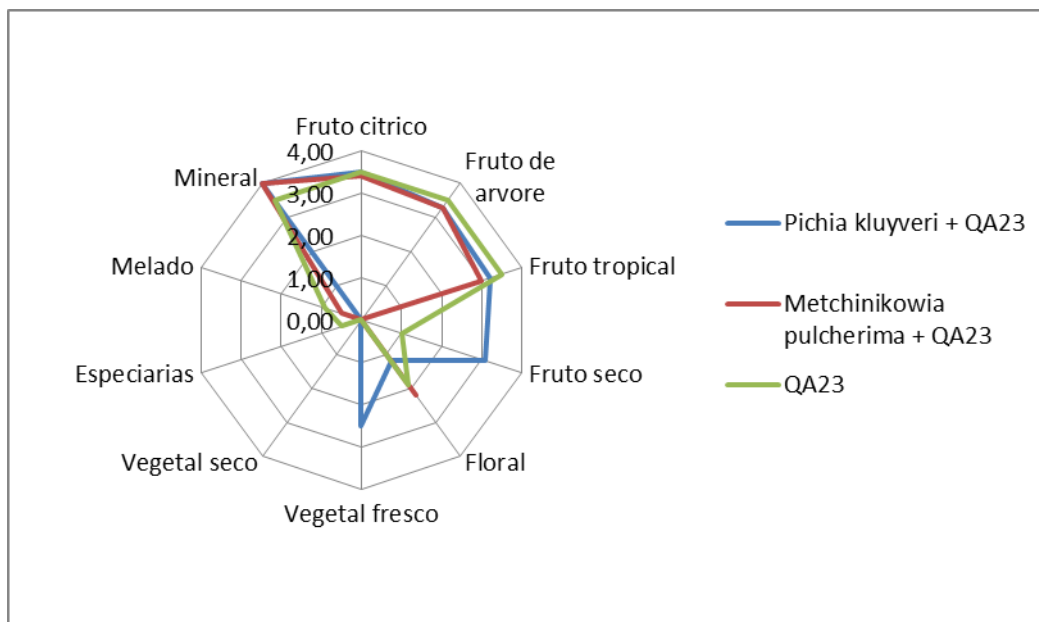
Análises efetuadas no laboratório da CVRVV

Tal como é possível retirar da tabela anterior, quimicamente as amostras são muito semelhantes. Aquela que difere é a *Metschnikowia pulcherrima* + QA23, a *Pichia*

kluyveri + QA23 e a QA23 apresentam na maioria dos parâmetros valores exactamente iguais.

5.4.2. Segunda análise

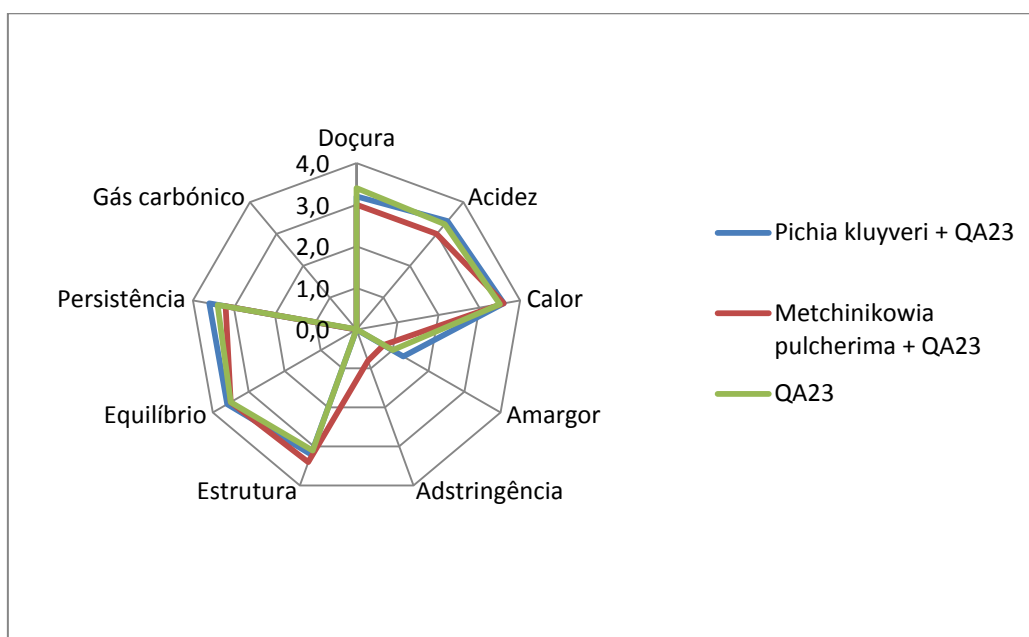
Tabela 17 - Avaliação olfactiva na segunda sessão de análise sensorial



Como é possível deprender da observação da tabela apresentada anteriormente, as amostras apresentam resultados bastante semelhantes.

As diferenças mais notórias, são no parâmetro fruto seco, em que se evidencia a *Pichia kluyveri* + QA23, que toma valor de 3 enquanto a *Metchinikowia pulcherima* + QA23 toma valor de 0 ficando a levedura QA23 num intermédio. A *Pichia kluyveri* + QA23 toma um valor de 2.5 no parâmetro vegetal fresco e as restantes não apresentaram aroma neste componente.

Tabela 18 -Avaliação gustativa na segunda análise sensorial



Relativamente à análise gustativa na sessão apresentada (tabela 12), mais uma vez as amostras encontram-se muito semelhantes, nenhuma delas se evidenciando.

Tabela 19 - Análises químicas efetuadas na segunda análise sensorial

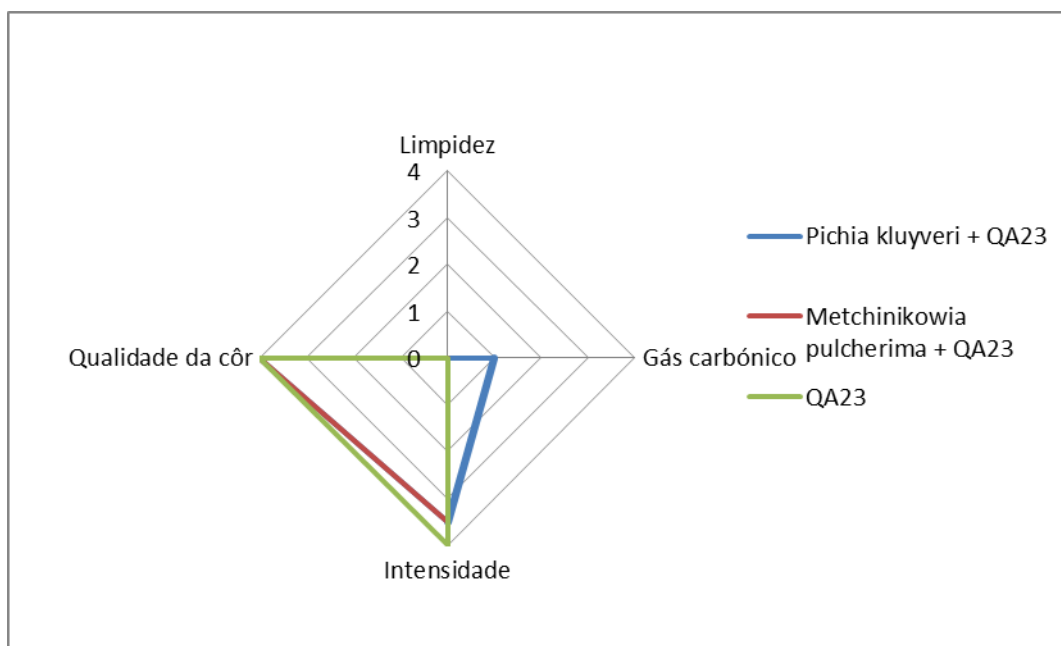
	Pichia kluyveri + QA23	Metschnikowia pulcherrima + QA23	QA23
Título alcoométrico volúmico adquirido (% vol.)	12,8	13	12,8
Massa volúmica (g/cm ³)	0,989	0,9889	0,9894
Extrato seco total (g/dm ³)	19,4	19,8	20,4
Extrato não redutor (g/dm ³)	18,4	18,8	19,4
Açúcares totais (g/dm ³)	<1	<1	<1
Acidez total (g(ác. tartárico)/dm ³)	6,6	6,6	6,6
Acidez volátil (g(ác. acético)/dm ³)	<0,20	<0,20	0,24
Acidez fixa (g(ác. tartárico)/dm ³)	6,4	6,4	6,3
pH	3,23	3,22	3,22
Dióxido de enxofre livre (mg/dm ³)	61	78	53
Dióxido de enxofre total (mg/dm ³)	127	154	126
Ácido L-málico (g/cm ³)	2,7	2,6	2,6
Ácido tartárico (g/cm ³)	2,6	2,6	2,5

Análises efetuadas no laboratório da CVRVV

Um mês depois do final de fermentação ainda não se evidenciam diferenças químicas entre os vinhos vinificados com leveduras *Saccharomyces* e não *Saccharomyces*.

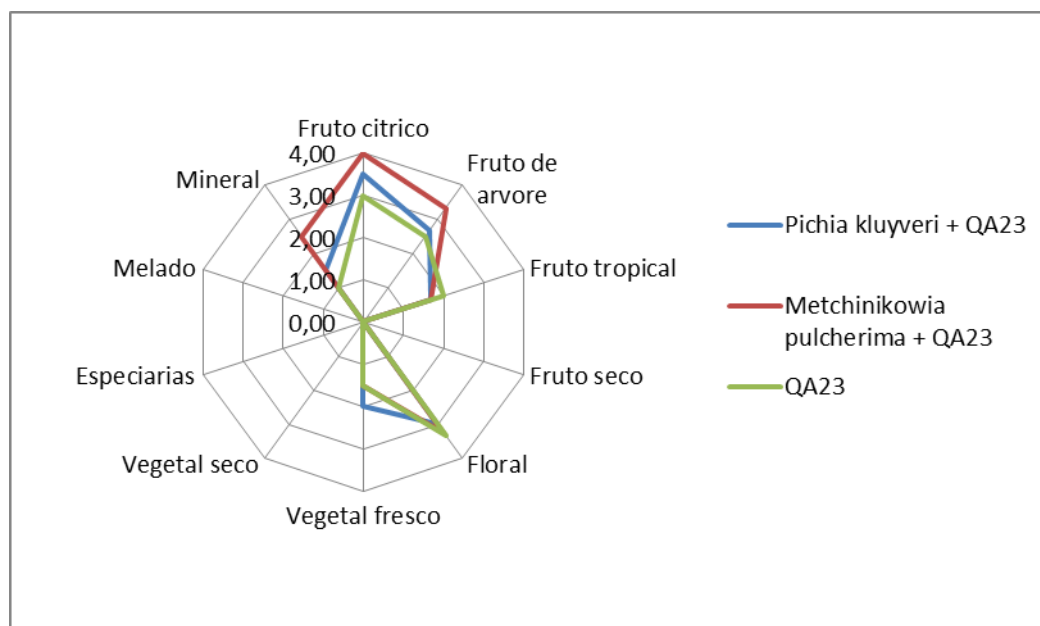
5.4.3. Terceira análise

Tabela 20- Avaliação do aspecto na terceira sessão de análise sensorial



Tal como é possível observar na tabela apresentada anteriormente, as amostras não demonstram grandes diferenças entre si, sendo a *Pichia kluyveri* + QA23, aquela que mais se diferencia, evidenciando algum gás carbônico.

Tabela 21- Avaliação olfactiva na terceira sessão de análise sensorial

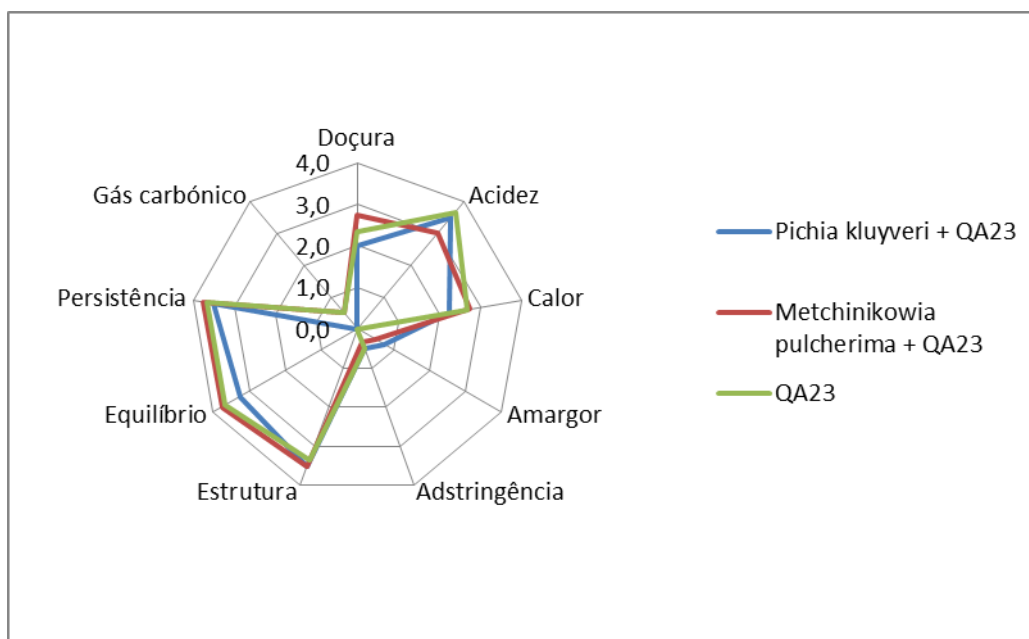


Na terceira análise sensorial efetuada, as amostras continuam semelhantes, não havendo nenhuma que seja considerada melhor que as restantes.

A *Metchinikowia pulcherima* + QA23 apresentou maior quantidade de aroma a fruto cítrico e fruto de árvore que as restantes, nesta análise a amostra fermentada apenas com levedura *Saccharomyces*, foi a que menos demonstrou estes aromas.

A QA23 foi aquela que menos cotação teve no parâmetro mineral, sendo a *Metchinikowia pulcherima* + QA23, aquela que se sobressaiu.

Tabela 22- Avaliação gustativa na terceira análise sensorial



Como é possível observar na tabela apresentada anteriormente, as amostras encontram-se gustativamente semelhantes.

Oito meses após a fermentação, as amostras em estudo apresentam bastante persistência, equilíbrio e estrutura, apresentavam também alguma acidez.

Tabela 23 Análises químicas efetuadas na segunda análise sensorial -

	Pichia kluyveri + QA23	Metschnikowia pulcherrima + QA23	QA23
Título alcoométrico volúmico adquirido (% vol.)	12,6	12,8	12,6
Massa volúmica (g/cm ³)	0,9892	0,989	0,9895
Extrato seco total (g/dm ³)	19,3	19,3	20,1
Extrato não redutor (g/dm ³)	17,8	17,8	18,6
Açúcares totais (g/dm ³)	<1,5	<1,5	<1,5
Acidez total (g(ác. tartárico)/dm ³)	6,4	6,3	6,5
Acidez volátil (g(ác. acético)/dm ³)	0,21	<0,20	0,27
Acidez fixa (g(ác. tartárico)/dm ³)	6,1	6	6,2
pH	3,18	3,17	3,18
Dióxido de enxofre livre (mg/dm ³)	54	66	38

Dióxido de enxofre total (mg/dm ³)	118	146	104
Ácido L-málico (g/cm ³)	2,7	2,6	2,7
Ácido tartárico (g/cm ³)	2	2	2

Análises efetuadas no laboratório da CVRVV

A análise química final teve um comportamento idêntico as anteriores, sendo o único parâmetro a ressaltar, o Título alcoométrico volúmico adquirido, pois o vinho vinificado com as leveduras *Metschnikowia pulcherrima* + QA23 apresentou ao longo do trabalho maior quantidade de álcool, sendo estas duas décimas consideradas uma diferença mínima.

VI. APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS À COMUNIDADE

Tal como referido anteriormente, o desenvolvimento deste trabalho teve o apoio da CVRVV e das duas empresas que facultaram as leveduras.

A convite da comissão dos vinhos verdes o trabalho desenvolvido, foi apresentado à comunidade nas XI Jornadas Técnicas a 29 de Novembro 2013, em parceria com as empresas de leveduras como caso prático na aplicação de leveduras não *Saccharomyces* na vinificação de vinhos verdes.

A plateia demonstrou bastante interesse no tema apresentado, reconhecendo a importância da inovação na região em questão. A apresentação encontra-se em anexo (Anexo III).

VII. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objectivo deste trabalho era contemplar se a aplicação de leveduras *Saccharomyces* associadas a não *Saccharomyces* aplicadas em vinhos da casta Loureiro produziam compostos aromáticos diferentes da aplicação de leveduras convencionais (*Saccharomyces*), em clima empresarial.

Como foi possível observar no decorrer deste trabalho, a aplicação destas leveduras não obteve um resultado notoriamente diferente quando comparado com vinificação de leveduras *Saccharomyces* (a mais utilizada), ou seja, tendo em conta a cotação das leveduras não *Saccharomyces* a aplicação destas leveduras não se torna proveitosa. Isto, porque as leveduras são mais caras e não produzindo vinhos notoriamente benéficos de compostos aromáticos mais apelativos, a sua aplicação não é defendida na empresa.

É de salientar a necessidade de replicação do estudo, para uma maior quantidade de dados. Validação ao fim de 24 meses para observar a evolução de aromas.

Necessidade de medição de tióis voláteis, é de ressaltar que esta medição não foi feita por falta de verba, pois cada análise ficaria a mais de 600€ e como o desenvolvimento deste trabalho foi sobretudo empresarial, a empresa não viu proveito para nesta primeira fase de desenvolvimento fazer o investimento.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anónimo, **INSTITUTO DA VINHA E DO VINHO** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/91.html

Anónimo, **INSTITUTO DA VINHA E DO VINHO** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/91.html

Anónimo, **PICHIA KLUYVERI.** [Em linha] Disponível em WWW:<URL:http://pt.wikipedia.org/wiki/Pichia.2006

Bisson, L.F. **METABOLISM OF SUGARS.** Wine Microbiology and Biotechnology, Harwood Academic Publishers, 1994.

Bohn, Jorge. **PORTUGAL VITICOLA, O GRANDE LIVRO DAS CASTAS.** Gabinete gráfico de Chaves Ferreira – Plubicações SA. ISBN:978-972-8987-10-7.

Buettner A., Schieberle P. **CHARACTERIZATION OF THE MOST ODOR-ACTIVE VOLATILES IN FRESH, HAND-SQUEEZED JUICE OF GRAPEFRUIT.** J. Agric. Food Chem. (1999).

Cardoso, António Dias. **O VINHO DA UVA À GARRAFA.** Âncora Editora. ISBN 978-972-708-208-1. 2007

Darriet, Ph, Lavigne,V, Boidron J.N., Dubourdieu D. **CHARACTERIZATION DE L'ARÔME VARIETAL DES VINS DE SAUVIGNON BLANC PAR COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSEODOMETRIE.** Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. 1991.

Dubourdieu D. **COMPOSTOS AROMÁTICOS. IN: I JORNADAS DE ENOLOGIA - ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA,** 1988

Dubourdieu D., Tominaga T., Masneuf I., Peyrot des Gachons C., Murat ML. **THE ROLE OF YEAST IN GRAPE FLAVOR DEVELOPMENT DURING FERMENTATION : THE EXAMPLE OF SAUVIGNON BLANC.** American Journal of Enology and Viticulture. 2000.

Heard, G.M.; Fleet, **G.H. OCCURENCE AND GROWTH OF YEAST SPECIES DURING THE FERMENTATION OF SOME AUSTRALIAN WINES.** Food Technologic Austria, 1986.

MAMEDE, Maria Eugênia de Oliveira; PASTORE, Gláucia. **AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DA FERMENTAÇÃO DE MOSTO DE UVA POR LEVEDURAS ISOLADAS DA REGIÃO DA “SERRA GAÚCHA” (RS).** Ciências Tecnológicas Alimentares de Campinas. 2004

Meilgaard M.C., Civille G.V., Carr B.T. **SENSORY EVALUATION TECHNIQUES.**1999

Morrot G., Brochet F. **CE QUE LE NEZ PEUT DIRE. IN: LA DÉGUSTATION,** J. Int. Sci. Vigne et Vin, 2000

N. Anfang, M. Brajkovich and M. Goddard. **CO-FERMENTATION WITH PICHIA KLUYVERI INCREASES VARIETAL THIOL CONCENTRATIONS IN SAUVIGNON BLANC.** Australian Journal of Grape and Wine Research.2009

PORTARIA Nº 28/2001, de 16 de Janeiro - Procedo ao reconhecimento de sub-regiões na área geográfica de produção de vinhos com direito à denominação de origem «Vinho Verde».

Salmon, Jean-Michel. **CULTURAS MISTAS DE LEVEDURAS EM FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.** Journée Scientifique Vigne-Vin, Agro.M, Montpellier. 2006

Schuller, Dorit; Casal, Margarida. **A UTILIZAÇÃO DE ESTIRPES DE LEVEDURAS GENETICAMENTE MODIFICADAS EM ENOLOGIA.** infowine.com , revista internet de viticultura e enologia.2006

Tominaga T., Dubourdieu **D. RECHERCHES SUR L’ARÔME VARIÉTAL DES VINS DE VITIS VINIFERA L. CV. SAUVIGNON BLANC ET SA GENÈSE À PARTIR DE PRÉCURSEURS DU RAISIN.** Rev. O Enologues. 2000

VENÂNCIO, Patrícia, **TÉCNICAS DE PROVA** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:<http://janeladecheiros.blogspot.pt/p/tecnicas-de-prova.html>, 2011

RAUHUT, D. PRODUCTION OF SULPHUR COMPOUNDS. WINE MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. Harwood Academic Publishers, Switzerland. 1993.

Anónimo, **METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:http://wineserver.ucdavis.edu/industry/enology/winemicro/wineyeast/metschnikowia_pulcherrima.html

Anónimo, **CASTA TRAJADURA** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:[\[http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Trajadura\]](http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Trajadura)

Anónimo, **CASTA ARINTO** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:[\[http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Pedern%E3\]](http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Pedern%E3)

Anónimo, **CASTA ALVARINHO** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:[\[http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Alvarinho\]](http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Alvarinho)

Anónimo, **CASTA LOUREIRO** [Em linha].Disponível em WWW:<URL:[\[http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Alvarinho\]](http://www.vinhoverde.pt/pt/vinhoverde/castas/casta-abrev.asp?casta=Alvarinho)

IX. Anexos

Anexo I – Protocolos da empresa utilizados nas análises químicas

Anexo II – Modelo de Provas sensoriais da CVRVV

Anexo III – Apresentação nas XI Jornadas Técnicas da CVRVV