



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA - RENORBIO**

ANA PAULA ANDRÉ BARROS

**POTENCIAL DA MACERAÇÃO PRÉ-FERMENTATIVA A FRIO DAS UVAS
VIognier, Grenache e Syrah NA ELABORAÇÃO DE VINHOS
ESPUMANTES PELO MÉTODO TRADICIONAL NO VALE DO SUBMÉDIO
SÃO FRANCISCO**

SALVADOR

2022

ANA PAULA ANDRÉ BARROS

**POTENCIAL DA MACERAÇÃO PRÉ-FERMENTATIVA A FRIO DAS UVAS
VIOGNIER, GRENACHE E SYRAH NA ELABORAÇÃO DE VINHOS
ESPUMANTES PELO MÉTODO TRADICIONAL NO VALE DO SUBMÉDIO
SÃO FRANCISCO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Biotecnologia do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de doutora em Biotecnologia.

Área de concentração: Recursos Naturais

Orientadora: Profa. Dra. Aline Camarão
Telles Biasoto

SALVADOR

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

BARROS, ANA PAULA ANDRÉ

Potencial da maceração pré-fermentativa a frio das
uvas Viognier, Grenache e Syrah na elaboração de
vinhos espumantes pelo método tradicional no Vale do
Submédio São Francisco / ANA PAULA ANDRÉ BARROS. --
Salvador, 2022.

149 f. : il

Orientadora: ALINE CAMARÃO TELLES BIASOTO.
Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia - RENORBIO) -- Universidade Federal da
Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, 2022.

1. maceração pré-fermentativa a frio. 2. autólise.
3. compostos fenólicos. 4. compostos voláteis. 5.
capacidade antioxidante. I. BIASOTO, ALINE CAMARÃO
TELLES. II. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

A TESE:

“POTENCIAL DAS UVAS VIOGNIER, GRENACHE E SYRAH PARA ELABORAÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES PELO MÉTODO TRADICIONAL NO VALE DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO”

A banca solicitou o ajuste da tese para: **“POTENCIAL DA MACERAÇÃO PRÉ-FERMENTATIVA A FRIO DAS UVAS VIOGNIER, GRENACHE E SYRAH NA ELABORAÇÃO DE VINHOS ESPUMANTES PELO MÉTODO TRADICIONAL NO VALE DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO”**

Elaborada por:

ANA PAULA ANDRÉ BARROS

Foi aprovada por todos os membros da banca examinadora e aceita pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Renorbio como requisito parcial à obtenção do título de

DOUTORA EM BIOTECNOLOGIA

Salvador – Bahia, 08 de abril de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

ALINE CAMARÃO TELLES BIASOTO

(Orientadora)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

LUZIMAR GONZAGA FERNANDEZ

Universidade Federal da Bahia

Marcos dos Santos Lima

MARCOS DOS SANTOS LIMA

Instituto Federal do Sertão Pernambucano

ROGER WAGNER

ROGER WAGNER
Universidade Federal de Santa Maria

Vitor Manfroi

VITOR MANFROI
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Aos meus pais, Rita (*in memoriam*) e
Popô, pelo amor doado e por terem me
proporcionado boas escolhas ao longo da
minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, meus irmãos, Pri e Juninho, e meus sobrinhos, Manú e João, por serem a base que me trouxe até aqui.

Ao meu companheiro Tiago, pelo incentivo e amor nessa longa jornada.

Às minhas amigas Fah, Milla e Mi por serem meu aconchego nos momentos de aperreio.

À professora Janice Izabel Druzian (*in memoriam*) por ter acreditado no meu projeto e confiado no meu trabalho desde o início. Seu legado continua em muitos!

À minha orientadora Aline Biasoto pelos ensinamentos, compromisso e dedicação para a realização deste trabalho.

Às minhas amigas e colegas de trabalho do IF Sertão-PE, Islaine e Renata, pelo apoio na execução de boa parte desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido pelos esforços para que fosse possível realizar os experimentos deste trabalho.

Às colegas de Renorbio, Renata e Érika, pelo acolhimento e apoio.

Ao IF Sertão-PE pela estrutura, apoio e incentivo para que fosse possível a realização deste trabalho.

Às vinícolas Ouro Verde (Miolo Wine Group) e Santa Maria (Vinhos Rio Sol) pelo apoio com a doação das uvas.

À Embrapa Semiárido pela estrutura disponível para a realização desse trabalho.

À FAPESB pelo financiamento da bolsa de estudo.

Ao RENORBIO e à UFBA pela oportunidade, e aos professores pelo conhecimento compartilhado.

RESUMO

Os vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional têm alto valor agregado no mercado e sua produção vem se destacando cada vez mais ao redor do mundo. O Brasil vem acompanhando esse crescimento e este produto hoje se ressalta como o líder de vendas da vitivinicultura nacional e o mais exportado. Para a cadeia vitivinícola do Vale do Submédio São Francisco (VSSF), região de clima tropical semiárido, localizada nos estados de Pernambuco e Bahia, o vinho espumante também se constitui no produto mais importante. Assim, buscando o maior desenvolvimento da vitivinicultura regional e, consequentemente nacional, o principal objetivo desta tese foi avaliar o potencial de uvas cultivadas no VSSF para elaboração de vinhos espumantes brancos, *rosés* e tintos pelo método tradicional, até então um método não utilizado comercialmente nesta região. Para isso, foram escolhidas as cultivares Viognier, Grenache e Syrah, já adaptadas à região e, além disso, foram aplicadas e avaliadas duas práticas enológicas: a maceração pré-fermentativa a frio com uso de refrigeração e o envelhecimento sobre borras de leveduras (autólise). Estes estudos avaliaram a composição físico-química, fenólica, volátil e capacidade antioxidante de vinhos espumantes brancos e *rosés* das cultivares Viognier e Grenache elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio (0, 24 e 72 h); e vinhos espumantes tintos a partir da cultivar Syrah, elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio (0, 24 e 72 h) e autólise (3 e 18 meses). Os vinhos espumantes Viognier e Grenache foram analisados após 18 meses de autólise, sendo avaliados os parâmetros enológicos e colorimétricos, compostos fenólicos por HPLC-DAD-FD e espectrofotometria, e a capacidade antioxidante pelos ensaios de DPPH e FRAP. Os uso da maceração pré-fermentativa a frio no vinho espumante branco ‘Viognier’ por 24 h aumentou os teores de kaempferol-3-*O*-glicosídeo e quercetina-3-β-D-glicosídeo, já com 72 h promoveu ao produto maiores concentrações de (-)-epicatequina, procianidina B2 e teores de fenólicos totais. No vinho espumante *rosé* ‘Grenache’, 24 h de maceração aumentou os teores de ácido clorogênico, ácido cafeico e quercetina-3-β-D-glicosídeo. Os resultados também apontaram que, para manter a capacidade antioxidante do produto, recomenda-se a utilização de 72 h de maceração pré-fermentativa a frio para a elaboração do vinho espumante com a cultivar Viognier e até 24h para a Grenache. Em uma primeira parte do estudo com os vinhos espumantes tintos elaborados com a cultivar Syrah, foi realizada a caracterização do perfil de compostos fenólicos por HPLC-DAD ($n = 21$), avaliação da capacidade antioxidante (ensaios ABTS,

DPPH e FRAP) e da cor (sistemas CIELab e CIEL* C^* h). O teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante foram maiores com maior tempo de maceração (72 h) e de autólise (18 meses). Na segunda parte do estudo com vinhos espumantes tintos Syrah, foi avaliado o impacto do tempo da maceração pré-fermentativa a frio e da autólise sobre o perfil de compostos voláteis. Foram identificados sessenta e cinco compostos voláteis entre ésteres, álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos, terpenos, cetonas, nessa ordem de importância. A maceração pré-fermentativa a frio e o tempo de envelhecimento sobre as borras afetaram significativamente a composição volátil dos vinhos espumantes tintos. A análise de agrupamento hierárquico e mapa de calor evidenciou que a autólise foi o principal fator para segmentar as amostras em função dos compostos voláteis encontrados em concentrações acima do limiar de odor. O vinho espumante com 72 h de maceração e 3 meses de autólise se destacou entre todas as amostras com maiores concentrações de compostos voláteis que remetem a notas frutadas, florais e adocicadas. Espera-se que, com os resultados dessa tese, nos próximos anos, os vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional se tornem uma alternativa de produção e mercado no VSSF, movimentando a cadeia vitivinícola regional e nacional e agregando valor ao produto.

Palavras-chave: maceração pré-fermentativa a frio; autólise; compostos fenólicos, compostos voláteis, capacidade antioxidante.

ABSTRACT

Sparkling wines elaborated by the traditional method have high added market value, and their production is growing worldwide. Brazil has followed this increasing trend, and nowadays this product is the leader in sales in the national vitiviniculture and the most exported. For the São Francisco Submedium Valley (SFSV) chain, a tropical semi-arid region in Pernambuco and Bahia, sparkling wine is the most important product. Thus, aiming for the greater development of the regional vitiviniculture and, consequently, the national, the major goal of this thesis was to evaluate the potential of the SFSV cultivated grapes for the elaboration of white, *rosé*, and red sparkling wines by the traditional method, until now, not commercially available in the region. For this reason, the Viognier, Grenache, and Syrah cultivars were chosen that are already adapted to the region; added to that, two oenological practices were applied and evaluated: pre-fermentative cold maceration with refrigeration use and aging on lees (autolysis). These studies evaluated the physical-chemical, phenolic, volatile, and antioxidant capacity of white and *rosé* sparkling wines from Viognier and Grenache cultivars elaborated with different pre-fermentative cold maceration times (0, 24, and 72 h); and red sparkling wines from the cultivar Syrah, elaborated with different times of pre-fermentative cold maceration (0, 24 and 72 h) and autolysis (3 and 18 months). ‘Viognier’ and ‘Grenache’ sparkling wines were analyzed after 18 months of autolysis, evaluated the oenological and colorimetric parameters, phenolic compounds by HPLC-DAD-FD and spectrophotometry, and the antioxidant capacity by the DPPH and FRAP. Cold pre-fermentative maceration on the white sparkling wine ‘Viognier’ for 24h increased the kaempferol-3-*O*-glucoside and quercetin 3-β-D-glucoside contents, and with 72h promoted higher concentrations of (-)-epicatechin, procyanidin B2, and total phenolic compounds. In the ‘Grenache’ *rosé* sparkling wine, 24 h of maceration increased the chlorogenic acid, caffeic acid, and quercetin 3-β-D-glucoside contents. The results also pointed out that, to maintain the product antioxidant capacity, 72 h of pre-fermentative cold maceration is recommended to elaborate sparkling wine with ‘Viognier’ and up to 24 h for ‘Grenache’. The first part of the study with the sparkling wines elaborated with the cultivar Syrah was characterized the phenolic compound profile by HPLC-DAD ($n = 21$), antioxidant capacity evaluation (ABTS, DPPH, and FRAP assays), and color (CIELab and CIEL* C^* h systems). The total phenolic compounds contents and the antioxidant capacity were higher with longer times of maceration (72 h) and autolysis (18

months). The second part of the study, with the ‘Syrah’ red sparkling wines, evaluated the impact of cold pre-fermentative maceration and autolysis times over the volatile profile compounds. Sixty-five volatile compounds were identified among esters, alcohols, carboxylic acids, aldehydes, terpenes, ketones, in this order of importance. Cold pre-fermentative fermentation and aging on lees times significantly affected the volatile composition of the red sparkling wines. Cluster hierarchical analysis and the heat map evidenced that autolysis was the major factor to separate the samples in the function of the volatile compounds found in the concentrations above the odor threshold. The sparkling wine with 72 h of maceration and three months of autolysis stood out among all samples with higher volatile compound concentrations, referring to fruity, floral, and sweetened notes. With the results from this thesis, it is expected that the sparkling wines elaborated by the traditional method will become a production and market alternative in the SFSV, moving the wine regional and national chain in the following years adding value to the product.

Keywords: cold pre-fermentative fermentation; autolysis; phenolic compounds, volatile compounds, antioxidant capacity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1.1 Uvas Viognier (A), Grenache (B) e Syrah cultivadas no VSSF	29
Figura 1.2 Fluxograma de elaboração de vinhos espumantes pelo Método Tradicional	35

CAPÍTULO II

Figura 2.1 <i>In vitro</i> antioxidant capacity by the DPPH and FRAP methods of the base and sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration times from the varieties Viognier (A) and Grenache (B)	79
Figura 2.2 95% jackknife confidence intervals of the Partial Least Squares regression coefficients for the prediction of the antioxidant capacity (AOX) of the white and rosé sparkling wines according to the concentration of the phenolic compounds (phenolic acids, flavanols, flavonols, anthocyanins and stilbenes)	81
Figura 2.3 Principal Component Analysis (PCA) showing the configuration of the sparkling wines produced with different cold pre-fermentative maceration times with Viognier (A) and Grenache (B) varieties in function of the and the oenological and colorimetrics parameters, antioxidant capacity and of the phenolic compounds quantified by HPLC-DAD-FD	82
Figura 2.4 Hierarchical clustering and heatmap for each sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration times from the varieties Viognier (A) and Grenache (B) by of values of phenolic compounds quantified by HPLC-DAD-FD and antioxidant capacity (DPPH and FRAP) with significant difference ($p \leq 0.05$)	85

CAPÍTULO III

Figura 3.1 Principal Component Analysis (PCA) showing the configuration of Syrah red sparkling wines elaborated with different pre-fermentative cold maceration times (NM, 24 and 72 hours) and its evolution during aging on lees (3 and 18 months of autolysis) in function of antioxidant capacity, total phenolic content (measured by the spectrophotometric method) and phenolic compounds quantified by HPLC-DAD ($n = 21$ compounds)	106
---	-----

Figura 3.2 Colorimetric analysis of Syrah red sparkling wines elaborated with different times of cold pre-fermentative maceration and its evolution during aging on lees 107

CAPÍTULO IV

Figura 4.1 Representatividade dos principais grupos químicos na concentração total de compostos voláteis identificados nos vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio (A) NM: Não macerado, (B) M24: 24 horas de maceração pré-fermentativa a frio, (C) M72: 72 horas de maceração pré-fermentativa a frio, em dois tempos de autólise (3 e 18 meses) 121

Figura 4.2 Agrupamento hierárquico e mapa de calor gerado a partir dos compostos cujas concentrações apresentaram valores superiores ao limiar de odor (*odour threshold*) descrito na literatura ($n = 21$), identificados nos vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e autólise 142

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1.1 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em vinhos espumantes elaborados pelo Método Tradicional 43

Tabela 1.2 Compostos voláteis em vinhos espumantes elaborados pelo Método Tradicional 49

CAPÍTULO II

Tabela 2.1 Oenological and colorimetric parameters of base and sparkling wines produced with different cold pre-fermentative maceration times 68

Tabela 2.2 Phenolic compounds quantified in the base and sparkling wines produced with different cold pre-fermentative maceration times 72

CAPÍTULO III

Tabela 3.1 Phenolic profile and antioxidant capacity of Syrah red sparkling wines elaborated with different times of cold pre-fermentative maceration and its evolution during aging on lees 98

CAPÍTULO IV

Tabela 4.1 Valores médios dos parâmetros enológicos dos vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e tempos de autólise 118

Tabela 4.2 Concentração dos compostos voláteis identificados no headspace dos vinhos base e vinhos espumantes tintos da cultivar Shiraz elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e tempos de autólise, com seus respectivos limiar de odor e descritor de odor 122

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

VSSF	Vale do Submédio São Francisco
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl) iminoazanium
FRAP	Ferric reducing antioxidant power (Poder antioxidante redutor férrico)
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DAD	Detector de arranjos de diodos
FD	Detector de fluorescência
GC	Cromatografia Gasosa
MS	Espectrômetro de massa
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
TPC	Total Phenolic Content (Conteúdo Fenólico Total)
PCA	Principal Component Analysis
AOX	Capacidade Antioxidante
TEAC	Capacidade antioxidante expressa em Trolox
ANOVA	Análise de variância
IC	Intensidade de cor
NIST	National Institute of Standards and Technology

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	19
1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Referências	22
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo Geral	26
2.2 Objetivos Específicos	26
3 CAPÍTULO I	27
Revisão bibliográfica	27
3.1 Produção de vinhos no Brasil	27
3.1.1 Produção de vinhos no Vale do Submédio São Francisco	28
3.1.1.1 Cultivares	29
3.2 Vinho Espumante	31
3.2.1 Tecnologia de produção	31
3.2.2 Método Tradicional	32
3.3 Composição Química dos vinhos espumantes	42
3.3.1 Compostos Fenólicos	42
3.3.2 Compostos Voláteis	48
3.4 Referências	46
4 CAPÍTULO II	55
Influence of cold pre-fermentative maceration practice on the color, phenolic compounds and antioxidant capacity of white and rosé sparkling wines elaborated by the traditional method	61
4.1 ABSTRACT	61
4.2 INTRODUCTION	62
4.3 MATERIAL AND METHODS	64
4.3.1 Grapes	64
4.3.2 Base wines	64
4.3.3 Sparkling wines	65
4.3.4 Oenological parameters	65

4.3.5 Colorimetric parameters	66
4.3.6 Phenolic compounds	66
4.3.7 Antioxidant capacity	67
4.3.8 Statistical analysis	67
4.4 RESULTS AND DISCUSSION	68
4.4.1 Oenological and colorimetric parameters	68
4.4.2 Phenolic compounds by HPLC and the total phenolic content	71
4.4.3 <i>In vitro</i> antioxidant capacity (AOX) and its correlation with the phenolic compound profile	78
4.4.4 Principal Component Analysis	82
4.4.5 Hierarchical clustering and heatmap analysis	84
4.5 CONCLUSIONS	86
4.6 REFERENCES	87
5 CAPÍTULO III	92
Effect of the cold pre-fermentative maceration and aging on lees times on the phenolic compound profile, antioxidant capacity and color of red sparkling wines	92
5.1 ABSTRACT	92
5.2 INTRODUCTION	92
5.3 MATERIAL AND METHODS	94
5.3.1 Raw material	94
5.3.2 Winemaking process	94
5.3.3 Colorimetric parameters	95
5.3.4 Phenolic compounds	95
5.3.5 Antioxidant capacity	96
5.3.6 Statistical analysis	97
5.4 RESULTS AND DISCUSSION	97
5.4.1 Phenolic compounds and antioxidant capacity	97
5.4.2 Principal components analysis	104
5.4.3 Colorimetry	106
5.5 CONCLUSIONS	108
5.6 REFERENCES	109

6 CAPÍTULO IV	112
Perfil volátil de vinhos espumantes tintos “Syrah” elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e sua evolução durante o envelhecimento sobre as borras	112
6.1 RESUMO	112
6.2 INTRODUÇÃO	112
6.3 MATERIAL E MÉTODOS	114
6.3.1 Uvas	114
6.3.2 Vinhos base	114
6.3.3 Vinhos Espumantes	115
6.3.4 Parâmetros enológicos	115
6.3.5 Compostos voláteis	116
6.3.6 Análise Estatística	117
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	117
6.4.1 Parâmetros enológicos	117
6.4.2 Compostos voláteis	119
6.5 CONCLUSÃO	143
6.6 REFERÊNCIAS	143
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	148

APRESENTAÇÃO

Esta tese apresenta os resultados obtidos durante o desenvolvimento do projeto de pesquisa “Potencial das uvas Viognier, Grenache e Syrah para elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional no Vale do Submédio São Francisco”. O documento foi escrito em formato de artigos e está dividido em quatro capítulos. Além disso, conta com Resumo, Abstract, Introdução, Objetivo Geral e Específicos, e Considerações finais, que contém informações gerais da tese. O primeiro Capítulo trata-se de uma “Revisão Bibliográfica” com as principais informações sobre as cultivares de uvas trabalhadas e as técnicas enológicas adotadas na elaboração dos vinhos espumantes avaliados neste trabalho.

O segundo Capítulo “Influence of cold pre-fermentative maceration practice on the color, phenolic compounds and antioxidant capacity of white and rosé sparkling wines elaborated by the traditional method” refere-se ao artigo com a primeira parte dos resultados da pesquisa. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da prática de maceração pré-fermentativa a frio nos parâmetros fisico-químicos, composição fenólica e capacidade antioxidante de vinhos espumantes brancos e rosés elaborados pelo método tradicional a partir das cultivares Viognier e Grenache em condições de clima tropical. Este artigo foi submetido na Food Research International (Fator de impacto: 6,475).

O terceiro Capítulo “Effect of the cold pre-fermentative maceration and aging on lees times on the phenolic compound profile, antioxidant capacity and color of red sparkling wines” refere-se ao segundo artigo derivado da tese. O objetivo desta etapa da pesquisa foi fornecer, pela primeira vez, informações sobre o impacto do tempo das práticas de maceração pré-fermentativa a frio e do envelhecimento sobre borras em vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah elaborados pelo método tradicional. Sendo avaliado o perfil fenólico, capacidade antioxidante e cor desses produtos. Este artigo foi submetido na Journal of Food Science and Technology (Fator de impacto: 3,167).

O quarto Capítulo “Perfil volátil de vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e sua evolução durante o envelhecimento sobre as borras” é o terceiro artigo derivado da tese. Nesta etapa da pesquisa foi avaliado o impacto do tempo da maceração pré-fermentativa a frio na composição volátil (HS-SPME-GC/FID-GC/MS) e sua evolução em dois tempos de autólise (3 e 18 meses). Foram identificados e semi-quantificados sessenta e seis compostos voláteis entre ácidos, aldeídos, terpenos, cetonas, álcoois e ésteres, estes dois últimos em maior quantidade.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, houve um aumento mundial de cerca de 29% da produção de vinhos espumantes, chegando a um volume de 9,3 milhões de hectolitros, e movimentando cerca de 6,2 bilhões de euros por ano (OIV, 2019). Esta realidade vem estimulando a busca tecnológica pelo desenvolvimento de vinhos espumantes mais atrativos para o mercado consumidor (POZO-BAYÓN et al., 2004; RUIZ-MORENO et al., 2017; PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018). Países como Itália, França e Espanha são os maiores produtores mundiais de vinhos espumantes, e a economia das regiões produtoras é praticamente baseada nesta atividade (OIV, 2019).

Tradicionalmente, em regiões vitivinícolas frias e temperadas, as cultivares viníferas mais utilizadas para a elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional são a Chardonnay, Pinot Noir, Pinot Meunier, Pinot Blanc, Riesling, Gamay e Chenin Blanc (CALIARI et al., 2014). Entretanto, com o aumento global da produção dessa bebida, há um foco crescente no uso de uvas alternativas, principalmente, em regiões emergentes (EDER e ROSA, 2021). A escolha da cultivar para elaboração de vinhos espumantes deve ser feita considerando as condições edafoclimáticas da região e a tipicidade desejada para a bebida (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

No Brasil, pesquisas recentes têm estudado o uso de cultivares alternativas para elaboração de vinhos espumantes como a Moscato Embrapa, Villenave, Manzoni Bianco e Goethe na região sul do país, investigando as suas composições voláteis, o perfil sensorial e fenólico dessas bebidas (CALIARI et al., 2014; SARTOR et al., 2019). No Vale do Submédio São Francisco (VSSF), região de clima tropical semiárido, localizado no Nordeste do Brasil, englobando os Estados de Pernambuco e Bahia, os vinhos espumantes representam 70% da produção, e são produzidos exclusivamente pelos métodos Asti e Charmat. Para o primeiro método, as principais uvas utilizadas são a ‘Moscato Itália’ e ‘Moscato Canelli’, para o segundo método, são empregadas, especialmente, as cultivares Chenin Blanc, Sauvignon Blanc, Verdejo, Viognier, Grenache e Syrah (PEREIRA et al., 2020). Trabalhos científicos relacionados à avaliação de vinhos espumantes tropicais elaborados pelo método Tradicional foram iniciados no VSSF, sendo observada sua composição química. No estudo de Nascimento et al (2018) foram elaborados vinhos espumantes brancos e rosés pelo método tradicional com as uvas Chenin Blanc e Syrah, respectivamente, sendo avaliados compostos voláteis, e a

capacidade antioxidante. Entretanto, fatores relacionados ao processo de elaboração do produto e a composição fenólica, são aspectos importantes, e não foram anteriormente avaliados.

As cultivares Syrah, Grenache e Viognier são bem adaptadas e têm sua produção consolidada no VSSF, a primeira e segunda são utilizadas para elaboração de vinhos espumantes pelo método Charmat e a última para vinhos brancos tranquilos (PEREIRA et al., 2020; LEÃO et al. 2021). A uva tinta ‘Syrah’ já é utilizada para vinhos espumantes tintos em países como a Austrália (EDER e ROSA 2021), porém, não há registros de estudos que compreendam o comportamento dessa uva para a elaboração destes vinhos espumantes tintos pelo método Tradicional. A cultivar Grenache já é uma cultivar mundialmente utilizada na elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional, sendo uma das castas tintas aplicadas na elaboração dos tradicionais Cavas espanhóis (MARTÍNEZ-LAPUENTE et al., 2018; KEMP et al., 2015). Por outro lado, ainda que vinhos tranquilos da cv. Viognier já têm qualidade reconhecida e consolidada em regiões como o Vale do Rhône, na França (SIEBERT et al., 2018), até o momento, não há informações na literatura que relate seu uso na elaboração de vinhos espumantes varietais.

Além de pesquisa com relação a escolha das uvas, nos últimos anos, os estudos com vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional também estão voltados para a investigação do impacto de diversas práticas enológicas na composição química e sensorial desse produto (STEFENON et al., 2014; RUIZ-MORENO et al., 2017; MARTÍNEZ-LAPUENTE et al., 2018; RIZZOLO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2019; PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018; SARTOR et al., 2019a; SARTOR et al., 2019b; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020). Entre as práticas avaliadas, a maceração pré-fermentativa a frio, que é uma técnica usualmente utilizada na elaboração de vinhos espumantes *rosés*, pode promover maior ou menor extração de alguns compostos fenólicos e voláteis, variando de acordo com o tempo e temperatura empregados. Com isso, pode influenciar na coloração, acidez, adstringência e aroma, além de impactar a qualidade nutracêutica do vinho (SALINAS et al., 2005; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; CEJUDO-BASTANTE et al., 2014; RUIZ-MORENO et al. 2017; ALEIXANDRE-TUDO e DU TOIT, 2018). Essa técnica é aplicada antes da fermentação alcoólica e pode ser utilizada de duas formas, com a adição de gelo seco (PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2019) ou com uso de refrigeração (RUIZ-MORENO et al. 2017).

Além disso, na elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional, o envelhecimento sobre borras (autólise) é uma etapa determinante para a composição química e

a complexidade da bebida. Desta forma, a escolha do tempo desta etapa pode alterar o aroma, a estabilidade de cor e a capacidade antioxidante, além de modificar o potencial de envelhecimento do produto (GALLARDO-CHACÓN et al. 2010; ALEXANDRE & GUILLOUX-BENATIER, 2006; PONS-MERCADÉ et al., 2021). Com isso, os estudos do impacto do tempo dessa etapa e das reações envolvidas nesse processo, são importantes para a manutenção da qualidade do vinho espumante e vem sendo objeto de vários estudos (STEFENON et al., 2014; RUIZ-MORENO et al. 2017; SARTOR et al. 2019a; SARTOR et al. 2019b; SARTOR et al., 2021).

Nesse contexto, alguns trabalhos que associaram a maceração pré-fermentativa a frio e a autólise foram iniciados. Os trabalhos desenvolvidos por Pérez-Magariño et al (2018) e González-Lázaro et al (2019) avaliaram, entre outras técnicas, o uso da maceração pré-fermentativa a frio com a adição de gelo seco na elaboração de vinhos espumantes tintos da cultivar Tempranillo envelhecidos nove meses sobre as borras de levedura. Ambos analisaram a ação dessa maceração nas características sensoriais do produto e, em adição, o primeiro trabalho caracterizou a composição volátil e, o segundo, valores totais de algumas classes de compostos fenólicos dos vinhos espumantes. Além disso, estudo conduzido por Ruiz-Moreno et al (2017) estudaram a influência da maceração pré-fermentativa a frio com uso de refrigeração e do envelhecimento sobre as borras de levedura (0, 3, 6 e 9 meses), no conteúdo de ésteres em vinhos espumantes brancos da cultivar Pedro Jiménez.

Neste cenário, os estudos até o momento apresentam os compostos fenólicos e voláteis como marcadores de qualidade para vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional, contudo, há ainda muito a ser explorado dentro do universo das cultivares de uva disponíveis e das práticas enológicas. Desta forma, acredita-se que as cultivares Viognier, Grenache e Syrah tenham potencial para elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional, branco, *rosé* e tinto, respectivamente, e que o emprego de práticas enológicas, como a maceração pré-fermentativa a frio e o envelhecimento sobre borras (autólise), podem desempenhar papel importante na obtenção de vinhos espumantes de qualidade superior.

1.1 REFERÊNCIAS

ALEIXANDRE-TUDO, J.L.; DU TOIT, W. Cold maceration application in red wine production and its effects on phenolic compounds: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 95, p. 200-208, 2018.

ALEXANDRE, H.; GUILLOUX-BENATIER, M. Yeast autolysis in sparkling wine - A review. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 12(2), p. 119–127, 2006.

BUXADERAS, S.; LÓPEZ-TAMAMES, E. Sparkling Wines: Features and Trends from Tradition. **In Advances in Food and Nutrition Research**, v. 66, 2012.

CALIARI, V.; BURIN, V.M.; ROSIER, J.P.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. **Food Research International**, v. 62, p. 965-973, 2014.

CEJUDO-BASTANTE, M.J.; GORDILLO, B.; HERNANZ, D.; ESCUDERO-GILETE, M.L.; GONZÁLEZ-MIRET, M.L.; HEREDIA, F.J. Effect of the time of cold maceration on the evolution of phenolic compounds and colour of Syrah wines elaborated in warm climate. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49(8), p. 1886–1892, 2014.

EDER, M.L.R.; ROSA, A.L. Non-conventional grape varieties and yeast starters for first and second fermentation in sparkling wine production using the traditional method. **Fermentation**, v. 7 (321), 2021.

GALLARDO-CHACÓN, J.J.; VICHI, S.; URPÍ, P.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie aging. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 48-53, 2010.

GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; PALACIOS, A.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; BUENO-HERRERA, M.; CUESTA, P. L.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Effects of different oenological techniques on the elaboration of adequate base wines for red sparkling wine production: phenolic composition, sensory properties and foam parameters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, p. 4580-4592, 2019.

GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; BUENO-HERRERA, M.; DE LA CUESTA P.L.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Evaluation of grape ripeness, carbonic maceration and pectolytic enzymes to improve the chemical and sensory quality of red sparkling wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, p. 2618-2629, 2020.

KEMP, B.; ALEXANDRE, H.; ROBILLARD, B.; MARCHAL, R. Effect of production phase on bottle-fermented sparkling wine quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63(1), p. 19-38, 2015.

LEÃO, P.C.de S.; MARQUES, A.T.B.; BARROS, A.P.A. Cultivares de videira para a elaboração de vinhos finos para o Submédio do Vale do São Francisco. **Circular técnica**, 128, Embrapa, Petrolina, 2021.

MARTÍNEZ-LAPUENTE L.; VALIENTE, R.A.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; WILLIAMS, P.; DOCO, T. Polysaccharides, oligosaccharides and nitrogenous compounds change during the ageing of Tempranillo and Verdejo sparkling wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98(1), p. 291–303, 2017.

NASCIMENTO, A.M.S.; SOUZA, J.F.; LIMA, M.S.L.; PEREIRA, G.E. Volatile Profiles of Sparkling Wines Produced by the Traditional Method from a Semi-Arid Region. **Beverages**, v. 4, 103, 2018.

OIV, International Organization of Vine and Wine. Statistical Report on World Vitiviniculture, 2019. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/annual-assessment>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

PEREIRA, G.E.; ZANUS, M.C.; DE MELLO, L.M.R.; LIMA, M.S.; PEREGRINO, I. Panorama da produção e mercado nacional de vinhos espumantes. **Informe agropecuário**, v. 41(310), p. 7-18, 2020.

PÉREZ-MAGARIÑO, S.; BUENO-HERRERA, M.; DE LA CUESTA, P.L.; GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B. Volatile composition, foam characteristics and sensory properties of Tempranillo red sparkling wines elaborated using different techniques to obtain the base wines. **European Food Research and Technology**, v. 245(5), p. 1047-1059, 2018.

PONS-MERCADÉ, P.; GIMÉNEZ, P.; GOMBAU, J.; VILOMARA, G.; CONDE, M.; CANTOS, A.; ROZÈS, N.; CANALS, J.; ZAMORA, F. Oxygen consumption rate of lees during sparkling wine (Cava) aging; influence of the aging time. **Food Chemistry**, v. 342:28238, 2021.

POZO-BAYÓN, M.A.; POLO, M.C.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J.; PUEYO, E. Effect of vineyard yield on the composition of sparkling wines produced from the grape cultivar Parellada. **Food Chemistry**, v. 86(3), p. 413-419, 2004.

POZO-BAYÓN, M.Á.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; PUEYO, E.; MORENO-ARRIBAS, M.V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20(6-7), p. 289-299, 2009.

RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUND, A. The microbiology of wine and vinifications (2nd ed.). **Handbook of Enology**, v. 1, 2006a.

RIZZOLO, R.G.; GUERRA, C.C.; PERISSUTTI, G.E.; BEN, R.L.; NAVROSKI, R.; MALGARIM, M.B. Physicochemical and sensory characteristics of fine sparkling red wines produced at different maceration lengths in the south of Brazil. **Bioscience Journal**, v. 34 (1), p. 37-47, 2018.

RUIZ-MORENO, M.J.; MUÑOZ-REDONDO, J.M.; CUEVAS, F.J.; MARRUFO-CURTIDO, A.; LEÓN, J.M.; RAMÍREZ, P.; MORENO-ROJAS, J.M. The influence of pre-fermentative maceration and ageing factors on ester profile and marker determination of Pedro Ximenez sparkling wines. **Food Chemistry**, v. 230, p. 697-704, 2017.

SALINAS, M. R.; GARIJO, J.; PARDO, F.; ZALACAIN, A.; ALONSO, G.L. Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85(9), p. 1527-1536, 2005.

SARTOR, S.; TOALDO, I.M.; PANCERI, C.P.; CALIARI, V.; LUNA, A.S.; DE GOIS, J.S.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Changes in organic acids, polyphenolic and elemental composition of rosé sparkling wines treated with mannoproteins during over-lees aging. **Food Research International**, v. 124, p. 34-42, 2019a.

SARTOR, S.; BURIN, V.M.; FERREIRA-LIMA, N.E.; CALIARI, V.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Polyphenolic Profiling, Browning, and Glutathione Content of Sparkling Wines Produced with Nontraditional Grape Varieties: Indicator of Quality During the Biological Aging. **Journal of Food Science**, v. 84(12), p. 3546-3554, 2019b.

SARTOR, S.; BURIN, V.M.; CALIARI, V.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Profiling of free amino acids in sparkling wines during over-lees aging and evaluation of sensory properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 140:110847, 2021.

SIEBERT, T.E.; BARKER, A.; PEARSON, W.; BARTER, S.R.; LOPES, M.A.D.E B.; DARRIET, P.; HERDERICH, M.J.; FRANCIS, I.L. Volatile Compounds Related to “Stone Fruit” Aroma Attributes in Viognier and Chardonnay Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66(11), p. 2838-2850, 2018.

STEFENON, C.A.; BONESI, C.D.M.; MARZAROTTO, V.; BARNABÉ, D.; SPINELLI, F.R.; WEBBER, V.; VANDERLINDE, R. Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees. **Food Chemistry**, v. 145, p. 292–299, 2014.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial das cultivares Viognier, Grenache e Syrah, e das técnicas de maceração pré-fermentativa a frio e envelhecimento sobre as borras na elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional no Vale do Submédio São Francisco.

2.2 Objetivos Específicos

- Elaborar vinhos espumantes brancos, rosés e tintos pelo método tradicional a partir das cultivares Viognier, Grenache e Syrah, respectivamente;
- Testar a aplicação da técnica de maceração pré-fermentativa a frio com uso de refrigeração, durante 24 e 72 horas de duração, para a elaboração de vinhos espumantes brancos, rosés e tintos;
- Avaliar o efeito de diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio na composição físico-química, fenólica, volátil e capacidade antioxidante de vinhos base e vinhos espumantes;
- Estudar a evolução fenólica e volátil dos vinhos espumantes até 18 meses de envelhecimento sobre as borras.

3 CAPÍTULO I

Revisão bibliográfica

3.1 Produção de vinhos no Brasil

Em 2020, a produção total de vinhos no mundo foi de 260 milhões de hectolitros, liderada por Itália, França e Espanha que, juntas, são responsáveis por mais da metade do volume total de vinhos produzidos (OIV, 2020). O Brasil é um país vitivinícola de dimensões continentais com 26 regiões produtoras espalhadas em 10 estados brasileiros, totalizando 82.000 hectares plantados. Isto o coloca em 21º no ranking em área plantada e 18º em volume de produção de vinhos, com 1,9 milhões de hectolitros (OIV, 2020; UVIBRA, 2022). Os estados que se destacam com maior área plantada são o Rio Grande do Sul (46,8 mil ha), Pernambuco (8,3 mil ha) e São Paulo (8,0 mil ha) (MELLO e MACHADO, 2021).

Além disso, em 2020, o Brasil registrou o maior consumo de vinhos dos últimos 20 anos, com aumento de 18,4% em relação ao ano anterior, o maior aumento registrado em todo o mundo. Com isso, é hoje o 13º consumidor mundial de vinhos. Contudo, mesmo mostrando que o mercado de vinhos neste país está em pleno crescimento, o Brasil ainda representa apenas 2% do mercado consumidor de vinhos no mundo, apontando que ainda há espaço para este mercado expandir (OIV, 2020).

Neste contexto, os vinhos espumantes vêm ganhando destaque no mercado interno, onde registraram aumento do consumo de 38,50% em 2021, quando comparado a 2020, enquanto para os vinhos tranquilos o aumento foi de 11,43%. Além disso, os vinhos espumantes apresentam forte crescimento das exportações com aumento de 21,36% nesse mesmo período (OIV, 2020; UVIBRA, 2022). Para atender esse mercado, hoje o estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de vinhos espumantes brasileiros com cerca de 22,6 milhões de litros em 2020, seguido do Vale do Submédio São Francisco com 2,8 milhões (PEREIRA et al., 2020; MELLO e MACHADO, 2021).

Além disso, o vinho espumante possui alto valor agregado e tem grande representatividade no mercado de exportações mundial, correspondendo a 19% em valor em todas as exportações registradas em 2020 (OIV, 2020). Em adição, mesmo com a diminuição de importações de vinhos finos nos últimos anos, o mercado brasileiro ainda importa muitos vinhos espumantes e, em 2020, registrou mais de 19 milhões de dólares nessas transações.

(MELLO e MACHADO, 2021). Dessa forma, este cenário aponta para o potencial de crescimento do mercado de vinhos espumantes no Brasil e no Mundo.

3.1.1 Produção de vinhos no Vale do Submédio São Francisco

O Brasil é um dos principais representantes da vitivinicultura tropical no mundo, que se caracteriza por ocorrer em regiões de clima quente, com baixa latitude que permite a videira produzir de 2 a 3 safras por ano. Situada no nordeste do país, a região do Vale do Submédio São Francisco se destaca como distinto território de produção de vinhos tropicais. Abrangendo os estados de Pernambuco e Bahia, é uma região de clima tropical semiárido, inserida dentro do distinto bioma Caatinga, situação única no mundo (LEÃO et al., 2021).

Os vinhedos do VSSF estão localizados entre as latitudes 8 e 10°S, com temperatura média anual de 26,5°C e insolação de 3.000 horas/ano (LEÃO et al., 2021). Esta região representa 13,94% da área produtiva de uvas no Brasil. Contudo, como é possível realizar mais de uma colheita por ano, sua importância produtiva é superior ao citado acima. Com isso, esta região é a segunda maior produtora de uvas do Brasil, e a maior na produção de uvas de mesa, contribuindo com 27,37% da produção nacional (MELLO e MACHADO, 2021).

A principal característica da vitivinicultura tropical praticada no VSSF que a distingue das demais do mundo é que a data da poda das videiras e, consequentemente, da colheita das uvas, é definida pelo produtor. Podendo ser gerenciada pelo viticultor de forma que atenda às demandas de mercado, capacidade de processamento das vinícolas e, ainda, às previsões do tempo, para um ano mais seco ou mais chuvoso. Banhada pelo rio São Francisco, a região dispõe de perene oferta de água que possibilita o manejo da irrigação de forma que regule a quantidade de água necessária de acordo com o estádio de desenvolvimento da planta (PEREIRA et al., 2020; LEÃO, et al., 2021)

Os vinhos produzidos nessa região caracterizam-se, principalmente, por serem jovens e frutados. Em 2018, foram destinados 400 ha de videiras para a produção de uvas para elaboração de vinhos finos no VSSF, produzindo cerca de 4 milhões de litros. Deste total, os vinhos espumantes se destacam, representando 70% da produção local, entre moscatéis, bruts e demi-secs. Os vinhos espumantes moscatéis são produzidos pelo método Asti e representam cerca de 60% da produção total de vinhos espumantes, seguido dos espumantes elaborados pelo método Charmat, podendo ser brut ou demi-sec e brancos ou rosados. Hoje, as principais cultivares utilizadas são a Moscato Itália e a Moscato Canelli, para vinhos espumantes

moscatéis, e Chenin Blanc, Verdejo, Sauvignon Blanc, Viognier, Grenache e Syrah, para os demais (PEREIRA et al., 2020; LEÃO, et al., 2021).

3.1.1.1 Cultivares

A Viognier (Figura 1 A) é uma cultivar branca com origem no sul da França. O cultivo dessa uva branca ainda é pouco explorado chegando apenas a cerca de 11.300 ha, cultivada, principalmente, na França, Austrália e Estados Unidos (PUCKETTE e HAMMACK, 2018), mas vem se expandido para outras regiões vitivinícolas no mundo (SIEBERT et al. 2018). Sua produção é destinada, sobretudo, à elaboração de vinhos brancos, dando origem a vinhos frutados, com baixa acidez e bom potencial alcoólico. Quando cultivada em climas mais frios apresentam aromas cítricos, florais e minerais. Por outro lado, em climas quentes, favorece a formação de aromas que remetem a rosas, baunilha e frutas secas, como o damasco (PUCKETTE e HAMMACK, 2018).

Figura 1 Uvas Viognier (A), Grenache (B) e Syrah cultivadas no VSSF.



Fonte: Acervo do autor

Na França, a Viognier é uma cultivar utilizada na elaboração de grandes vinhos brancos do Vale do Rhône e, em outros países, entra em cortes com uvas tintas contribuindo positivamente com os aromas de alguns vinhos tintos, principalmente, no corte com a uva Syrah (SIEBERT et al. 2018). No Brasil seu cultivo vem ganhando destaque para elaboração de vinhos finos, chegando a produção de 531.026 Kg em 2020 no estado do Rio Grande do Sul (MELLO e MACHADO, 2020).

A cultivar Grenache (Figura 1 B), também conhecida como Garnacha Tinta ou Grenache Noir, é originária da Catalunha, no norte da Espanha. De maneira geral, é uma uva tinta altamente vigorosa, com alta fertilidade e cachos grandes, apresentando rendimento de médio a alto. É resistente à seca, adaptando-se a climas quentes e secos e a diferentes tipos de solo. Com isso, é a sétima uva tinta mais cultivada em todo o mundo com cerca de 163.000 hectares. Além disso, é cultivada em países como Estados Unidos, Itália e Austrália, contudo, Espanha e França, juntos, respondem por 87% da área total dessa cultivar (OIV, 2017).

No geral, esta uva produz vinhos tintos de cor violeta-rubi intensa e, nos vinhos rosados, cor rosa média. Apresenta aromas frutados remetendo a morango e ameixa seca, podendo, ainda, apresentar toques herbáceos e de tabaco. Os taninos e a acidez são presentes e equilibrados, e possuem alto potencial alcoólico, apresentando corpo médio a alto. No vale do Rhône, na França, 70% dos vinhedos são dessa cultivar e é a principal uva do famoso corte GSM (Grenache-Syrah-Mourvedre) (PUCKETTE e HAMMACK, 2018).

No Brasil sua produção ainda é discreta sendo colhidas apenas 1.130 Kg no estado do Rio Grande do Sul em 2020 (MELLO e MACHADO, 2020). Contudo, no Vale do Submédio São Francisco (Figura 2), se destaca pelo desempenho agronômico, com alta produtividade chegando até 20 toneladas por hectare (t/ha) (LEÃO et al. 2021), enquanto em outras regiões do mundo registra entre 2,0 a 8,0 t/ha (OIV, 2017). Nesta região, as bagas são pobres em cor, sendo utilizadas, principalmente, para elaboração de vinhos espumantes rosés ou em cortes com outras cultivares tintureiras.

Os estudos genéticos indicam que a uva Syrah (ou Shiraz) (Figura 1 C) é uma cultivar tinta resultado do cruzamento natural das Mondeuse Blanche e Dureza. No geral, é uma cultivar vigorosa, com curto período de maturação e colheita tardia. A uva Syrah foi, entre as uvas tintas, a quinta mais plantada no mundo em 2015, com 190.000 hectares espalhados por 31 países. A França tem a maior área plantada com 64.000 ha, contudo, países vitivinícolas do Novo Mundo vêm ampliando sua produção e a Austrália chega a 40.000 ha plantados, sendo a uva mais cultivada neste país. Na América do Sul tem produção significativa na Argentina e Chile 13.000 e 8.000 ha, respectivamente (OIV, 2017; PUCKETTE e HAMMACK, 2018).

De forma geral, a Syrah produz vinhos de cor intensa e rico em taninos e acidez, podendo se apresentar com médio corpo ou encorpados. Os aromas dominantes são de frutas negras como mirtilo, amora-silvestre e ameixa, além de azeitona, couro e especiarias como a pimenta-do-reino. A uva Syrah dá origem, principalmente, a vinhos tintos tranquilos, contudo,

a expansão do seu cultivo ao redor do mundo vem mostrando a versatilidade dessa cultivar. Na Austrália, por exemplo, é utilizada para elaboração de vinhos fortificados e vinhos espumantes tintos (PUCKETTE e HAMMACK, 2018; EDER e ROSA, 2021).

No Brasil, seu cultivo é praticado em importantes regiões vitivinícolas do país como: Vale do Submédio São Francisco, Campanha Gaúcha, Chapada Diamantina, São Paulo e Minas Gerais. No Vale do Submédio São Francisco, essa uva dá origem a vinhos tintos e a vinhos espumantes brancos e rosés elaborados pelo método Charmat (PEREIRA et al. 2018; LEÃO et al. 2021).

3.2 Vinho Espumante

A origem dos vinhos espumantes está associada diretamente à região de Champagne, na França, onde por volta do século XVII há os primeiros indícios da produção dessa bebida. O francês Pierre Pérignon foi um dos pioneiros no registro das metodologias mais adequadas para obtenção de vinhos de qualidade nesta região. Mais tarde, no século XIX, outra personalidade importante para o progresso da tecnologia dessa produção foi Nicole-Barbe Clicquot Ponsardin, mundialmente conhecida como Viúva Clicquot, que desenvolveu técnicas para tornar a bebida mais límpida e brilhante. Por fim, só a partir do século XX os conhecimentos microbiológicos e tecnológicos envolvidos na produção dos vinhos espumantes avançaram e o domínio do processo de elaboração possibilitou a expansão da produção (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

3.2.1 Tecnologia de produção

Os vinhos espumantes podem ser classificados de acordo com as diferentes tecnologias de produção, podendo ser elaborados em garrafas ou em grandes tanques de pressão. Estes últimos são produzidos em tanques hermeticamente fechados, onde o vinho passa por todas as etapas de elaboração para só então serem transferidos para as garrafas em que são comercializados. Os vinhos espumantes fermentados em garrafa podem ser filtrados e transferidos para outra garrafa (método de transferência) ou todo o processo (fermentação e envelhecimento) pode ser produzido na mesma garrafa que vai para o mercado (método clássico ou tradicional) (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009; POZO-BAYÓN et al., 2009; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

A legislação específica de cada país regula as matérias-primas, alguns parâmetros físico-químicos do vinho de base e as tecnologias de vinificação para garantir a qualidade destes

vinhos (POZO-BAYÓN et al., 2009). No Brasil, a Lei n. 10.970 de 12 de novembro de 2004, define que espumante ou espumante natural é o vinho cujo anidrido carbônico provém exclusivamente de uma segunda fermentação alcoólica do vinho em grandes recipientes (método Charmat) ou em garrafas (método *Champenoise*, Clássico ou Tradicional), com uma pressão mínima de quatro atmosferas a 20 °C e com teor alcoólico de 10% a 13% em volume (BRASIL, 2004).

3.2.2 Método Tradicional

A nomenclatura do método muda de acordo com a região de origem. Em Champagne, na França, é denominado método *Champenoise*, na Itália como método Clássico (vinhos *Talento* e *Spumanti Metodo Classico*) e para as Cavas espanholas como método Tradicional (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). Já no Brasil, pode ser denominado método *Champenoise* ou Tradicional (BRASIL, 2004).

No método Tradicional (*Champenoise*), os vinhos espumantes são fermentados e envelhecidos na mesma garrafa que será comercializada. Este método é utilizado em produtos de alta qualidade, como, por exemplo, os Champagnes franceses e os Cavas espanhóis. O processo de elaboração desses dois produtos é similar, contudo, as maiores diferenças entre estes vinhos estão associadas às uvas empregadas, produtividade no parreiral, condições edafoclimáticas da região produtora, práticas enológicas adotadas e ao tempo em que a bebida é mantida em contato com as borras de levedura durante o envelhecimento (POZO-BAYÓN et al., 2009; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012; DI GIANVITO et al., 2019).

O vinho espumante elaborado pelo método tradicional (Figura 2) requer duas fermentações alcoólicas. A primeira fermentação é responsável pela transformação do mosto das uvas em vinho base. Segundo o método, ocorre a segunda fermentação na garrafa, onde há um aumento do teor de álcool e pressão interna da garrafa, a chamada tomada de espuma. Após esta segunda fermentação alcoólica, o vinho é envelhecido nas borras das leveduras em uma etapa denominada autólise. Trata-se de um processo lento que ocorre no final da fase estacionária de crescimento das leveduras e, geralmente, associado à morte celular que envolve processos enzimáticos que atuam na liberação citoplasmática (peptídeos, ácidos graxos, nucleotídeos, aminoácidos) e na parede celular (manoproteínas) (ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

As cultivares utilizadas na elaboração de vinhos espumantes pode ser uma das variáveis mais importantes para a composição química final da bebida (POZO-BAYÓN et al., 2009) e as

pesquisas estão cada vez mais voltadas para explorar as distintas características possíveis a partir da escolha da cultivar (MARTÍNEZ-LAPUENTE et al., 2013; CALIARI et al., 2014; MARTÍNEZ-LAPUENTE et al., 2018) de forma que atenda a crescente demanda do mercado consumidor por vinhos espumantes (OIV, 2019).

Em todo o mundo a seleção da cultivar leva em consideração as condições climáticas da região onde será cultivada, a produtividade da planta e as características desejadas para o vinho espumante (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). A partir da escolha da cultivar, o monitoramento da sua maturação é fase imprescindível para a qualidade do vinho espumante e vem sendo objeto de estudo. A colheita das uvas destinadas à elaboração de vinhos espumantes deve ocorrer em um período de maturação onde se alcance baixas concentrações de açúcar, alta acidez e pH baixo, visando vinhos frescos e leves (MARTÍNEZ-LAPUENTE et al., 2016). Além disso, a maneira como as uvas chegam até a área de processamento é fator determinante na qualidade do vinho espumante final. Após a colheita, elas devem chegar o mais intactas possível na adega. Se a colheita for mecânica, é imprescindível que seja realizada à noite, para evitar altas temperaturas diurnas (30 a 35 °C), que podem favorecer reações de oxidação e fermentações indesejadas (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

As uvas são desengaçadas e, no momento do processamento, é adicionado o dióxido de enxofre para evitar reações microbiológicas indesejadas realizada pela microbiota indígena presente e para inativar a polifenol oxidase, enzima responsável pela oxidação fenólica nos mostos e vinhos (FLANZY et al., 1999; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). Além disso, nesta etapa podem ser adicionadas enzimas pectolíticas para obter mostos mais límpidos e aumentar o rendimento (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

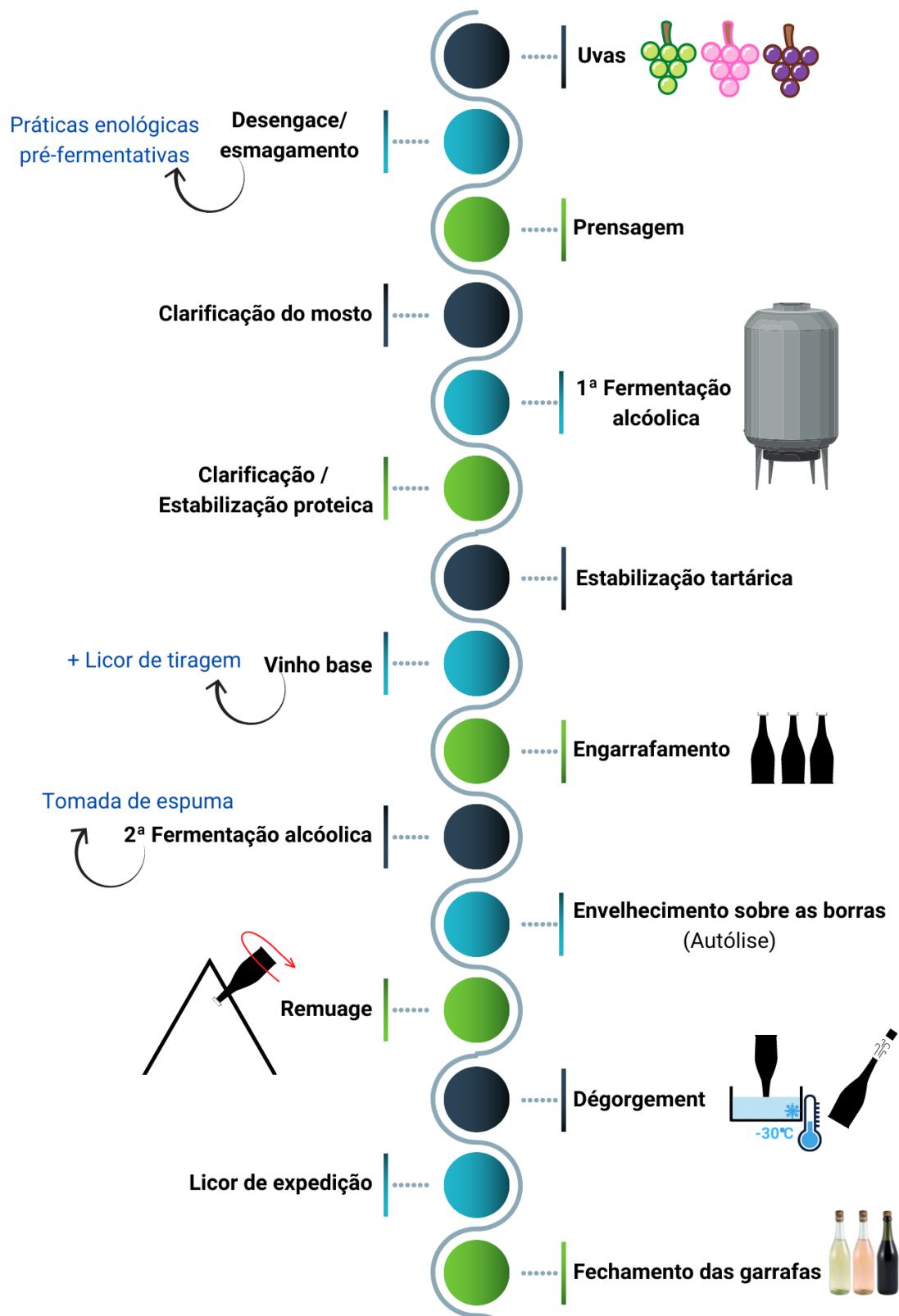
Ainda nesta fase, é possível aplicar práticas enológicas capazes de modificar a composição química e o perfil sensorial dos vinhos espumantes. A exemplo da maceração pré-fermentativa a frio, que já é uma técnica utilizada na elaboração de vinhos espumantes rosés (RUIZ-MORENO et al., 2017). Segundo a Resolução nº 12/2005 da Organização Internacional da Uva e do Vinho, define-se maceração a frio como um procedimento de realizar maceração das uvas por um determinado tempo e temperatura, com a finalidade de favorecer a extração dos constituintes da película antes do início da fermentação alcoólica (OIV, 2005). Durante esta etapa, são liberados no mosto compostos fenólicos, que contribuem para a cor e estrutura geral do vinho, além de aromas e seus precursores, como compostos nitrogenados, polissacarídeos (especialmente, pectinas) e minerais. (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; RUIZ-MORENO et al., 2017; ALEIXANDRE-TUDO e DU TOIT, 2018).

A maceração a frio consiste em resfriar as uvas a baixas temperaturas (5 a 15 °C) antes da fermentação alcoólica durante horas ou dias, e o mosto deve ter uma concentração mínima de dióxido de enxofre livre (cerca de 25 mg/L) que iniba a atividade microbiológica indígena (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; CEJUDO-BASTANTE, et al., 2014). Quando aplicada com curta duração, minimiza a difusão de compostos fenólicos no mosto, levando à obtenção de vinhos jovens, frescos e frutados. Por outro lado, macerações longas e temperaturas mais elevadas originam vinhos com mais cor e maior volume de boca. Além disso, a liberação de potássio pelas películas da uva e a parcial salificação do ácido tartárico leva a uma diminuição da acidez total e a um valor elevado de pH (JACKSON et al., 2000; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

Os compostos fenólicos extraídos durante a maceração pré-fermentativa a frio irão contribuir para a estabilidade de cor destes vinhos, atuando como substratos de oxidação (GÓMEZ-MÍGUEZ et al., 2007; CEJUDO-BASTANTE et al., 2011). Além disso, o emprego desta maceração em vinhos brancos e rosés altera o perfil volátil, podendo apresentar maiores concentrações de ésteres etílicos de ácidos graxos e acetatos de álcoois superiores (SALINAS et al., 2005; RUIZ-MORENO et al., 2017).

Após o processamento das uvas, elas seguem para a prensagem, onde a qualidade do mosto sofre influência do tipo adotada, sendo mais comum o uso de prensas pneumáticas que extraem o líquido de forma suave (0.1 Kg/cm²) para evitar notas amargas e herbáceas. Normalmente, o mosto extraído da primeira fração da prensagem (cerca de 60% de rendimento) é destinado a produtos de categoria superior, enquanto o obtido da segunda fração é de qualidade inferior (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). As diferentes frações extraídas do mosto refletem a condição de maturação das uvas onde a parte mais externa da polpa tem maior concentração de açúcares, porém é menos ácida, devido à salificação dos ácidos orgânicos presentes nas proximidades da película. Por outro lado, a parte mais próxima das sementes tem maior acidez e menos açúcar (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

Figura 2 Fluxograma de elaboração de vinhos espumantes pelo Método Tradicional.



Fonte: Elaborado pelo autor e adaptado de Manfroi (2010).

Em seguida, deve ser realizada a clarificação do mosto que pode ser por método estático (duração de 12 a 24 horas) ou método dinâmico (filtração ou centrifugação) (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). A enzima pectolítica utilizada vai ter grande influência nesta etapa por facilitar a floculação e sedimentação de compostos orgânicos suspensos. Além disso, para otimizar o método estático, pode ser adicionado clarificantes como bentonite e taninos enológicos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). Após esta etapa, também denominada *debourbage*, avalia-se a necessidade de corrigir as concentrações de ácidos e açúcares, visando as características desejadas no vinho base final. Em condições climáticas frias são encontrados altos níveis de ácidos e baixos níveis de açúcar, sendo necessária a adição de sacarose ao mosto (chaptalização) ou realizar a concentração do mosto. Por outro lado, mostos obtidos em regiões de climas temperados ou quentes alcançam quantidades suficientes de açúcar que garantem o teor mínimo de álcool (9.0 a 10.0% v/v) para vinhos base e, em alguns casos, é necessário corrigir a acidez adicionando ácido tartárico e/ou cítrico (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Somente após identificarem alguns problemas no controle da segunda fermentação alcoólica nas garrafas de vinhos espumantes, como o excesso ou a falta de pressão, no final do século XVII, produtores de Champagne desenvolveram um procedimento mais seguro para a qualidade do seu processo de elaboração que é utilizado até hoje. Para isso, foi estabelecido que deveria ser elaborado um vinho base com fermentação alcoólica totalmente concluída (sem residual de açúcar) e, para a segunda fermentação em garrafa, deveria ser adicionado uma concentração conhecida de açúcar suficiente para a pressão desejada (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

Atualmente, os vinhos base são elaborados pelas técnicas convencionais da produção de vinhos brancos, podendo ser monovarietais ou uma mistura entre uvas brancas e/ou tintas (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009). Para controle da qualidade da elaboração do vinho base, recomenda-se que a fermentação alcoólica ocorra em recipientes de aço inoxidável com controle de temperatura. Além disso, recomenda-se que sejam inoculadas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Contudo, pesquisas recentes também avaliam as possibilidades de uso de leveduras não-*Saccharomyces* para elaboração desses produtos (EDER e ROSA, 2021). Esta primeira fermentação alcoólica deve ocorrer em temperaturas abaixo de 20 °C, preservando, principalmente, compostos voláteis de qualidade que afetam o aroma final do vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Em condições normais, a levedura finaliza a fermentação em poucos dias (15 a 20 dias), dando origem a um vinho com um açúcar residual inferior a $2,0 \text{ g.L}^{-1}$. Após esta etapa, o vinho é submetido a temperaturas mais baixas (menor que 8°C) e os colóides suspensos sedimentam, tornando o vinho mais límpido e brilhante. Quando a clarificação física por estática for insuficiente, agentes de colagem como bentonite, gelatina, caseinatos e/ou polivinilpirrolidona podem ser empregados para otimizar o processo (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Para a qualidade e estabilidade do vinho espumante final é indispensável realizar estabilidade proteica e tartárica do vinho base. A estabilização proteica poderá ocorrer junto com etapa de clarificação e é usualmente realizada com a adição de bentonite. Este clarificante é uma argila coloidal que possui alto grau de adsorção a moléculas protéicas, arrastando essas partículas para o fundo do recipiente de elaboração, facilitando a limpeza do vinho base. Além disso, para a estabilização tartárica, ocorre a precipitação antecipada de sais de bitartarato de potássio e tartarato de cálcio em temperaturas negativas (-4°C) por cerca de 10 dias. Os cristais formados são insolúveis em meio hidroalcoólico e podem ser eliminados por trasfega ou por membranas filtrantes (FLANZY et al., 1999; MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). Em alguns casos, quando o vinho base apresenta acidez total superior a $15,0 \text{ g.L}^{-1}$, podem ser submetidos à fermentação malolática, promovendo sua estabilidade microbiológica, evitando que esta fermentação ocorra na garrafa, evitando defeitos no vinho espumante final como excesso de pressão (CO_2) e turvações (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

O vinho base finalizado não deve ter o teor alcoólico muito elevado, variando de 10 a 11,5% v/v, visto que a graduação alcoólica aumentará durante a segunda fermentação. Além disso, deve ter a acidez adequada (80 a 90 meq L^{-1}) e pH ao redor de 3,2, de forma que garanta a atividade microbiológica durante a segunda fermentação alcoólica e um longo potencial de envelhecimento ao vinho espumante final (MANFROI, 2010). Por estas razões, em regiões de clima quente, a colheita tende a ocorrer antes das uvas atingirem o ponto de maturação tecnológica adotado na produção para a elaboração de vinhos tranquilos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; GIOVANNINI e MANFROI, 2009; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). Além disso, a concentração de dióxido de enxofre livre acima 25 mgL^{-1} e o pH inferior a 2,8 podem comprometer a atividade das leveduras durante a segunda fermentação alcoólica (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012), sendo parâmetros importantes para o sucesso do vinho espumante final.

A segunda fermentação alcoólica do vinho base é o momento mais delicado na elaboração de um vinho espumante de qualidade, é nesta fase que as borbulhas e a espuma, tão características desta bebida, são formadas. Para isso, é adicionado ao vinho base o licor de tiragem composto, essencialmente, por leveduras ativas, sacarose, agente clarificante e nutrientes (MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). A adição do licor pode ocorrer diretamente nos tanques de fermentação onde está o vinho base, antes do engarrafamento, ou, ainda, adicionado a cada garrafa durante o engarrafamento (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

As cepas de levedura utilizadas na elaboração de vinhos espumantes são selecionadas por sua capacidade de crescer a baixas temperaturas e sob pressão em um meio fermentativo com, no mínimo, 10% (v/v) de etanol, por possuírem capacidade satisfatória de floculação ou aglutinação e por sua capacidade autolítica (ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006). Acredita-se que 1 a 2 milhões de células de levedura por mL de vinho sejam suficientes para o sucesso dessa fermentação secundária (FLANZY et al., 1999).

A concentração de açúcar no licor de tiragem varia de 20 a 24 g.L⁻¹, sendo calculada visando a pressão desejada (entre 5 e 6 atm a 20 °C). Isso ocorre porque a cada 4 g.L⁻¹ de sacarose consumidas pelas leveduras no processo fermentativo, é produzido cerca de 1,0 atmosfera de pressão (MANFROI, 2010; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). Além disso, os nutrientes adicionados ao vinho base são compostos, principalmente, por fosfato de amônio e são fundamentais para o bom desenvolvimento das células de leveduras durante a fermentação (MANFROI, 2010). Nos Champagnes franceses é raro o uso de nutrientes porque as uvas e os vinhos oriundos dessa região são ricos em nitrogênio, chegando a concentrações de até três vezes às encontradas em vinhos da região de Bordeaux, também na França (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

Entre os clarificantes utilizados, a bentonite é uma argila coloidal que tem seu uso muito difundido na indústria vitivinícola. Esse agente clarificante é adicionado ao licor de tiragem com objetivo de auxiliar na sedimentação das partículas suspensas, a concentração utilizada não deve ultrapassar 0,5 g L⁻¹ e seu uso deve ser bem monitorado visto seu alto poder de adsorção que pode influenciar diretamente na espuma e composição aromática do vinho espumante (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Por fim, após a adição do licor de tiragem, o vinho base é engarrafado em garrafas de vidro tipo champanheiras para suportar a pressão que será formada durante sua refermentação. As garrafas são fechadas com uma tampa metálica tipo corona e, opcionalmente, antes desta tampa pode ser colocado um opérculo plástico denominado bidule, que auxiliará na remoção das borras para finalização do vinho espumante (MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). Durante a segunda fermentação alcoólica as garrafas devem permanecer em posição horizontal para garantir maior área de contato do vinho com suas borras, garantindo melhor atividade das leveduras (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). Esta etapa pode durar de 1 a 3 meses, dependendo de inúmeros fatores como a cepa de levedura, a composição química do vinho base e a temperatura de fermentação (MANFROI, 2010). Acredita-se que depois de um mês 99% as células de levedura não sejam mais viáveis e após três meses considerasse encerrada esta fermentação (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Em seguida, ocorre o período de envelhecimento do vinho espumante em contato com as borras de leveduras, denominado autólise. O início do processo de autólise começa de dois a quatro meses após o término da fermentação alcoólica (ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006), quando todos os açúcares e nutrientes foram consumidos e as leveduras buscam energia nas suas reservas internas que logo se tornam insuficientes para as demandas das células, começando esse processo autolítico (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009). Esta etapa pode originar vinhos espumantes mais aromáticos, equilibrados, com maior potencial de envelhecimento, estabilidade de cor e capacidade antioxidante. Durante este estágio, as propriedades organolépticas e a espuma do vinho são modificadas, refletindo mudanças na composição e complexidade do produto, trazendo aromas e sabores característicos de vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional (ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

O processo de autólise consiste na hidrólise intracelular de biopolímeros por enzimas hidrolíticas que resulta na liberação de vários compostos de baixo peso molecular, como aminoácidos, peptídeos, proteínas, polissacarídeos, derivados de ácidos nucléicos e lipídios, que têm um efeito positivo sobre a composição química e organoléptica do vinho espumante (ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006; TORRESI, et al. 2011). A autólise pode ser dividida em quatro etapas. Na primeira ocorre a degradação celular com a liberação de proteases presentes nos vacúolos citoplasmáticos. Em seguida, as proteases sofrem inibição por inibidores citoplasmáticos específicos, que são degradados, ativando as proteases e glucanases. Na terceira etapa, estes componentes poliméricos são hidrolisados, se acumulando na parede celular. Por

fim, os produtos da hidrólise são liberados quando suas massas moleculares são baixas o suficiente para atravessar os poros da parede celular (BABAYAN et al., 1981; KEMP et al., 2005). Fatores como o pH, a presença de etanol, a cepa de levedura, a pressão e a temperatura podem afetar o andamento desta etapa. Na prática, as condições de autólise na elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional variam, com pH 3 a 4, temperatura de 10 a 18 °C, cerca de 12% v/v de etanol e 6 atm de pressão (MOLNAR et al., 1981; ALEXANDRE e GUILLOUX-BENATIER, 2006).

Após o período de autólise desejado para o vinho espumante, a bebida é preparada para, enfim, ir para o consumidor final. Para isso, é necessário proceder a retirada das borras presentes na garrafa. A *remuage* é uma etapa importante para auxiliar na floculação e sedimentação das borras no gargalo da garrafa. Tradicionalmente, esta técnica é realizada em suportes de madeiras denominados *pupitres*, onde as garrafas ficam inclinadas em ângulos entre 20 a 30° em relação ao solo. Para movimentar os sedimentos em direção ao gargalo, as garrafas são diariamente giradas em movimentos espasmódicos (cerca de ¼ de volta) aumentando sua inclinação, trazendo gradualmente a garrafa para a posição vertical. Este processo é lento, podendo durar de 15 dias a 2 meses (MANFROI 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012), dependendo do tipo do vinho e de sua estrutura coloidal, bem como da capacidade de floculação da cepa de levedura utilizada na segunda fermentação (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a). Ao longo dos anos foram desenvolvidas técnicas para otimizar e mecanizar esse processo. Já é difundido em todo o mundo o uso do *Gyropallet*, onde a *remuage* ocorre de forma mecânica e automática. Trata-se de uma gaiola metálica que suporta cerca de 500 garrafas, que simula as condições da *remuage* manual. Esta tecnologia pode reduzir o tempo desta etapa para semanas ou dias (MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012) e, por outro lado, apresenta um elevado investimento inicial para implantação (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a).

Por fim, concluída a *remuage*, para remoção das borras é realizado o *dégorgement*. As garrafas com os gargalos (e borras) em posição perpendicular ao solo são inicialmente refrigeradas (cerca de 0 °C) e então são levadas para o processo de congelamento dos sedimentos em solução criogênica (-30 °C), cerca de 2 cm acima da tampa. A garrafa então é invertida e é retirada a tampa corona. A pressão contida na garrafa auxilia na liberação do cubo de gelo formado pelas borras. Ao final, mesmo com todos cuidados, nesta etapa do processo deve-se assumir a possibilidade de perda de gás carbônico estimado ao redor de 0,2 a 0,5 atm de pressão (MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Logo após o *dégorgement*, é adicionado o licor de expedição para as correções finais dos padrões de qualidade do vinho espumante. Este licor é composto basicamente de sacarose e vinho base, podendo ser adicionado dióxido de enxofre, destilado vínico ou ácido orgânicos estáveis, como o ácido cítrico. Será nesse momento que se define qual categoria em relação ao teor de açúcar o vinho espumante será classificado (nature, brut ou demi-sec, por exemplo). As concentrações desses ingredientes mudam de acordo com o produto e produtor, e a legislação específica de cada país/região (MANFROI, 2010; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Por fim, as garrafas recebem as rolhas, gaiolas de metal, cápsulas e são rotuladas. As rolhas de cortiça são as mais utilizadas para fechar os vinhos espumantes por possuírem boa permeabilidade, grande elasticidade e resistência ao desgaste (MANFROI, 2010). Além disso, se caracterizam por serem conglomeradas, com 1 ou 2 discos de alta qualidade na extremidade que terá contato direto com o líquido. Vedantes de outros materiais não são consideradas na produção de vinhos espumantes de alta qualidade por não oferecerem propriedades físico-químicas necessárias para garantir os atributos sensoriais desejáveis nesses vinhos como efervescência e complexidade aromática (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

Estes aspectos relacionados à manutenção da qualidade sensorial do vinho espumante após engarrafado são essenciais, já que o consumo de vinhos está diretamente ligado à busca do consumidor por experiências prazerosas. As características sensoriais como efervescência, espuma, cor e aromas são os principais atributos que determinam a preferência desse mercado. Sendo assim, as diferentes estratégias de vinificação aplicadas na elaboração de vinhos espumantes devem buscar um equilíbrio na composição da bebida que beneficie suas propriedades sensoriais e nutritivas (POZO-BAYÓN et al., 2009; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

A característica que mais distingue o vinho espumante dos vinhos tranquilos é a efervescência (do latim *fervere*: ferver). O conjunto de bolhas que emergem no vinho espumante formam sua efervescência (POZO-BAYÓN et al., 2009; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012). Além disso, há a formação da espuma que acontece assim que o vinho espumante é aberto. Por se tratar de uma solução saturada de dióxido de carbono (pressão de 4,0 a 6,0 atm), ocorre uma descompressão quando em contato com a pressão atmosférica do meio (1,0 atm). A espuma é composta por grupos de pequenas bolhas que envolvem o gás carbônico endógeno, produzido durante a fermentação alcoólica, e alguns compostos odoríferos. Estas bolhas são compostas por compostos tensoativos que fornecem viscosidade,

textura e firmeza, sendo parte essencial no perfil sensorial dessas bebidas (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

As práticas enológicas e tratamentos de estabilização, clarificação e filtração adotados durante a elaboração dos vinhos espumantes podem afetar a qualidade da espuma porque atuam diretamente na redução da concentração de proteínas dissolvidas no vinho (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009; POZO-BAYÓN et al., 2009; PÉREZ-MARIÑO et al., 2018). Junto a isso, o envelhecimento sobre as borras das leveduras pode trazer maior estabilidade e persistência para a espuma (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006a; POZO-BAYÓN et al., 2009). Neste contexto, o uso de cepas de leveduras com maior capacidade autolítica, podem ajudar a alcançar melhor qualidade na formação da espuma (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009).

Fatores externos como o modo de abrir a garrafa, a temperatura e o copo utilizado também são cruciais para a avaliação da bebida. Quanto menor a temperatura do vinho espumante, maior o tempo que o gás carbônico permanecerá dissolvido e maior será a duração da efervescência e da espuma durante o tempo que a taça de vinho espumante é consumida (BUXADERAS e LÓPEZ-TAMAMES, 2012).

3.3 Composição química dos vinhos espumantes

A composição química dos vinhos é mais complexa que a da matéria-prima, visto que há numerosas reações enzimáticas e não-enzimáticas durante todo o processo de elaboração, envelhecimento e armazenamento dessas bebidas. Diversos fatores contribuem para isso, como a escolha da uva, o rendimento do vinhedo, qualidade do vinho base e a cepa de levedura utilizada na sua elaboração. Adicionalmente, para os vinhos espumantes, a segunda fermentação alcoólica e o envelhecimento na presença das leveduras são determinantes para sua qualidade, uma vez que ambos os eventos estão envolvidos no carácter distintivo entre vinhos espumantes e vinhos tranquilos (POZO-BAYÓN et al., 2009; TORRESI et al., 2011; UBEDA et al., 2019).

3.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados pela planta, geralmente em resposta ao estresse, como doenças fúngicas, estresse hídrico, radiação ultravioleta e têm um papel determinante na qualidade dos vinhos. Quimicamente são

caracterizados por ter pelo menos um anel aromático com uma ou mais hidroxilas (GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021).

O perfil e a concentração desses compostos dependem da cultivar, das práticas adotadas na viticultura e dos processos biotecnológicos envolvidos na elaboração do vinho, e sua origem influência nas suas propriedades benéficas à saúde e nas características sensoriais como cor, adstringência, amargor, e até mesmo no perfil aromático dos vinhos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b; ŠERUGA et al., 2011; GARRIDO e BORGES, 2013; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021). Há uma variedade de fatores ligados às práticas vitícolas que podem influenciar no teor de compostos fenólicos em uvas, como a escolha da cultivar, condições climáticas de cultivo e práticas de manejo adotadas, podendo alguns compostos fenólicos serem utilizados como marcadores para algumas cultivares. Além disso, durante a elaboração de vinhos, práticas enológicas pré-fermentativas, fermentativas e pós-fermentativas podem impactar na extração e manutenção do conteúdo fenólico (MERKYTÉ, et al., 2020; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021).

Nos vinhos espumantes, a atividade nutricional associada às concentrações dos compostos fenólicos vem motivando pesquisadores a desenvolver estudos que expliquem este vínculo e possam apontar os marcadores ligados às uvas escolhidas e/ou práticas enológicas adotadas na elaboração desta bebida (GALLARDO-CHACÓN et al., 2010; STEFENON et al., 2014; SARTOR et al., 2019). A Tabela 1 apresenta alguns compostos fenólicos e capacidade antioxidante relatados em vinhos espumantes elaborados pelo Método Tradicional.

Tabela 1 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em vinhos espumantes elaborados pelo Método Tradicional

Parâmetros	Cultivar	Cor do vinho espumante	Faixa de concentração (mg L ⁻¹)	Referência
Compostos Fenólicos				
Ácido gálico	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	2,01 a 5,67	(SARTOR et al., 2018)
Ácido <i>trans</i> -caftárico	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	12,85 a 15,41	(SARTOR et al., 2018)
Ácido caféico	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	2,47 a 3,01	(SARTOR et al., 2018)
Ácido ferúlico	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	0,32 a 0,37	(SARTOR et al., 2018)
Quercetina	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	0,23 a 0,31	(SARTOR et al., 2018)

Miracetina	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	0,53 a 1,32	(SARTOR et al., 2018)
(+)-Catequina	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	3,70 a 19,21	(SARTOR et al. 2018)
	Sauvignon Blanc	Branco	5,80	(CALIARI et al., 2014)
	Riesling Renano	Branco	5,61	(CALIARI et al., 2014)
	Pinot Gris	Branco	4,13	(CALIARI et al., 2014)
	Pinot Noir	Branco	3,52	(CALIARI et al., 2014)
	Chardonnay	Branco	3,57	(CALIARI et al., 2014)
(-)-Epicatequina	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	6,45 a 19,98	(SARTOR et al. 2018)
	Sauvignon Blanc	Branco	1,56	(CALIARI et al., 2014)
	Riesling Renano	Branco	1,23	(CALIARI et al., 2014)
	Pinot Gris	Branco	2,15	(CALIARI et al., 2014)
	Pinot Noir	Branco	1,86	(CALIARI et al., 2014)
	Chardonnay	Branco	1,43	(CALIARI et al., 2014)
Trans-resveratrol	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	2,32 a 6,36	(SARTOR et al. 2018)
	Sauvignon Blanc	Branco	0,08	(CALIARI et al., 2014)
	Riesling Renano	Branco	0,10	(CALIARI et al., 2014)
	Pinot Noir	Branco	0,12	(CALIARI et al., 2014)
	Chardonnay	Branco	0,14	(CALIARI et al., 2014)
Peonidina	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	0,29 a 1,02	(SARTOR et al. 2018)
Malvidina	Cabernet Sauvignon/Merlot	Rosé	2,10 a 19,67	(SARTOR et al. 2018)
Conteúdo fenólico total	Tempranillo	Tinto	558,53 a 1.205,00	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
	Pedro Ximenez	Branco	116,0 a 162,0	(RUÍZ-MORENO et al., 2017)
	Moscato Giallo	Branco	95,71	(CALIARI et al., 2015)
	Sauvignon Blanc	Branco	123,80	(CALIARI et al., 2014)

	Riesling Renano	Branco	138,80	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Gris	Branco	77,60	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Noir	Branco	41,30	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Chardonnay	Branco	115,10	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Chenin Blanc	Branco	123,32	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Syrah	Branco	134,79	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Chenin Blanc (50%) e Syrah (50%)	Branco	110,94	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Chenin Blanc (50%) e Syrah (50%)	Rosé	190,22	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
DPPH*	Chenin Blanc	Branco	0,46	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Syrah	Branco	0,55	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Chenin Blanc (50%) e Syrah (50%)	Branco	0,45	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Chenin Blanc (50%) e Syrah (50%)	Rosé	0,70	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Sauvignon Blanc	Branco	0,76	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Riesling Renano	Branco	0,90	(CALIARI 2014)	et	al.,
ABTS*	Pinot Gris	Branco	0,59	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Noir	Branco	0,46	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Chardonnay	Branco	0,81	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Moscato Giallo	Branco	0,78	(CALIARI 2015)	et	al.,
	Chenin Blanc	Branco	0,533	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Syrah	Branco	0,942	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Chenin Blanc (50%) e Syrah (50%)	Branco	0,619	(NASCIMENTO al., 2018)	et	
	Chenin Blanc (50%) e Syrah (50%)	Rosé	0,899	(NASCIMENTO al., 2018)	et	

	Sauvignon Blanc	Branco	0,84	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Riesling Renano	Branco	1,06	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Gris	Branco	0,61	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Noir	Branco	0,44	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Chardonnay	Branco	0,90	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Moscato Giallo	Branco	0,97	(CALIARI 2015)	et	al.,
FRAP*	Sauvignon Blanc	Branco	0,35	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Riesling Renano	Branco	0,70	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Gris	Branco	0,25	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Pinot Noir	Branco	0,34	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Chardonnay	Branco	0,38	(CALIARI 2014)	et	al.,
	Moscato Giallo	Branco	0,59	(CALIARI 2015)	et	al.,

*Capacidade antioxidante expressa em mmol TEAC L⁻¹.

De maneira geral, os compostos fenólicos são classificados como: flavonóides e não-flavonóides. Os flavonóides são encontrados na película, semente e pedicelo das uvas e apresentam, como estrutura comum, dois anéis benzeno ligados por um heterociclo de oxigênio. A estrutura do heterociclo define os diferentes grupos: antocianinas, flavanóis e flavonóis. Por outro lado, os não-flavonóides estão presentes na película e polpa das uvas e apresentam uma estrutura química mais simples, possuindo um (ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos) ou dois núcleos fenólicos ligados entre si por uma cadeia insaturada (estilbenos) (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021).

As antocianinas são pigmentos naturais, ausentes em vinhos brancos, responsáveis pela coloração vermelha das uvas e vinhos. Delfnidina, cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e malvidina foram as antocianinas identificadas em uvas e vinhos, sendo esta última encontrada em maiores concentrações. A cor da antocianina muda de acordo com o pH do meio, quando aumenta, a intensidade de cor aumenta, variando de incolor para violeta ou azul. A estabilidade de cor ocorre quando as antocianinas interagem com outros compostos fenólicos promovendo reações de co-pigmentação (GARRIDO e BORGES, 2013; GUTIÉRREZ-

ESCOBAR et al., 2021). Há registros de vinhos espumantes tintos com concentração total de antocianinas entre 105,4 a 175,91 mg L⁻¹ (González-Lázaro et al., 2020).

Os principais flavanóis encontrados em vinhos são (+) catequina, (-) epicatequina, epigalocatequina galato e epicatequina galato e as proantocianidinas B1 e B2 (GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021). Estudos com vinhos espumantes elaborados pelo método Tradicional descrevem concentrações de 0,90 a 5,80 mg L⁻¹ para (+) catequina e 1,23 a 2,15 mg L⁻¹ para (-)-epicatequina (POZO-BAYÓN et al., 2003; CALIARI et al., 2014). Por outro lado, os flavonóis são pigmentos amarelos geralmente presentes em forma glicosídica e os mais relatados em vinhos são a miricetina, kaempferol, isorhamnetina e queracetina. González-Lázaro et al (2020) relataram em vinhos espumantes tintos concentrações totais desse grupo de compostos entre 17,75 a 26,82 mg L⁻¹. Estes grupos de compostos fenólicos são responsáveis pela estabilização da cor, participando de reações de co-pigmentação, além de contribuir para características sensoriais gustativas como adstringência e amargor (GARRIDO e BORGES, 2013; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021).

Entre os ácidos hidroxibenzóicos o mais abundante em vinhos é o ácido gálico, que se destaca como precursor de taninos hidrolisáveis (GARRIDO e BORGES, 2013; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021). Em vinhos tintos sua concentração pode chegar a 70 mg L⁻¹, enquanto em vinhos espumantes há relatos 3,26 mg L⁻¹ em rosés e 1,75 mg L⁻¹ em brancos (POZO-BAYÓN et al., 2003). Por outro lado, há uma diversidade de ácidos hidroxicinâmicos encontrados em vinhos como: caftárico, caféico, cumárico e ferúlico (GARRIDO e BORGES, 2013; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021), podendo representar até 60% do total de fenólicos presentes em vinhos brancos. Além disso, são precursores de compostos voláteis e são compostos facilmente oxidáveis, estando associados ao escurecimento dos vinhos durante seu processo de elaboração e envelhecimento. Isto ocorre porque estes compostos podem intervir nas reações redox, gerando compostos amarelo-acastanhados, por serem a maior fonte de substrato para as enzimas oxidativas, principalmente, a polifenol oxidase (PPO) (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b).

Os estilbenos são compostos bioativos encontrados naturalmente em uvas e vinhos em pequenas concentrações (0 a 5 mg L⁻¹). *Trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol e piceatannol são alguns dos principais estilbenos descritos em vinhos (GARRIDO e BORGES, 2013; GUTIÉRREZ-ESCOBAR et al., 2021) e, em vinhos espumantes brancos, há relatos de concentrações totais que variam de 1,09 a 0,23 mg L⁻¹ (POZO-BAYÓN et al., 2003).

A atividade biológica de alguns compostos fenólicos presentes em vinhos espumantes tem despertado interesse de pesquisadores, com isso, a capacidade antioxidante desse produto vem sendo avaliada (SARTOR et al., 2019b; PONS-MERCADÉ et al., 2021). Neste contexto, na elaboração de vinhos espumantes pelo método Tradicional o envelhecimento sobre as borras é uma etapa importante do processo. O tempo de duração dessa etapa pode afetar as propriedades antioxidantes e biológicas dos vinhos espumantes uma vez que as borras de levedura são uma fonte natural de compostos fenólicos (STEFENON, et al., 2014; JARA-PALACIOS, 2019). Além disso, estudos mostram que a capacidade antioxidante dessas borras pode durar até três anos (GALLARDO-CHACÓN et al., 2010). Os grupos de compostos fenólicos mais abundantes nas borras de levedura são os flavonóis e as antocianinas (JARA-PALACIOS, 2019).

3.3.2 Compostos voláteis

A composição volátil dos vinhos é formada, principalmente, por ácidos, terpenos, álcoois e ésteres, estes últimos em maior concentração. Os compostos voláteis do vinho espumante podem ter três origens: aromas primários provenientes das uvas, presentes principalmente em produtos jovens, e aromas pré-fermentativos. Este último pode ter efeito negativo sobre o aroma quando derivado de um processamento inadequado da uva após a colheita ou impacto positivo, como os aromas derivados da aplicação da maceração pré-fermentativa a frio. Por outro lado, os aromas secundários são originários da primeira fermentação alcoólica (vinho base) e da segunda fermentação em garrafa. Estes aromas são afetados, principalmente, pela qualidade do mosto e do vinho base, respectivamente. Além disso, surgem os aromas terciários durante a maturação do vinho espumante sobre as borras de levedura e, durante o processo de autólise das células, há liberação de compostos de baixo peso molecular responsáveis pela complexidade aromática do vinho espumante após esta etapa (TORRESI et al., 2011; UBEDA et al., 2019).

A complexidade aromática dos vinhos está ligada a uma sequência de processos biológicos, bioquímicos e tecnológicos, capazes de produzir centenas de compostos. O metabolismo da uva, bem como o solo, clima e as técnicas de manejo adotadas, os fenômenos bioquímicos durante a extração do mosto (maceração e/ou prensagem), reações metabólicas durante a fermentação alcoólica e malolática, além das reações químicas e enzimáticas que ocorrem durante o envelhecimento, afetam diretamente no perfil aromático dos vinhos (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009; UBEDA et al., 2019). A Tabela 2 apresenta

alguns compostos voláteis relatados em vinhos espumantes elaborados pelo Método Tradicional.

Tabela 2. Compostos voláteis em vinhos espumantes elaborados pelo Método Tradicional

Composto	Nº CAS	Cultivar	Cor do vinho espumante	Faixa de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Butirato de etila	105-54-4	Tempranillo	Tinto	103,0 a 263,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		Pedro Ximenez	Branco	102,0 a 144,0	(RUÍZ-MORENO et al., 2017)
Hexanoato de etila	123-66-0	Tempranillo	Tinto	146,0 a 547,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		Pedro Ximenez	Branco	312,0 a 459,0	(RUÍZ-MORENO et al., 2017)
		País	Branco	620,0 a 865,0	(UBEDA et al., 2019)
		Sauvignon Blanc	Branco	192,8	(CALIARI et al., 2014)
		Riesling Renano	Branco	434,8	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	306,8	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	154,1	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	417,8	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	748,2	(CALIARI et al., 2015)
		Garnacha Tinta	Rosé	1,6 a 1,9*	(HIDALGO et al., 2004)
Octanoato de etila	106-32-1	Tempranillo	Tinto	60,0 a 663,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		País	Branco	1,21 a 1,71*	(UBEDA et al., 2019)
		Pedro Ximenez	Branco	459,0 a 769,0	(RUÍZ-MORENO et al., 2017)
		Sauvignon Blanc	Branco	221,6	(CALIARI et al., 2014)
		Riesling Renano	Branco	655,2	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	472,3	(CALIARI et al., 2014)

		Pinot Noir	Branco	59,8	(CALIARI et al., 2014)
		Chadonnay	Branco	674,4	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	1.229,2	(CALIARI et al., 2015)
		Garnacha Tinta	Rosé	0,2 a 0,6*	(HIDALGO et al., 2004)
					(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
Decanoato de etila	110-38-3	Tempranillo	Tinto	23,0 a 216,0	
		País	Branco	272,0 a 605,0	(UBEDA et al., 2019)
		Sauvignon Blanc	Branco	58,4	(CALIARI et al., 2014)
		Riesling Renano	Branco	76,4	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	51,1	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	14,2	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	81,9	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	88,2	(CALIARI et al., 2015)
		Garnacha Tinta	Rosé	0,1*	(HIDALGO et al., 2004)
Acetato de etila	141-78-6	Garnacha Tinta	Rosé	31,2 a 36,9*	(HIDALGO et al., 2004)
Acetato de isoamila	123-92-2	Tempranillo	Tinto	634,0 a 3.790,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		País	Branco	1,1 a 2,6*	(UBEDA et al., 2019)
		Sauvignon Blanc	Branco	60,5	(CALIARI et al., 2014)
		Riesling Renano	Branco	36,0	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	119,9	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	37,1	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	67,9	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	443,0	(CALIARI et al., 2015)
Acetato de hexila	142-92-7	Tempranillo	Tinto	4,0 a 52,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)

		País	Branco	49,6 a 124,0	(UBEDA et al., 2019)
		Pedro Ximenez	Branco	7,0 a 18,0	(RUÍZ-MORENO et al., 2017)
		Garnacha Tinta	Rosé	0,9*	(HIDALGO et al., 2004)
					(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
Acetato de fenetila	103-45-7	Tempranillo	Tinto	119,0 a 574,0	(CALIARI et al., 2015)
		Moscato Giallo	Branco	97,1	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
Ácido isovalérico	503-74-2	Tempranillo	Tinto	609,0 a 1.482,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		Tempranillo	Tinto	305,0 a 3.750,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
Ácido hexanóico	142-62-1	País Sauvignon Blanc	Branco	7,3 a 8,5*	(UBEDA et al., 2019)
		Riesling Renano	Branco	737,9	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	2.168,2	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	1.534,6	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	927,4	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	2.191,7	(CALIARI et al., 2014)
		Garnacha Tinta	Rosé	3.461,8	(CALIARI et al., 2015)
				4,5 a 4,8*	(HIDALGO et al., 2004)
Ácido octanóico	124-07-2	Tempranillo	Tinto	2.895,0 a 7.224,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		País Sauvignon Blanc	Branco	7,3 a 8,2*	(UBEDA et al., 2019)
		Riesling Renano	Branco	1.252,0	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	3.359,3	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	2.613,4	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	377,5	(CALIARI et al., 2014)
				3.536,3	(CALIARI et al., 2014)

		Moscato Giallo Garnacha Tinta	Branco Rosé	5.920,9 5,1 a 5,7*	(CALIARI et al., 2015) (HIDALGO et al., 2004)
Ácido decanóico	334-48-5	Tempranillo	Tinto	320,0 a 1.317,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		País	Branco	1,1 a 1,3*	(UBEDA et al., 2019)
		Sauvignon Blanc	Branco	213,5	(CALIARI et al., 2014)
		Riesling Renano	Branco	324,0	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	225,7	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	62,9	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	400,3	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	610,9	(CALIARI et al., 2015)
		Garnacha Tinta	Rosé	0,7 a 1,7*	(HIDALGO et al., 2004)
1-Hexanol	111-27-3	Tempranillo	Tinto	413,0 a 1.590,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		País	Branco	3,05 a 3,65*	(UBEDA et al., 2019)
		Sauvignon Blanc	Branco	364,0	(CALIARI et al., 2014)
		Riesling Renano	Branco	387,8	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Gris	Branco	1.116,4	(CALIARI et al., 2014)
		Pinot Noir	Branco	644,8	(CALIARI et al., 2014)
		Chardonnay	Branco	507,6	(CALIARI et al., 2014)
		Moscato Giallo	Branco	309,4	(CALIARI et al., 2015)
		Garnacha Tinta	Rosé	2,2*	(HIDALGO et al., 2004)
Álcool feniletílico		Tempranillo	Tinto	34.000,0 a 64.200,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)
		País	Branco	10,6 a 12,7*	(UBEDA et al., 2019)
		Sauvignon Blanc	Branco	19.178,0	(CALIARI et al., 2014)

	60-12-8	Riesling Renano	Branco	14.415,0	(CALIARI 2014)	et al.,
		Pinot Gris	Branco	12.592,0	(CALIARI 2014)	et al.,
		Pinot Noir	Branco	2.990,0	(CALIARI 2014)	et al.,
		Chardonnay	Branco	10.048,0	(CALIARI 2014)	et al.,
		Moscato Giallo	Branco	8.226,5	(CALIARI 2015)	et al.,
1-Propanol	71-23-8	Tempranillo	Tinto	11.800,0 a 19.000,0	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)	
		País	Branco	5,9 a 10,1*	(UBEDA et al., 2019)	
		Garnacha Tinta	Rosé	22,7 a 25,1*	(HIDALGO et al., 2004)	
		Tempranillo	Tinto	3,1 a 4,9	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)	
Linalol	78-70-6	País Sauvignon Blanc	Branco	1,3 a 2,3	(UBEDA et al., 2019)	
		Riesling Renano	Branco	184,3	(CALIARI et al., 2014)	
		Pinot Gris	Branco	209,1	(CALIARI et al., 2014)	
		Pinot Noir	Branco	179,2	(CALIARI et al., 2014)	
		Chardonnay	Branco	42,2	(CALIARI et al., 2014)	
		Moscato Giallo	Branco	111,3	(CALIARI et al., 2014)	
		Tempranillo	Tinto	1.732,9	(CALIARI et al., 2015)	
		País Sauvignon Blanc	Branco	4,2 a 6,7	(PÉREZ-MARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020)	
Citronelol	106-22-9	Riesling Renano	Branco	0,7 a 1,8	(UBEDA et al., 2019)	
		Pinot Gris	Branco	10,7	(CALIARI et al., 2014)	
		Pinot Noir	Branco	5,9	(CALIARI et al., 2014)	
		Chardonnay	Branco	6,9	(CALIARI et al., 2014)	
				5,4	(CALIARI et al., 2014)	
				5,1	(CALIARI et al., 2014)	

Moscato Giallo	Branco	44,8	(CALIARI et al., 2015)
-------------------	--------	------	---------------------------

*Valores expressos em mg L⁻¹.

A formação dos ésteres ocorre como resultado da reação de um álcool com um grupo funcional ácido, eliminando uma molécula de água. Nos vinhos, estas moléculas são sintetizadas por dois mecanismos: durante a fermentação alcoólica através de reações enzimáticas e durante o envelhecimento por esterificação química entre álcool e grupos funcionais ácidos. A diversidade de álcoois e ácidos presentes nos vinhos reflete na complexidade e variedade dos ésteres (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b; RUIZ-MORENO et al., 2017). Os ésteres derivados do processo fermentativo são as principais fontes de aromas frutados (POZO-BAYÓN et al., 2009). O acetato de etila é o éster mais comum encontrado em vinhos. Isso ocorre porque sua formação se dá a partir do etanol e do ácido acético, compostos presentes em altas concentrações nessas bebidas. Em baixas concentrações, este éster contribui para complexidade olfativa dos vinhos. Todavia, se encontrado em concentrações acima de 80 mg L⁻¹, podem trazer aromas indesejados ao vinho (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b).

Os álcoois superiores são os compostos voláteis mais abundantes e possuem odores intensos que atuam no perfil aromático dos vinhos. São formados durante a fermentação alcoólica pelas leveduras através do metabolismo dos açúcares ou dos aminoácidos presentes, podendo atingir concentrações de 150 a 550 mg L⁻¹. Quando em baixas concentrações favorecem a complexidade aromática e, em níveis muito elevados, podem mascarar a delicadeza desejada para a bebida. Em geral, fatores como a biomassa de leveduras, oxigenação, temperaturas elevadas e alta concentração de matéria orgânica suspensa e insolúveis, aumentam a formação desses álcoois nos vinhos. Por outro lado, níveis elevados de nitrogênio dissolvido no mosto diminuem a formação desses álcoois (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006b; FUGELSANG e EDWARDS, 2007). O 1-propanol, butanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, 1-hexanol, *cis*-3-hexen-1-ol e o fenil-etanol são os mais relatados em vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional (CALIARI et al., 2014).

A composição volátil dos vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional sofre influência direta do tempo de envelhecimento e autólise das leveduras. Durante esta etapa, ocorre, simultaneamente, a degradação e a síntese de compostos voláteis, determinando a complexidade aromática encontrada nestes vinhos. Mesmo diante da natureza complexa da formação desses compostos, sua caracterização e identificação podem ser utilizados como marcadores específicos de vinhos espumantes elaborados em regiões e/ou protocolos de

elaboração distintos (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ e PUEYO, 2009; POZO-BAYÓN et al., 2009). Os estudos sobre o comportamento dos compostos voláteis durante o envelhecimento dos vinhos espumantes mostram que nesta etapa há tanto aumento como a redução desses compostos. Esta contradição pode estar relacionada às reações de degradação e síntese que variam de acordo com as escolhas adotadas durante a elaboração destes vinhos (POZO-BAYÓN et al., 2009; PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2019). Além disso, alguns compostos voláteis podem ser liberados e outros adsorvidos pelas borras de levedura, o que também explicaria esse comportamento (UBEDA et al., 2019).

Já foram identificados centenas de compostos voláteis em vinhos espumantes, contudo, nem todos os compostos presentes podem contribuir para o aroma do produto. Isto ocorre porque o limiar de detecção de determinado composto muitas vezes está acima da concentração encontrada nesses produtos (WELKE et al., 2014b; UBEDA et al., 2019). Com isso, o perfil sensorial do vinho espumante é mais complexo do que o do vinho base, apresentando notas tostadas, lácticas e adocicadas, principalmente, nos com maior tempo de envelhecimento sobre as borras (TORRENS et al., 2010).

3.4 REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, H.; GUILLOUX-BENATIER, M. Yeast autolysis in sparkling wine - A review. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 12(2), p. 119–127, 2006.
- ALEIXANDRE-TUDO, J.L.; DU TOIT, W. Cold maceration application in red wine production and its effects on phenolic compounds: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 95, p. 200-208, 2018.
- BABAYAN, T.L.; BEZRUKOV, M.G.; LATOV, V.; BELIKOV, V.M.; BELATSEVA, E.M.; TITOVA, E.F. Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: Morphological effects, rheological effects and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. **Current Microbiology**, v. 5, p. 163–168, 1981.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004. **Diário oficial da união**, 2004. Altera dispositivos da Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho.
- BUXADERAS, S.; LÓPEZ-TAMAMES, E. Sparkling Wines: Features and Trends from Tradition. **In Advances in Food and Nutrition Research**, v. 66, 2012.
- CALIARI, V.; BURIN, V.M.; ROSIER, J.P.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. **Food Research International**, v. 62, p. 965-973, 2014.

CALIARI, V.; PANCERI, C.P.; ROSIER, J.P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Effect of the traditional, charmat and asti method production on the volatile composition of moscato giallo sparkling wines. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61(2), 393-400, 2015.

CEJUDO-BASTANTE, M.J.; GORDILLO, B.; HERNANZ, D.; ESCUDERO-GILETE, M.L.; GONZÁLEZ-MIRET, M.L.; HEREDIA, F.J. Effect of the time of cold maceration on the evolution of phenolic compounds and colour of Syrah wines elaborated in warm climate. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49(8), p. 1886–1892, 2014.

CEJUDO-BASTANTE, M.J.; CASTRO-VÁZQUEZ, L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; PÉREZ-COELLO, M.S. Combined effects of pre fermentative skin maceration and oxygen addition of must on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics of Airén white wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59(22), p. 12171–12182, 2011.

DI GIANVITO, P.; ARFELLI, G.; SUZZI, G.; TOFALO, R. 11 – New Trends in Sparkling Wine production: Yeast Rational Selection. **Alcoholic Beverages**, v. 7, p. 347-386, 2019.

EDER, M.L.R.; ROSA, A.L. Non-conventional grape varieties and yeast starters for first and second fermentation in sparkling wine production using the traditional method. **Fermentation**, v. 7 (321), 2021.

FLANZY, C.; SALGUES, M.; BIDAN, P.; DUBOIS, C.; MOULIN, J.P.; SABLAYROLLES, J.M. **Oenology: Fondements scientifiques et technologiques**, (C. Flanzy, Ed.), pp. 497–516. Technique et Documentation, Paris, France, 1999.

FUGELSANG, K. C.; EDWARDS, C.G. **Wine Microbiology**: Practical Applications and Procedures, Springer, 2ed, 408p., 2007.

GALLARDO-CHACÓN, J.J.; VICHI, S.; URPI, P.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie aging. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 48-53, 2010.

GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. **Food Research International**, v. 54(2), p. 1844-1858, 2013.

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

GÓMEZ-MÍGUEZ, M.J.; GONZÁLEZ-MIRET, M.L.; HERNANZ, D.; FERNÁNDEZ, M. A.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. Effects of prefermentative skin contact conditions on colour and phenolic content of white wines. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 238-245, 2007.

GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; BUENO-HERRERA, M.; DE LA CUESTA P.L.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Evaluation of grape ripeness, carbonic maceration and pectolytic enzymes to improve the chemical and sensory quality of red sparkling wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, p. 2618-2629, 2020.

GUTIÉRREZ-ESCOBAR, R.; ALIAÑO-GONZÁLEZ, M.J.; CANTOS-VILLAR, E. Wine Polyphenol Content and Its Influence on Wine Quality and Properties: A Review. **Molecules**, v. 26, p. 718, 2021.

HIDALGO, P.; PUEYO, E.; POZO-BAYÓ, M.A.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.; POLO, M.C. Sensory and Analytical Study of RosÉ Sparkling Wines Manufactured by Second Fermentation in the Bottle. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 6640-6645, 2004.

JACKSON, R.S. **Wine Science**: Principles, practice and perception (2nd ed). San Diego, CA: Academic Press, 2000.

JARA-PALACIOS, M.J. Wine Lees as a Source of Antioxidant Compounds. **Antioxidants**, v. 8, 45, 2019.

LEÃO, P.C.de S., MARQUES, A.T.B., BARROS, A.P.A. Cultivares de videira para a elaboração de vinhos finos para o Submédio do Vale do São Francisco. **Circular técnica**, 128, Embrapa, Petrolina, 2021.

MANFROI, V. Vinho Espumante. In: W. G. Venturini Filho. **Bebidas Alcoólicas**: Ciência e Tecnologia, Edgard Blucher LTDA vol. 1, 181-190, 2010.

MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; ORTEGA-HERAS, M.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Sparkling Wines Produced from Alternative Varieties: Sensory Quality and Evolution of Phenolics during Winemaking and Aging. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 64, p. 39-49, 2013.

MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; APOLINAR-VALIENTE, R.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; WILLIAMS, P.; DOCO, T. Influence of grape maturity on complex carbohydrate composition of red sparkling wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64 (24), p. 5020-5030, 2016.

MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; APOLINAR-VALIENTE, R.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; WILLIAMS, P.; DOCO, T. Polysaccharides, oligosaccharides and nitrogenous compounds change during the ageing of Tempranillo and Verdejo sparkling wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98(1), p. 291–303, 2018.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J.; PUEYO, E. Sparkling Wines and Yeast Autolysis. In: Moreno-Arribas, M. V. & Carmen Polo, M. **Wine Chemistry and Biochemistry**, p. 61-75, 2009.

MELLO, L.M.R.; MACHADO, C.A.E. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2020, **Comunicado técnico**, 223, Embrapa, Bento Gonçalves, RS, 2021.

MERKYTÉ, V.; LONGO, E.; WINDISCH, G.; BOSELLI, E. Phenolic Compounds as Markers of Wine Quality and Authenticity. **Foods**, v. 9, 1785, 2020.

MOLNAR, I.; OURA, E.; SUOMALAINEN, H. Study of volatile substances produced during autolysis of Champagne yeasts. **Acta Alimentaria**, v. 10, p. 27–36, 1981.

MELLO, L.M.R. de.; MACHADO, C.A.E. **Dados da Viticultura**: Banco de Dados de Uva, Vinho e Derivados. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, (2020). Disponível em: http://vitibrasil.cnpuv.embrapa.br/index.php?opcao=opt_03. Acesso em: 20 de março de 2022.

NASCIMENTO, A.M.S.; SOUZA, J.F.; LIMA, M.S.L.; PEREIRA, G.E. Volatile Profiles of Sparkling Wines Produced by the Traditional Method from a Semi-Arid Region. **Beverages**, v. 4, 103, 2018.

OIV, International Organization of vine and wine. Maceracion pré-fermentativa en frio para la elaboracion de los vinos tintos. Resolucion: Oeno 12/2005 (2005).

OIV, International Organization of Vine and Wine. Distribution of the world's grapevine varieties, 2017. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/thematic-focus>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

OIV, International Organization of Vine and Wine. Statistical Report on World Vitiviniculture, 2019. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/annual-assessment>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

OIV, International Organization of Vine and Wine. State of the world vitivinicultural sector in 2020, 2020. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/state-of-vitiviniculture>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

UVIBRA, União Brasileira de Vitivinicultura. Mercado Interno - 2021 foi o ano do espumante. Disponível em <http://www.uvibra.com.br/noticias>. Acesso em 20 de março, 2022.

PEREIRA, G.E.; ZANUS, M.C.; DE MELLO, L.M.R.; LIMA, M.S.; PEREGRINO, I. Panorama da produção e mercado nacional de vinhos espumantes. **Informe agropecuário**, v. 41(310), p. 7-18, 2020.

PÉREZ-MAGARIÑO, S.; BUENO-HERRERA, M.; DE LA CUESTA, P.L.; GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B. Volatile composition, foam characteristics and sensory properties of Tempranillo red sparkling wines elaborated using different techniques to obtain the base wines. **European Food Research and Technology**, v. 245(5), p. 1047-1059, 2018.

PONS-MERCADÉ, P.; GIMÉNEZ, P.; GOMBAU, J.; VILOMARA, G.; CONDE, M.; CANTOS, A.; ROZÈS, N.; CANALS, J.; ZAMORA, F. Oxygen consumption rate of lees during sparkling wine (Cava) aging; influence of the aging time. **Food Chemistry**, v. 342:28238, 2021.

POZO-BAYÓN, M.Á.; HERNÁNDEZ, M.T.; MANTÍN-ÁLVAREZ, P.J.; POLO, M.C. Study of Low Molecular Weight Phenolic Compounds during the Aging of Sparkling Wines Manufactured with Red and White Grape Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51(7), p. 2089-2095, 2003.

POZO-BAYÓN, M.Á.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; PUEYO, E.; MORENO-ARRIBAS, M.V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20(6-7), p. 289-299, 2009.

PUCKETTE, M.; HAMMACK, J. **Wine Folly**: Magnum Edition. Editora Avery, Nova Iorque. 318p., 2019.

RIBÉREAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONÈCHE, B.; LONVAUND, A. The microbiology of wine and vinifications (2nd ed.). **Handbook of Enology**, v. 1, 2006a.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. The Chemistry of Wine (2nd ed.). **Handbook of Enology**, v. 2, 2006b.

RUIZ-MORENO, M.J.; MUÑOZ-REDONDO, J.M.; CUEVAS, F.J.; MARRUFO-CURTIDO, A.; LEÓN, J.M.; RAMÍREZ, P.; MORENO-ROJAS, J.M. The influence of pre-fermentative maceration and ageing factors on ester profile and marker determination of Pedro Ximenez sparkling wines. **Food Chemistry**, v. 230, p. 697-704, 2017.

SALINAS, M. R.; GARIJO, J.; PARDO, F.; ZALACAIN, A.; ALONSO, G.L. Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85(9), p. 1527-1536, 2005.

SARTOR, S; BURIN, V.M; PANCERI, C.P; DOS PASSOS, R.R, CALIARI, V.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Rosé Sparkling Wines: Influence of Winemaking Practices on the Phytochemical Polyphenol During Aging on Lees and Commercial Storage. **Journal of Food Science**, v. 83 (11), 2018.

SARTOR, S.; TOALDO, I.M.; PANCERI, C.P.; CALIARI, V.; LUNA, A.S.; DE GOIS, J.S.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Changes in organic acids, polyphenolic and elemental composition of rosé sparkling wines treated with mannoproteins during over-lees aging. **Food Research International**, v. 124, p. 34-42, 2019a.

SARTOR, S.; BURIN, V.M.; FERREIRA-LIMA, N.E.; CALIARI, V.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Polyphenolic Profiling, Browning, and Glutathione Content of Sparkling Wines Produced with Nontraditional Grape Varieties: Indicator of Quality During the Biological Aging. **Journal of Food Science**, v. 84(12), p. 3546-3554, 2019b.

SIEBERT, T.E.; BARKER, A.; PEARSON, W.; BARTER, S.R.; LOPES, M.A.D.E B.; DARRIET, P.; HERDERICH, M.J.; FRANCIS, I.L. Volatile Compounds Related to “Stone Fruit” Aroma Attributes in Viognier and Chardonnay Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66(11), p. 2838-2850, 2018.

ŠERUGA, M.; NOVAK, I.; JAKOBEK, L. Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. **Food Chemistry**, v. 124, p.1208-1216, 2011.

STEFENON, C.A.; BONESI, C.D.M.; MARZAROTTO, V.; BARNABÉ, D.; SPINELLI, F.R.; WEBBER, V.; VANDERLINDE, R. Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees. **Food Chemistry**, v. 145, p. 292–299, 2014.
TORRENS, J.; RIU-AUMATELL, M.; VICHI, S.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Assessment of Volatile and Sensory Profiles between Base and Sparkling Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 2455–2461, 2010.

TORRESI, S.; FRANGIPANE, M.T.; ANELLI, G. Biotechnologies in sparkling wine production. Interesting approaches for quality improvement: A review. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1232-1241, 2011.

UBEDA, C.; KANIA-ZELADA, I.; BARRIO-GALÁN, R.; MEDEL-MARABOLÍ, M.; GIL, M.; PEÑA-NEIRA, A. Study of the changes in volatile compounds, aroma and sensory attributes during the production process of sparkling wine by traditional method. **Food Research International**, v. 119, p. 554-563, 2019.

WELKE, J.E.; ZANUS, M.; LAZZAROTTO, M.; PULGATI, F.H.; ZINI, C.A. Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. **Food Chemistry**, v. 164, p. 427-437, 2014.

4 CAPÍTULO II

Influence of cold pre-fermentative maceration practice on the color, phenolic compounds and antioxidant capacity of white and rosé sparkling wines elaborated by the traditional method

Artigo submetido em 28/08/2021

Revista: Food Research International

Influence of cold pre-fermentative maceration practice on sparkling wine nutraceutical quality							
Grapes	Base wine	Sparkling wine	Analytical parameters		Results		
			Traditional method	Statistical analysis	24h	72h	
cv. Viognier			NM 24h 72h	<ul style="list-style-type: none"> Oenological; Colorimetrics; Phenolic compounds by HPLC; Antioxidant capacity: DPPH and FRAP. 	24h <ul style="list-style-type: none"> Kaempferol-3-O-glucoside and quercetin-3-β-D-glucoside concentrations increase. 	72h <ul style="list-style-type: none"> (-)Epicatechin and procyanidin B2 concentrations increase; Maintained the antioxidant capacity 	
cv. Grenache			NM 24h 72h	<ul style="list-style-type: none"> Analysis of variance and Tukey's test; Principal Components Analysis (PCA); Hierarchical clustering and heatmap; Partial Least Squares regression (PLS). 	24h <ul style="list-style-type: none"> Caffeic and chlorogenic acids and quercetin-3-β-D-glucoside concentrations increase; More intense color; Maintained the antioxidant capacity. 	72h <ul style="list-style-type: none"> p-Coumaric and ferulic acids concentrations increase 	

4.1 ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of cold pre-fermentative maceration on base wine and white and rosé sparkling wines nutraceutical quality, applying the maceration for 24 and 72 hours. The wines were analyzed for oenological and colorimetric parameters, phenolic compounds composition using HPLC-DAD-FD and spectrophotometry, and antioxidant capacity by DPPH and FRAP assays. Viognier white sparkling wine elaborated without maceration showed higher concentrations of chlorogenic, *trans*-caftaric and caffeic acids, (-)-epicatechin gallate, (+)-catechin, procyanidin A2 and *cis*-resveratrol. Maceration for 24h increased the kaempferol-3-O-glucoside and quercetin-3-β-D-glucoside contents and 72h promoted higher (-)-epicatechin, procyanidin B2 and total phenolic content concentrations. Grenache rosé sparkling wine without maceration showed higher concentrations of (+)-catechin, (-)-epicatechin and *trans*-caftaric acid, and 24h of maceration increased the chlorogenic acid, caffeic acid and quercetin-3-β-D-glucoside contents. With a view to maintained the antioxidant capacity of sparkling wines, 72h of cold pre-fermentative maceration is recommended for Viognier white wine and up to 24h for Grenache rosé wine.

Gallic acid, *trans*-caftaric acid, (-)-epicatechin gallate, (+)-catechin, (-)-epicatechin, procyanidin B1, procyanidin B2, piceatannol, rutin and malvidin-3-*O*-glucoside were the components most contributing to tropical sparkling wine antioxidant capacity.

Keywords: winemaking practices, heatmap analysis, DPPH, FRAP, *Champenoise* method, tropical wine, Viognier, Grenache.

4.2 INTRODUCTION

Worldwide the production and commercialization of sparkling wines has recently increased, reaching an annual volume of 930 million liters, representing 7.5 billion dollars (OIV, 2019). This has stimulated a search for innovation in the area to obtain more attractive sparkling wines for the consumer market (Caliari, Burin, Rosier & Bordignon-Luiz, 2014; Ruiz-Moreno et al., 2017; Pérez-Magariño et al., 2019).

Sparkling wines elaborated using the traditional method (*Champenoise* or classical) differ due to their lengthy production process, resulting in more expressive sensory characteristics in the product, involving their structure, creaminess, body and a greater complexity of aroma compounds (Pozo-Bayón et al., 2009; Buxaderas & López-Tamames, 2012; Stefenon et al., 2014; Caliari, Panceri, Rosier, & Bordignon-Luiz 2015). The traditional method is used for high quality sparkling wines such as French Champagnes and Spanish Cavas. The elaboration procedures of these beverages are similar, the main differences being associated with the grape variety, grapevine management, vine productivity, climatic conditions and the time the wine is maintained in contact with the yeast lees during ageing (Pozo-Bayón et al., 2009).

Both white and red grape varieties can be used to elaborate sparkling wines. Red grapes can be vinified as white or rosé wines, known as *blanc de noir* or *rosé de noir*, respectively. The vine varieties traditionally most used to elaborate wines using the *Champenoise* method are Chardonnay, Pinot Noir, Pinot Meunier, Pinot Blanc and Chenin Blanc (Di Gianvito et al., 2019; Caliari et al., 2014). However, with the global increase in producing sparkling wines, the focus on using alternative varieties is growing, mainly in emergent regions (Kemp, Alexandre, Robillard & Marchal, 2015), but the choice of cultivars to elaborate sparkling wines must consider the edaphoclimatic conditions of the region and the typicality desired for the beverage (Buxaderas & López-Tamames, 2012).

In Brazil, research on alternative varieties for sparkling wine elaboration have been conducted directed to the volatile and phenolic compounds and the final product sensory profile (Caliari et al., 2014; Sartor, Toaldo, et al., 2019). The Sub-middle São Francisco Valley (SSFV) is in the Brazilian northeast region, with a semi-arid tropical climate (average temperature 26 °C, 3,000 hours/year sunlight and 500 mm annual pluviosity). The sparkling wines represent 70% of the region's wine production from *Vitis vinifera* grapes, being only produced by the Asti and Charmat methods (Pereira et al., 2020). Studies related to the evaluation of sparkling wines elaborated by the traditional method were initiated in the region, being observed that the grape variety influenced the beverage chemical composition (Nascimento, Souza, Lima & Pereira, 2018). However, important factors related to quality, such as the winemaking practices and the nutraceutical composition were not previously evaluated.

The Grenache and Viognier are grapes varieties with consolidated production in the SSFV, the first for sparkling wine elaborated by the Charmat method and the latter for white wines (Pereira et al., 2020). Grenache is already a variety used to elaborate sparkling wines by the traditional method, being one of the red grapes used to elaborate the traditional Cavas (Martínez-Lapuente et al., 2018; Kemp et al., 2015). On the other hand, Viognier wines have a consolidated and recognized quality in regions, such as the Rhône Valley (France), however, there is no reports that indicate its use for sparkling wine elaboration. In addition, research directed at investigating the phenolic compounds in sparkling wines is also relevant. These studies should concentrate on the influence of winemaking practices on the contents of these compounds and on the stability of product color (Kemp et al., 2015). For this purpose, maceration is used to elaborate red wines during the alcoholic fermentation step, with the release of various substances, mainly phenolic compounds, from the grape skin and seeds into the must (Ribéreau-Gayon et al., 2006a; Aleixandre-Tudo & du Toit, 2018).

Other types of non-conventional maceration exist, such as carbonic, thermovinification, post-fermentative and cold pre-fermentative maceration. The latter aims to obtain wines with more complexity of volatile compounds, more body and greater aging potential (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). The use of cold pre-fermentative maceration could be interesting to increase the quality of sparkling wines (Ruiz-Moreno et al., 2017; González-Lázaro et al., 2019; Pérez-Magariño et al., 2019). This technique is practiced at temperatures between 5 and 15 °C and can be applied for hours or up to weeks (Cejudo-Bastante, Castro-Vázquez, Hermosín-Gutiérrez, & Pérez-Coello, 2011; Cejudo-Bastante et al., 2014; Aleixandre-Tudo & du Toit, 2018). The choices of temperature and time interferes in the extraction of certain phenolic

compounds, consequently influencing the sensory attributes associated with them, such as color, acidity and astringency (Jackson, 2000; Salinas, Garijo, Pardo, Zalacain, & Alonso, 2005; Ribéreau-Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2006b; Cejudo-Bastante et al., 2014). With respect to white and rosé wines, the use of this technique to increase the phenolic compounds concentration should be better investigated to produce a sensorially balanced wine maintaining the typicality of the grape and the region (Olejar, Fedrizzi, & Kilmartin, 2015).

The phenolic compounds content is already being studied as a quality marker for sparkling wines (Stefenon et al., 2014; González-Lázaro et al., 2019; Sartor et al., 2019a; Sartor et al., 2019b), but no studies have been carried out to verify the effect of different cold pre-fermentative maceration times. Thus, this research evaluated its impact on the physicochemical parameters, phenolic compounds composition and antioxidant capacity of white and rosé sparkling wines elaborated by the traditional method from Viognier and Grenache varieties in tropical climate conditions.

4.3 MATERIAL AND METHODS

4.3.1 Grapes

Viognier and Grenache grapes (300 kg), harvested in September, 2017, were used to elaborate the white and rosé sparkling wines, respectively, cultivated in commercial areas in the Sub-middle São Francisco Valley, Brazil (Viognier: latitude 9°05'S, longitude 40°20'S, altitude 400 m, Lagoa Grande, Pernambuco; Grenache: latitude 9°16'S, longitude 40°52'S, altitude 413.5 m, Casa Nova, Bahia). The Viognier grapes were obtained from plants cultivated in trellis system and IAC 313 rootstock, drip irrigated and harvested with a soluble solids content of 21 °Brix and pH of 3.6. The Grenache grapes were obtained from plants cultivated in espalier system and IAC 766 rootstock, drip irrigated, and harvested with a soluble solids content of 21 °Brix and pH of 3.3.

4.3.2 Base wine

To guarantee uniform sampling, the Viognier and Grenache grapes were homogenized separately and each divided into three 100 kg batches, corresponding to each treatment, as follows: Not macerated, Cold pre-fermentative maceration for 24 hours, and 72 hours. The non-macerated grape batches were destemmed, crushed, pressed and clarified (8 °C for 24 hours). The second and third treatment batches were destemmed, crushed, submitted to cold pre-

fermentative maceration in a controlled temperature cold chamber (6 ± 2 °C), and then pressed and clarified (8 °C for 24 hours). During destemming, 120 mg kg⁻¹ potassium meta-bisulfite (Amazon Group Ltda, Brazil) and 0.02 mg L⁻¹ of the pectolytic enzyme Everzym Thermo (Ever Brasil, Brazil) were added. After pressing, the musts of each treatment were transferred to 20 L glass jars closed with cylindrical glass airlock valves, and after clarification, alcoholic fermentation was carried out using the commercial yeast Maurivim PDM (Mauri Yeast Pty Ltda, Australia) *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* (0.20 g L⁻¹) and Gesferm (Amazon Group Ltda., Brazil) as nutrient (0.20 g L⁻¹), at 16 ± 2 °C. The protein was then stabilized using Maxibent plus bentonite (Amazon Group Ltda., Brazil) (0.8 g L⁻¹) and tartaric stabilization carried out at -4 °C for 10 days.

4.3.3 Sparkling wines

For the second alcoholic fermentation, a *tirage* liquor was added to the base wine, containing sucrose (24 g L⁻¹), Maurivim PDM yeast (0.25 g L⁻¹), Gesferm nutrient (0.25 g L⁻¹) and bentonite (0.10 g L⁻¹). The treatments were then poured into 750 mL glass jars with bidules and corona caps, maintained at 15 ± 2 °C. This step was monitored by analyzing the pressure (OIV, 2021a) and residual sugar (Ribéreau-Gayon et al., 2006b) in the bottles. After completing fermentation, the sparkling wines were maintained at 16 ± 2 °C for 18 months for aging on lees (autolysis). They were then riddled, disgorged and corked. Prior to the analyses, the samples were degassed at low temperature (5 ± 2 °C) using ultrasonic waves (Ultrasonic cleaner, China) for 30 min in Erlenmeyer flask containing 200 mL of sparkling wine (Nicolli et al., 2015).

4.3.4 Oenological parameters

The oenological parameters were determined according to the OIV (2021a) procedures. The pH value was measured using an Edge pH meter (Hanna Instruments, Brazil), and after a simple distillation using a Super Dee oenological distiller (Gibertini, Italy), the alcohol content was determined using a Super Alcomat hydrostatic electronic balance (Gibertini, Italy) at 20 °C. The volatile acidity (VA) was determined after distillation by steam stripping using the oenological distiller, followed by titration with 0.1 N NaOH, and the total acidity (TA) by titrating the samples to pH 8.2 with 0.1 N NaOH.

4.3.5 Colorimetric parameters

The colorimetric parameters were measured using a portable colorimeter (Delta Color, Brazil) in the transmittance mode with illuminant D65, according to the CIELab and CIEL C* h* (CIE, 1986) system standardizations, obtaining values for luminosity (L^*), the red/green color component (a^*), the blue/yellow color component (b^*), saturation (C^*) and the hue angle (h). The color intensity (CI) and hue were determined as from the absorbance readings at 420 nm (A_{420}), 520 nm (A_{520}) and 620 nm (A_{620}) using a ThermoFisher Scientific spectrophotometer (Multiskan Go, USA) (Ough & Amerine, 1988).

4.3.6 Phenolic compounds

The total phenolic content (TPC) was determined according to the spectrophotometric method (Singleton & Rossi, 1965), based on the oxidation of these compounds in the presence of a sodium carbonate solution and the Folin-Ciocalteau reagent (Sigma-Aldrich, USA). The calibration curve was prepared with gallic acid from 0.6 to 8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and the absorbance read at 760 nm. The results were expressed in mg L^{-1} gallic acid (GAE). All readings were made using a ThermoFisher Scientific spectrophotometer (Multiskan Go, USA).

Using an Alliance e2695 model Waters liquid chromatograph (Milford, USA) equipped with Diode Array (DAD – 280, 320, 360 and 520 nm) and Fluorescence (FD – 280 nm excitation and 320 nm emission) detectors, 19 and 24 phenolic compounds were quantified in the Viognier and Grenache wine samples, respectively. Both in a single 60-minute run, as from adaptations to the methods validated under the same analytical conditions by Natividade, Corrêa, Souza, Pereira & Lima (2013) and Costa et al. (2020). The validation parameters to identify and quantify the phenolic compounds can be seen in the supplementary material (Table S1). A Gemini-NX C18 (150 mm x 4.60 mm x 3 μm) column and Gemini-NX C18 (4.0 mm x 3.0 mm) pre-column (Phenomenex, USA) were used to separate the compounds with gradient elution, the mobile phase being constituted of 0.85% ortho-phosphoric acid (Fluka, Switzerland) in ultra-pure water (Purelab Option Q Elga System, USA) (Phase A) and HPLC grade acetonitrile (J. T. Baker, USA) (Phase B). The oven temperature was maintained at 40 °C and the flowrate at 0.5 mL min^{-1} . After filtering through a 13 mm nylon membrane with a 0.45 μm pore size (Phenomenex, USA), 5 and 20 μL samples were injected into the equipment.

The ferulic acid standard was obtained from ChemService (West Chester, USA). The caffeic, *trans*-caftaric, p-coumaric, chlorogenic and gallic acids plus the standards of

piceatannol were acquired from Sigma-Aldrich (USA); (-)-epicatechin gallate, (-)-epigalatocatechin gallate, (+)-catechin, (-)-epicatechin, procyanidin A2, procyanidin B1, procyanidin B2, kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3-β-D-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, rutin, malvidin-3-*O*-glucoside, peonidin-3-*O*-glucoside, pelargonidin-3-*O*-glucoside, delphinidin-3-*O*-glucoside and *trans*-resveratrol standards were acquired from Extrasynthese (France); and the *cis*-resveratrol was acquired from Cayman Chemical (Michigan, USA).

4.3.7 Antioxidant capacity

In vitro antioxidant capacity of the wines was determined using two different spectrophotometric assays: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1995) and the FRAP – Ferric reducing antioxidant power assay (Benzie & Strain, 1996). For the DPPH radical (Sigma-Aldrich, USA) scavenging assay, 0.1 mL of sample was mixed with 3.9 mL 0.06 mM DPPH in a methanolic solution and incubated in the dark for 60 minutes at 23 ± 2 °C, the absorbance being read at 515 nm. The FRAP reagent consisted of 300 mM acetate buffer at pH 3.6, 10 mM TPTZ (Sigma-Aldrich, USA) in 40 mM HCl and 20 mM FeCl₃ 6H₂O (Neon Comercial, Brazil), 0.15 mL of sample being added to 2.85 mL of the reagent. The mixture was incubated for 30 min in the dark at 23 ± 2 °C and the absorbance read at 593 nm. In both methods, the samples were previously diluted to adjust the curves. The analytical standard used to construct the calibration curves for both methods was Trolox – TEAC (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (Sigma-Aldrich, USA), in the concentration range from 0.000 to 12.680 mmol L⁻¹ for DPPH and 0.025 to 0.800 mmol L⁻¹ for FRAP. The results were expressed in mmol equivalents of Trolox per liter of wine, and the absorbance values being read in triplicate using a Biospectro SP-220 spectrophotometer (Lab-líder, Brazil).

4.3.8 Statistical analysis

The base wines were analyzed in triplicate by repeating the winemaking of each treatment, while for the analysis of the sparkling wines, three bottles of each replicate/treatment were randomly selected and analyzed in triplicate.

The results were first submitted to the Shapiro-Wilk normality test ($p \leq 0.05$), and those not presenting normality transformed. For the Viognier wines the following transformations were used: \sqrt{x} for *trans*-caftaric acid and $\log \log x$ for p-coumaric acid. For the Grenache

wines, $\sqrt[3]{x}$ was used for the pH value, $\log \log x$ for *trans*-caftaric and p-coumaric acids, \sqrt{x} for (-)-epicatechin gallate and $\log \log (x + 1)$ for (-)-epigalatocatechin gallate. After the transformations, the data were submitted to the analysis of variance and Tukey's test ($p \leq 0.05$) using the R software (R Core Team, 2020). In addition, the Principal Components Analysis (PCA) was applied using the XLStat software (Addinsoft Inc., Anglesey, UK, 2015). Hierarchical clustering and heatmap analysis generated by Euclidean distance was performed using the MetaboAnalyst 5.0 (web interface) (Pang et al., 2021) and Partial Least Squares regression (PLS) were applied using the XLStat software (Addinsoft Inc., Anglesey, UK, 2015) (Biasoto, Netto, Marques & Da Silva, 2014), to correlate the phenolic compounds quantified with the *in vitro* antioxidant capacity of the sparkling wine.

4.4 RESULTS AND DISCUSSION

4.4.1 Oenological and colorimetric parameters

Table 1 shows the colorimetric and oenological parameters determined. The values found demonstrated that the base and sparkling wines elaborated from the Viognier and Grenache varieties are in accordance to the standards established for wines by the international norms (OIV, 2021b). In general, the transformation of the base wines into sparkling wines influenced the variables analyzed. For the wines produced from Viognier grapes, the sparkling wine showed an increase in the values for pH, VA, L*, b* (yellower color), C*, CI, hue and h, which was greater than 90° (90° = yellow color). For the Grenache samples the sparkling wines showed increases in the values for VA, L*, hue and h, which was less near 0° (0° = red color). On the other hand, the values for pH, a* (redder color), C* and CI reduced. Possibly, ageing on lees led to a decrease in the pH of the sparkling wines elaborated using the cultivar Grenache. Ruiz-Moreno et al. (2017) also observed a reduction in the pH of sparkling wines after autolysis. The TA concentration also changed but only when cold pre-fermentative maceration was applied, for the Viognier sparkling wines increasing slightly and for the Grenache sparkling wines decreasing.

Table 1 Oenological and colorimetric parameters of base and sparkling wines produced with different cold pre-fermentative maceration times.

Parameters ^a	Viognier wines ^b		
	VNM	VM24	VM72

pH	VBW	3.44 ± 0.00 Bc	3.48 ± 0.01 Bb	3.54 ± 0.01 Ba
	VSW	3.50 ± 0.01 Ac	3.53 ± 0.02 Ab	3.61 ± 0.00 Aa
TA ^c (g L ⁻¹)	VBW	6.93 ± 0.11 Aa	6.58 ± 0.04 Bb	6.50 ± 0.07 Bb
	VSW	6.96 ± 0.02 Aa	6.77 ± 0.15 Ab	6.86 ± 0.06 Aab
VA ^d (g L ⁻¹)	VBW	0.13 ± 0.04 Ba	0.11 ± 0.02 Ba	0.12 ± 0.00 Ba
	VSW	0.39 ± 0.01 Aa	0.36 ± 0.07 Aa	0.37 ± 0.00 Aa
Alcohol (% v/v)	VBW	11.30 ± 0.05 Ba	11.23 ± 0.19 Ba	11.27 ± 0.05 Ba
	VSW	12.54 ± 0.16 Aa	12.47 ± 0.29 Aa	12.57 ± 0.02 Aa
L* ^e	VBW	50.92 ± 0.04 Ba	51.20 ± 0.25 Ba	51.37 ± 0.08 Ba
	VSW	52.82 ± 0.02 Aa	53.20 ± 0.48 Aa	52.90 ± 0.28 Aa
a* ^f	VBW	0.75 ± 0.07 Aa	0.49 ± 0.07 Ab	0.75 ± 0.04 Aa
	VSW	-1.24 ± 0.09 Ba	-1.39 ± 0.13 Ba	-1.32 ± 0.02 Ba
b* ^g	VBW	7.82 ± 0.13 Bb	8.13 ± 0.06 Ba	7.97 ± 0.03 Bab
	VSW	9.65 ± 0.11 Aab	9.72 ± 0.18 Aa	9.52 ± 0.08 Ab
C* ^h	VBW	7.84 ± 0.16 Bb	8.15 ± 0.06 Ba	8.00 ± 0.03 Ba
	VSW	9.61 ± 0.05 Aa	9.73 ± 0.08 Aa	9.60 ± 0.07 Aa
h ⁱ	VBW	84.41 ± 0.30 Bb	86.53 ± 0.43 Ba	84.61 ± 0.29 Bb
	VSW	97.38 ± 0.51 Aa	98.17 ± 0.91 Aa	97.84 ± 0.33 Aa
Cl ^j (A ₄₂₀ +A ₅₂₀ +A ₆₂₀)	VBW	0.07 ± 0.01 Ba	0.07 ± 0.00 Ba	0.07 ± 0.00 Ba
	VSW	0.08 ± 0.00 Aa	0.09 ± 0.02 Aa	0.10 ± 0.04 Aa
Hue (420/520nm)	VBW	2.86 ± 0.34 Ba	2.78 ± 0.09 Ba	2.53 ± 0.01 Ba
	VSW	4.78 ± 0.72 Aa	3.62 ± 0.77 Ab	3.99 ± 0.06 Aab

Grenache wines^b

Parameters ^a		GNM	GM24	GM72
pH	GBW	3.36 ± 0.00 Ac	3.51 ± 0.00 Aa	3.48 ± 0.01 Ab
	GSW	3.30 ± 0.00 Bb	3.33 ± 0.01 Ba	3.30 ± 0.04 Bb
TA (g L ⁻¹)	GBW	7.78 ± 0.46 Ab	7.83 ± 0.32 Ab	8.78 ± 0.32 Aa
	GSW	7.55 ± 0.09 Aab	7.18 ± 0.05 Bb	7.69 ± 0.01 Ba
VA (g L ⁻¹)	GBW	0.19 ± 0.01 Ba	0.14 ± 0.02 Bb	0.14 ± 0.01 Bb
	GSW	0.42 ± 0.00 Aa	0.28 ± 0.03 Ab	0.29 ± 0.02 Ab
Alcohol (% v/v)	GBW	10.89 ± 0.25 Bb	11.19 ± 0.16 Ba	11.11 ± 0.06 Ba
	GSW	12.25 ± 0.03 Aa	12.41 ± 0.12 Aa	12.26 ± 0.19 Aa
L*	GBW	45.30 ± 0.11 Ba	40.09 ± 0.38 Bb	40.76 ± 0.83 Bb

	GSW	50.14 ± 0.03 Aa	44.82 ± 0.08 Ac	46.83 ± 0.61 Ab
a*	GBW	10.42 ± 0.37 Ac	13.51 ± 0.01 Aa	11.20 ± 0.08 Ab
	GSW	1.79 ± 0.02 Bc	6.59 ± 0.10 Ba	4.48 ± 0.38 Bb
b*	GBW	7.76 ± 0.87 Bc	17.33 ± 0.04 Ab	19.07 ± 0.09 Aa
	GSW	11.81 ± 0.02 Ac	17.31 ± 0.30 Aa	16.38 ± 0.53 Bb
C*	GBW	13.48 ± 0.13 Ab	21.81 ± 0.19 Aa	22.12 ± 0.04 Aa
	GSW	11.95 ± 0.02 Bc	18.56 ± 0.19 Ba	16.90 ± 0.49 Bb
h	GBW	38.69 ± 0.87 Bc	52.06 ± 0.02 Bb	59.57 ± 0.31 Ba
	GSW	81.34 ± 0.11 Aa	69.18 ± 0.55 Ac	74.31 ± 1.33 Ab
CI ($A_{420}+A_{520}+A_{620}$)	GBW	0.28 ± 0.00 Ac	0.49 ± 0.01 Ab	0.54 ± 0.03 Aa
	GSW	0.14 ± 0.01 Bc	0.37 ± 0.01 Ba	0.29 ± 0.01 Bb
Hue (A_{420}/A_{520})	GBW	0.92 ± 0.02 Bc	1.29 ± 0.01 Bb	1.59 ± 0.03 Ba
	GSW	2.09 ± 0.01 Aa	1.80 ± 0.01 Ab	2.14 ± 0.07 Aa

^aResults are expressed as mean values \pm standard deviation. Values followed by different letters indicate significant differences between the samples according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). Capital letters indicate differences and similarities between the base and sparkling wines of the same treatment. Small letters indicate differences and similarities between the base wines and sparkling wines submitted to the different cold pre-fermentative maceration treatments tested.

^bVBW: Viognier base wine, VSW: Viognier sparkling wine, VNM: Viognier without maceration, VM24: Viognier maceration for 24 hours, VM72: Viognier maceration for 72 hours, GBW: Grenache base wine, GSW: Grenache sparkling wine, GNM: Grenache without maceration, GM24: Grenache maceration for 24 hours and GM72: Grenache maceration for 72 hours. ^cTA: Total acidity. ^dVA: Volatile acidity. ^eL*: Luminosity. ^fa*: Red/green color. ^gb*: Blue/yellow color. ^hC*: Saturation. ⁱh: Hue angle. ^jCI: Color intensity.

Considering the maceration treatments tested, Table 1 shows that the pH value of the Viognier sparkling wines (VSW) increased with time, varying from 3.50 for VNM (control) to 3.61 when applied 72h of cold pre-fermentative maceration (VM72). This behavior was expected since maceration can cause the release of potassium from the grape skins (Ribéreau et al. 2006b). On the other hand, for the Grenache sparkling wines (GSW), the highest pH value was observed after 24 hours of maceration (GM24) (3.33), showing low variation, although significant, when compared to the other treatments (GNM and GM72), which both showed pH values of 3.30.

With respect to the colorimetric parameters, the maceration treatments applied influenced the Grenache sparkling wines. GM24 stood out for showing higher values for a^* (6.59), b^* (17.31), C^* (18.56) and CI (0.37), lower for L^* (44.82), and a hue angle (h) closer to 0°, showing that this sample had a more intense color, closer to red. On the other hand, the GNM (control) sparkling wine showed a higher value for L^* (50.14) and lower values for the parameters CI (0.14) and C^* (11.95), indicating a lighter color closer to yellow with a hue angle very close to 90° (81.34). Considering that the pigments responsible for the color of wines come principally from the grape skins, and that maceration can increase their extraction, it was to be expected that the non-macerated wines would show lower values for CI and C^* .

4.4.2 Phenolic compounds by HPLC and the total phenolic content

Table 2 shows the phenolic profiles of the base and sparkling wines prepared using the Viognier and Grenache cultivars, with the phenolic compounds identified and quantified by HPLC-DAD-FD and the total phenolic contents determined by spectrophotometry.

Trans-caftaric acid was the major phenolic compound quantified in all the samples analysed, a fact already frequently reported (Chamkha, Cathala, Cheynier & Douillard, 2003; Pozo-Bayón, Hernández, Mantín-Álvarez & Polo, 2003; Buxaderas & López-Tamames, 2012). The concentrations of this acid varied from 2.87 to 32.14 mg L⁻¹ in the Viognier sparkling wines (VM24 and VNM, respectively), showing much higher values in the Grenache sparkling wines, varying from 137.10 to 229.54 mg L⁻¹ (GM72 and GNM, respectively). In both cases, the results showed that the use of cold pre-fermentative maceration was responsible for decreasing the *trans*-caftaric acid concentration. The lower concentration of this compound could be associated with a greater oxidation rate in these wines, since *trans*-caftaric acid is a substrate of the main oxidative enzyme present in grapes, polyphenoloxidase (Buxaderas & López-Tamames, 2012; Ferreira-Lima, Burin, Caliari, & Bordignon-Luiz, 2016). Since it is known that *trans*-caftaric acid is one of the compounds responsible for the sensation of astringency in grapes and wines (Garrido & Borges, 2013), the practice of cold pre-fermentative maceration could be an ally to improve the sensory quality of sparkling wines. The concentrations of caffeic and chlorogenic acids also decreased in the Viognier sparkling wines when cold pre-fermentative maceration was applied. However, to the contrary of the behavior of *trans*-caftaric acid, the concentrations of caffeic and chlorogenic acids increased in the GM24 treatment. Also, the concentrations of p-coumaric acid increased in the Grenache sparkling wines submitted to

cold pre-fermentative maceration, but the minimum maceration time for an increase in this compound was 72 hours.

Table 2 also shows that in the case of the Viognier wines, the concentrations of the phenolic acids increased when the base wine was transformed into sparkling wine, with the exception of gallic acid. The opposite effect was observed in the case of the Grenache wines, again with the exception of gallic acid, which suffered no change. This inverse effect could have occurred due to the fact that the esterified forms of the hydroxycinnamic acids (*trans*-caftaric, caffeic, chlorogenic, p-coumaric and ferulic acids) are capable of undergoing hydrolysis during alcoholic fermentation and/or autolysis, increasing their concentrations, or, to the contrary, be transformed by way of oxidation reactions during these steps, decreasing their contents in the wines (Ferreira-Lima et al., 2016).

Table 2 Phenolic compounds quantified in the base and sparkling wines produced with different cold pre-fermentative maceration times

		Viognier wines ^b		
Phenolic compounds (mg L ⁻¹) ^a		VNM	VM24	VM72
<i>Phenolic acids</i>				
Gallic acid	VBW	0.59 ± 0.01 Aa	0.56 ± 0.01 Ab	0.52 ± 0.02 Ac
	VSW	0.23 ± 0.00 Ba	0.24 ± 0.00 Ba	0.24 ± 0.01 Ba
<i>Trans</i> -caftaric acid	VBW	28.93 ± 0.85 Ba	1.00 ± 0.36 Bc	2.07 ± 0.38 Bb
	VSW	32.14 ± 0.97 Aa	2.87 ± 0.25 Ac	4.43 ± 0.19 Ab
Caffeic acid	VBW	2.32 ± 0.06 Ba	0.49 ± 0.11 Bc	0.86 ± 0.14 Bb
	VSW	2.64 ± 0.07 Aa	0.81 ± 0.09 Ac	1.18 ± 0.09 Ab
Chlorogenic acid	VBW	0.74 ± 0.03 Ba	0.35 ± 0.01 Ab	0.36 ± 0.02 Ab
	VSW	1.12 ± 0.07 Aa	0.38 ± 0.02 Ab	0.41 ± 0.01 Ab
p-Coumaric acid	VBW	0.33 ± 0.01 Ba	0.25 ± 0.01 Ab	0.24 ± 0.00 Bb
	VSW	0.42 ± 0.01 Aa	0.28 ± 0.01 Ab	0.38 ± 0.10 Aa
Ferulic acid	VBW	0.33 ± 0.00 Ba	0.33 ± 0.00 Ba	0.31 ± 0.00 Ba
	VSW	0.36 ± 0.01 Aa	0.35 ± 0.01 Aa	0.37 ± 0.00 Aa
<i>Flavanols</i>				

(-)-Epicatechin gallate	VBW	0.78 ± 0.04 Aa	0.81 ± 0.01	0.73 ± 0.04 Aac
	VSW	0.47 ± 0.03 Ba	0.40 ± 0.08 Bb	0.39 ± 0.00 Bb
(-)-Epigalatocatechin gallate	VBW	1.07 ± 0.10 Ba	1.25 ± 0.00 Ba	1.28 ± 0.01 Ba
	VSW	2.52 ± 0.04 Aa	2.63 ± 0.02 Aa	2.21 ± 0.38 Ab
(+)-Catechin	VBW	0.75 ± 0.02 Aa	0.61 ± 0.00 Ab	0.74 ± 0.05 Aa
	VSW	0.64 ± 0.01 Ba	0.55 ± 0.00 Bc	0.59 ± 0.01 Bb
(-)-Epicatechin	VBW	0.71 ± 0.01 Ac	0.80 ± 0.00 Ab	0.93 ± 0.08 Aa
	VSW	0.58 ± 0.02 Bb	0.61 ± 0.01 Bb	0.68 ± 0.01 Ba
Procyanidin A2	VBW	0.38 ± 0.00 Ba	0.38 ± 0.00 Ba	0.38 ± 0.00 Ba
	VSW	0.48 ± 0.01 Aa	0.46 ± 0.01 Ab	0.46 ± 0.01 Ab
Procyanidin B1	VBW	0.84 ± 0.00 Aa	0.83 ± 0.00 Aa	0.83 ± 0.00 Ba
	VSW	0.85 ± 0.01 Aa	0.84 ± 0.00 Ab	0.85 ± 0.00 Ab
Procyanidin B2	VBW	0.82 ± 0.00 Ba	0.82 ± 0.00 Ba	0.82 ± 0.00 Ba
	VSW	1.12 ± 0.06 Ab	1.12 ± 0.03 Ab	1.19 ± 0.02 Aa
<i>Flavonols</i>				
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside	VBW	0.31 ± 0.01 Ab	0.38 ± 0.02 Aa	0.33 ± 0.00 Ab
	VSW	0.31 ± 0.01 Ab	0.38 ± 0.02 Aa	0.31 ± 0.01 Ab
Quercetin-3-β-D-glucoside	VBW	0.78 ± 0.00 Ab	1.07 ± 0.08 Aa	0.86 ± 0.02
	VSW	0.99 ± 0.11 Ab	1.29 ± 0.19 Aa	0.91 ± 0.03 Ab
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	VBW	0.26 ± 0.00 Aa	0.26 ± 0.00 Aa	0.26 ± 0.01 Aa
	VSW	0.25 ± 0.00 Aa	0.26 ± 0.00 Aa	0.26 ± 0.00 Aa
<i>Stilbenes</i>				
<i>Cis</i> -resveratrol	VBW	0.20 ± 0.00 Aa	0.17 ± 0.00 Ab	0.17 ± 0.00 Ab
	VSW	0.19 ± 0.00 Aa	0.16 ± 0.02 Ab	0.16 ± 0.00 Ab
Piceatannol	VBW	0.27 ± 0.00 Aa	0.28 ± 0.00 Aa	0.28 ± 0.00 Aa
	VSW	0.12 ± 0.01 Ba	0.12 ± 0.00 Ba	0.13 ± 0.00 Ba
<i>Trans</i> -resveratrol	VBW	0.25 ± 0.00 Aa	0.25 ± 0.00 Aa	0.25 ± 0.00 Aa
	VSW	0.25 ± 0.00 Aa	0.25 ± 0.00 Aa	0.25 ± 0.00 Aa
Total phenolic content (mg L ⁻¹) ^c	VBW	258.11 ± 19.31	264.22 ± 0.00	274.92 ± 2.45
		Aa	Aa	Aa

	VSW	238.55 ± 1.44 Aab	228.70 ± 0.00 Bb	252.39 ± 0.00 Ba
Grenache wines^b				
Phenolic compounds (mg L ⁻¹) ^a		GNM	GM24	GM72
<i>Phenolic acids</i>				
Gallic acid	GBW	1.07 ± 0.10 Aa	1.14 ± 0.05 Aa	0.70 ± 0.02 Ab
	GSW	1.04 ± 0.01 Aa	1.09 ± 0.01 Aa	0.63 ± 0.02 Bb
<i>Trans-caftaric acid</i>	GBW	257.32 ± 1.91 Aa	163.86 ± 1.71 Ab	150.30 ± 1.58 Ac
	GSW	229.54 ± 3.41 Ba	157.32 ± 0.96 Bb	137.10 ± 4.00 Bc
Caffeic acid	GBW	10.46 ± 0.09 Aa	7.17 ± 0.26 Ab	5.75 ± 0.07 Ac
	GSW	2.59 ± 0.05 Bb	2.99 ± 0.00 Ba	2.65 ± 0.03 Bb
Chlorogenic acid	GBW	1.21 ± 0.05 Ac	1.53 ± 0.10 Ab	1.74 ± 0.06 Aa
	GSW	1.06 ± 0.05 Bb	1.24 ± 0.02 Ba	0.81 ± 0.02 Bc
p-Coumaric acid	GBW	0.49 ± 0.00 Aa	0.53 ± 0.02 Aa	0.50 ± 0.00 Ba
	GSW	0.37 ± 0.00 Bb	0.36 ± 0.00 Bb	0.60 ± 0.13 Aa
Ferulic acid	GBW	0.58 ± 0.00 Aa	0.58 ± 0.00 Aa	0.56 ± 0.00 Ab
	GSW	0.32 ± 0.00 Ba	0.33 ± 0.01 Ba	0.34 ± 0.01 Ba
<i>Flavanols</i>				
(-)-Epicatechin gallate	GBW	1.31 ± 0.20 Aa Aab	1.35 ± 0.17	1.16 ± 0.00 Aac
	GSW	0.51 ± 0.03 Ba	0.57 ± 0.05 Ba	0.57 ± 0.04 Ba
(-)-Epigalatocatechin gallate	GBW	2.08 ± 0.02 Ab	2.18 ± 0.06 Aa	1.95 ± 0.03 Ac
	GSW	1.34 ± 0.06 Ba	1.39 ± 0.02 Ba	1.36 ± 0.01 Ba
(+)-Catechin	GBW	9.17 ± 0.07 Aa	8.22 ± 0.17 Ab	5.34 ± 0.31 Ac
	GSW	2.91 ± 0.18 Ba	2.71 ± 0.07 Bb	1.81 ± 0.03 Bc
(-)-Epicatechin	GBW	2.87 ± 0.04 Aa	2.41 ± 0.07 Ab	1.64 ± 0.04 Ac
	GSW	0.95 ± 0.01 Ba	0.77 ± 0.01 Bb	0.62 ± 0.02 Bc
Procyanidin A2	GBW	1.38 ± 0.03 Aa	1.23 ± 0.03 Ab	1.17 ± 0.00 Ac
	GSW	0.46 ± 0.01 Ba	0.47 ± 0.01 Ba	0.49 ± 0.01 Ba

		GBW	10.66 ± 0.23	10.37 ± 0.18	4.81 ± 0.14 Ac
Procyanidin B1		Aa		Ab	
	GSW	2.54 ± 0.16 Ba	2.60 ± 0.08 Ba	1.63 ± 0.05 Bb	
Procyanidin B2	GBW	3.39 ± 0.00 Aa	2.74 ± 0.18 Ab	1.94 ± 0.05 Ac	
	GSW	1.48 ± 0.01 Ba	1.51 ± 0.29 Ba	1.43 ± 0.05 Ba	
<i>Flavonols</i>					
Kaempferol-3-O-glucoside	GBW	0.49 ± 0.00 Aa	0.52 ± 0.01 Ab	0.52 ± 0.00 Ab	
	GSW	0.25 ± 0.00 Bb	0.30 ± 0.01 Ba	0.30 ± 0.01 Ba	
Quercetin-3-β-D-glucoside	GBW	1.63 ± 0.04 Ac	2.38 ± 0.06 Aa	2.13 ± 0.07 Ab	
	GSW	1.26 ± 0.00 Bc	2.07 ± 0.01 Ba	1.73 ± 0.11 Bb	
Isorhamnetin-3-O-glucoside	GBW	0.66 ± 0.00 Ab	0.74 ± 0.00 Aa	0.66 ± 0.00 Ab	
	GSW	0.36 ± 0.01 Bb	0.45 ± 0.01 Ba	0.42 ± 0.02 Ba	
Rutin	GBW	0.60 ± 0.01 Ac	0.72 ± 0.01 Aa	0.68 ± 0.01 Ab	
	GSW	0.36 ± 0.00 Bb	0.49 ± 0.01 Ba	0.48 ± 0.00 Ba	
<i>Stilbenes</i>					
<i>Cis</i> -resveratrol	GBW	0.38 ± 0.01 Aa	0.34 ± 0.02 Ab	0.31 ± 0.01 Ac	
	GSW	0.14 ± 0.00 Ba	0.14 ± 0.00 Ba	0.14 ± 0.00 Ba	
Piceatannol	GBW	0.53 ± 0.00 Aa	0.53 ± 0.00 Aa	0.52 ± 0.00 Aa	
	GSW	0.25 ± 0.00 Bb	0.34 ± 0.02 Ba	0.35 ± 0.00 Ba	
<i>Trans</i> -resveratrol	GBW	0.10 ± 0.00 Aa	0.10 ± 0.00 Aa	0.10 ± 0.00 Aa	
	GSW	0.11 ± 0.00 Aa	0.11 ± 0.00 Aa	0.11 ± 0.00 Aa	
<i>Anthocyanins</i>					
Malvidin-3-O-glucoside	GBW	4.80 ± 0.10 Aa	4.34 ± 0.75 Aa	2.32 ± 0.00 Ab	
	GSW	0.44 ± 0.00 Ba	0.42 ± 0.04 Ba	0.26 ± 0.00 Bb	
Peonidin-3-O-glucoside	GBW	0.64 ± 0.06 a	0.45 ± 0.12 b	0.12 ± 0.00 c	
	GSW	Nd ^c	Nd	Nd	
Pelargonidin-3-O-glucoside	GBW	0.79 ± 0.01 a	0.65 ± 0.00 b	0.65 ± 0.00 b	
	GSW	Nd	Nd	Nd	
Delphinidin-3-O-glucoside	GBW	0.61 ± 0.00 a	0.54 ± 0.01 b	0.53 ± 0.00 b	
	GSW	Nd	Nd	Nd	
Total phenolic content (mg L ⁻¹) ^d	GBW	472.09 ± 88.60	550.28 ± 22.69	455.28 ± 11.53	
		Ab	Aa	Ab	

	GSW	485.16 ± 14.17	433.80 ± 38.78	350.22 ± 9.31
	Aa	Ba	Bb	

^aResults expressed as mean values \pm standard deviation. Values followed by different letters indicate significant differences between the samples according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). Capital letters indicate differences and similarities between the base and sparkling wines of the same treatment. Small letters indicate differences and similarities between the base wines and sparkling wines submitted to the different cold pre-fermentative maceration treatments tested

^bVBW: Viognier base wine, VSW: Viognier sparkling wine, VNM: Viognier without maceration, VM24: Viognier maceration for 24 hours, VM72: Viognier maceration for 72 hours, GBW: Grenache base wine, GSW: Grenache sparkling wine, GNM: Grenache without maceration, GM24: Grenache maceration for 24 hours and GM72: Grenache maceration for 72 hours. ^cNd: Not detected. ^dTotal phenolic content measured by the spectrophotometric method.

Considering the flavanols, Table 2 shows that the concentrations of (-)-epicatechin (0.68 mg L⁻¹) and procyanidin B2 (1.19 mg L⁻¹) increased in the VM72. However, for the Grenache sparkling wines, the use of the technique for 72 hours did not contribute to an increase in the extraction of this phenolic group. To the contrary, it promoted a decrease in (-)-epicatechin, procyanidin B1 and (+)-catechin, the latter being the most abundant flavanol in the Grenache sparkling wines, varying from 1.81 to 2.91 mg L⁻¹ in GM72 and GNM, respectively. These values were higher than the mean value (0.97 mg L⁻¹) found in rosé sparkling wines made from this grape (Pozo-Bayón et al., 2003).

In the Grenache sparkling wines, the flavonols quercetin-3- β -D-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, rutin and kaempferol-3-*O*-glucoside were found in higher concentrations in the samples submitted to cold pre-fermentative maceration (GM24 and GM72). However, in the Viognier sparkling wines, higher concentrations of quercetin-3- β -D-glucoside and kaempferol-3-*O*-glucoside were found when cold pre-fermentative maceration was applied for 24 hours (VM24), non-linear variations in the amounts of these flavonols occurring as a result of the maceration time. Quercetin-3- β -D-glucoside is known for its antioxidant and pharmacological properties, and was the most abundant flavonol found in the sparkling wines of this study, especially in those submitted to 24 hours of maceration, reaching 1.29 mg L⁻¹ in VM24 and 2.07 mg L⁻¹ in GM24 (Table 2), values higher than those reported in Champagnes by Chamkha et al. (2003) (between 0.017 and 0.06 mg L⁻¹) and in Cavas by Terrier, Poncet-Legrand & Cheynier (2009) (mean of 0.4 mg L⁻¹).

The following three important stilbenes were identified and quantified: *cis*-resveratrol, *trans*-resveratrol and piceatannol (Table 2), the latter being the major stilbene in the Viognier (0.28 mg L^{-1}) and Grenache (0.53 mg L^{-1}) base wines. However, their concentrations decreased in the sparkling wines, reaching 0.12 mg L^{-1} in Viognier and 0.25 mg L^{-1} in Grenache. Piceatannol was the stilbene found in higher concentration in Grenache sparkling wine, and *trans*-resveratrol in Viognier sparkling wine. The cold pre-fermentative maceration promoted a reduced fall in the piceatannol content in Grenache sparkling wine. For the Viognier sparkling wine, this maceration only reduced the *cis*-resveratrol. However, the *cis*-resveratrol values found in the Viognier and Grenache sparkling wines samples are in the range reported in Cavas, 0.10 e 0.21 mg L^{-1} (Ibern-Gómez et al., 2000).

The main anthocyanins found in wines were quantified in the Grenache rosé wines: malvidin-3-*O*-glucoside, peonidin-3-*O*-glucoside, pelargonidin-3-*O*-glucoside and delphinidin-3-*O*-glucoside (Monagas & Bartolomé, 2009). However, the base wines presented higher concentrations of these pigments and only malvidin-3-*O*-glucoside was detected in the sparkling wines (Table 2). This anthocyanin is known to be the most abundant in wines and can represent 90% of the total anthocyanin content of the Grenache cultivar (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). The results showed that cold pre-fermentative maceration decreased the malvidin-3-*O*-glucoside concentration when applied for 72 hours. This loss could be related to adsorption by the yeast cell wall during alcoholic fermentation, to ageing in lees, or to precipitation together with the tartrate salts. It could also be related to hydrolysis or condensation reactions with other phenolic compounds (Monagas & Bartolomé, 2009).

For the wine samples evaluated in the present study, there was a decrease in the total phenolic content (TPC) when cold pre-fermentative maceration was applied, after transformation of the base wines into sparkling wines (Table 2). In general, the sparkling wines elaborated with the Viognier cultivar showed total phenolic contents above the ranges found in Champagnes (176 to 195 mg L^{-1}) (Chamkha et al., 2003) and Chenin Blanc tropical white sparkling wines (110.94 to 134.79 mg L^{-1}) (Nascimento, Souza, Lima & Pereira, 2018), reaching 228.70 and 252.39 mg L^{-1} for VM24 and VM72, respectively. For the Grenache sparkling wines, a tendency for the TPC to reduce with increasing maceration time was noted, decreasing from 485.16 mg L^{-1} in the GNM sparkling wines to 350.22 mg L^{-1} in GM72. Nevertheless, these values are higher than those reported for Shiraz tropical rosé sparkling wines (190.22 mg L^{-1}) elaborated using the traditional method (Nascimento et al., 2018). For the Viognier sparkling wines, the cold pre-fermentative maceration time did not alter the total

phenolic content. In fact, the phenomena involved in maceration are complex and do not cause a regular increase in the amounts of substances extracted, including the phenolic compounds (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Co-pigmentation, de-polymerization or polymerization reactions between the phenolic compounds could also be responsible for the differentiated behavior reported between the sparkling wines, as a function of maceration time (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

4.4.3 In vitro antioxidant capacity (AOX) and its correlation with the phenolic compound profile

Figure 1 shows the antioxidant capacity (AOX) of the base and sparkling wines Viognier (Fig. 1A) and Grenache (Fig. 1B) as determined by the DPPH and FRAP methods. Both the application of cold pre-fermentative maceration and the transformation of base wine into sparkling wine influenced the AOX of the white and rosé sparkling wines. For the sparkling wines elaborated with the Viognier cultivar, the 18-month ageing period could have been the main factor in the reduction of the AOX in the sparkling wines, possibly due to a modification of the yeast cell wall and oxidation of the bioactive compounds (Gallardo-Chacón, Vichi, Urpí, López-Tamames, & Buxaderas, 2010; Stefon et al., 2014). After the transformation of the base wine in sparkling wine, the Viognier sparkling wine (Fig. 1A) showed a reduction in AOX according to the DPPH method, with the exception of the non-macerated treatment (VNM - control). However, using the FRAP method, the decrease only occurred in VM24. Considering the treatments employed, the base wines submitted to the longest maceration period (VM72) showed the highest antioxidant capacity and the VM24 the lowest. This behavior also occurred in the Viognier sparkling wines, but the AOX of the VNM did not differ from VM72. The mean values for AOX in the Viognier sparkling wine as determined by the DPPH method varied from 0.42 to 0.46 mmol TEAC L⁻¹ for VM24 and VNM, respectively, and using the FRAP method, from 0.58 to 0.67 mmol TEAC L⁻¹ for VM24 and VM72, respectively. This behavior was expected since the results obtained for the phenolic compound compositions of these sparkling wines (Table 2) showed that the VNM presented higher concentrations of *trans*-caftaric, caffeic and chlorogenic acids, and VM72 higher concentrations of epicatechin and procyanidin B2, which, according to the PLS regression analysis (Figure 2), collaborated positively to the AOX in both of the methods analyzed. Thus, for the Viognier sparkling wines, it was shown that the application of the cold pre-fermentative maceration technique contributed to maintain the AOX of the product when applied for 72 hours.

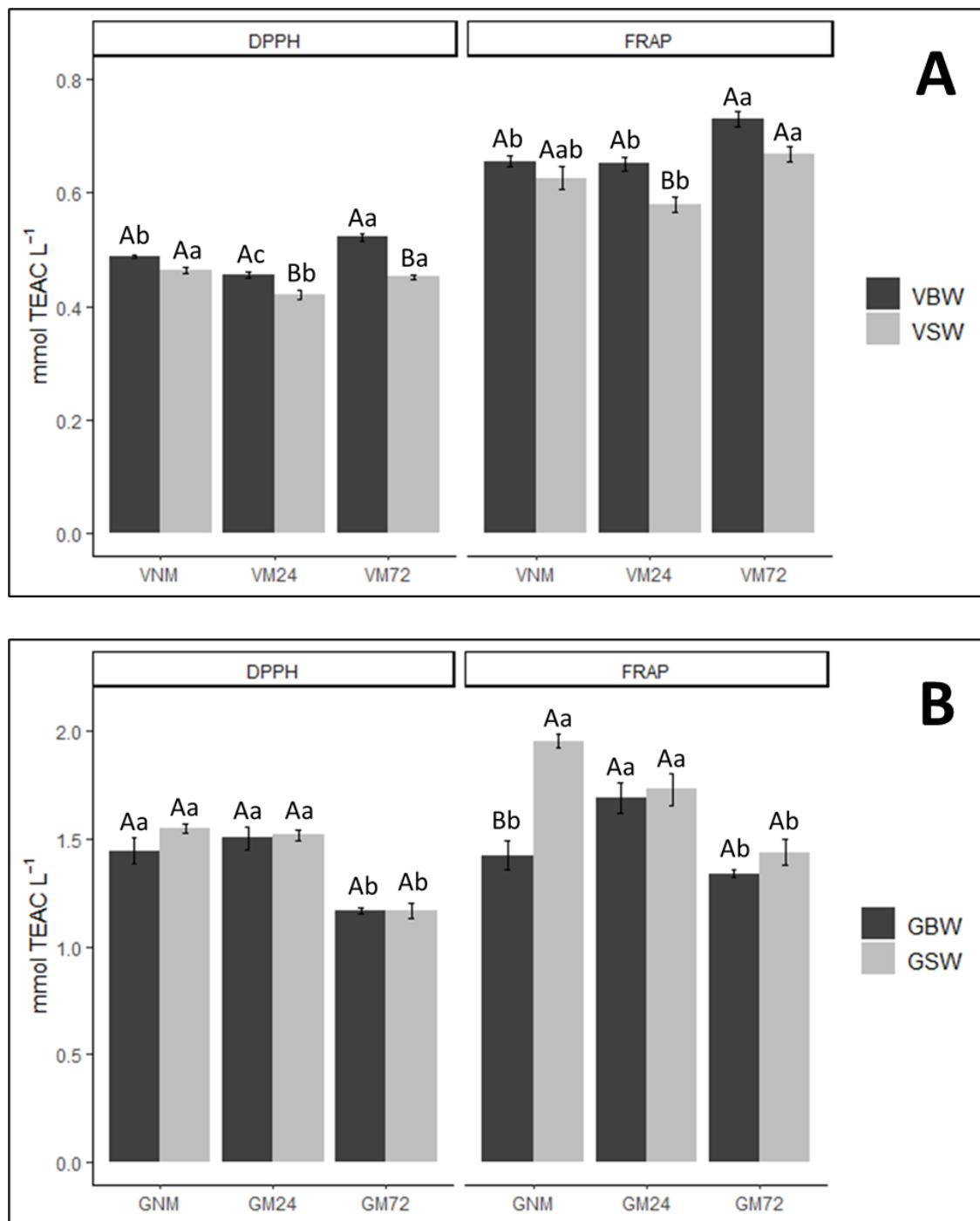


Fig. 1 In vitro antioxidant capacity by the DPPH and FRAP methods of the base and sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration times from the varieties Viognier (A) and Grenache (B). Bars with means followed by different letters indicate significant differences according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). Capital letters indicate differences and similarities between the base and sparkling wines of the same treatment. Small letters indicate differences and similarities between the base wines and sparkling wines submitted to the different cold pre-fermentative maceration treatments tested. VBW: Viognier base wine,

VSW: Viognier sparkling wine, VNM: Viognier without maceration, VM24: Viognier maceration for 24 hours, VM72: Viognier maceration for 72 hours, GBW: Grenache base wine, GSW: Grenache sparkling wine, GNM: Grenache without maceration, GM24: Grenache maceration for 24 hours and GM72: Grenache maceration for 72 hours.

On the other hand, for the Grenache cultivar wines (Fig. 1B), there was only an increase in AOX when the values for the base and sparkling wines were compared for the GNM (control) sample, and only using the FRAP method, varying from 1.43 mmol TEAC L⁻¹ for the base wine to 1.96 mmol TEAC L⁻¹ for the sparkling wine. Gallardo-Chacón et al. (2010), in a study of the AOX (DPPH and FRAP) during the ageing of sparkling wines, observed that the AOX as determined by the FRAP method was influenced by other compounds apart from the polyphenol compounds. Thus other substances, not evaluated in the present study, could have been responsible for the higher AOX in the Grenache GNM sparkling wine.

Considering the cold pre-fermentative maceration treatments, the GNM and GM24 sparkling wines presented the greatest antioxidant capacities. Thus, to elaborate rosé sparkling wines from Grenache grapes, the maceration technique when applied for 24 hours, maintained the AOX. On the other hand, when maceration was carried out for 72 hours, there was a fall in the AOX of the rosé sparkling wines. Analyzing the results obtained for the phenolic compounds composition of these sparkling wines (Table 2) associated with the PLS presented in Figure 2, it can be seen that the GNM and GM24 also presented higher concentrations of the following phenolic compounds, which correlated with higher AOX values: *trans*-caftaric acid, (+)-catechin, (-)-epicatechin (GNM), caffeic and chlorogenic acids (GM24), and malvidin-3-O-glucoside (GNM and GM24).

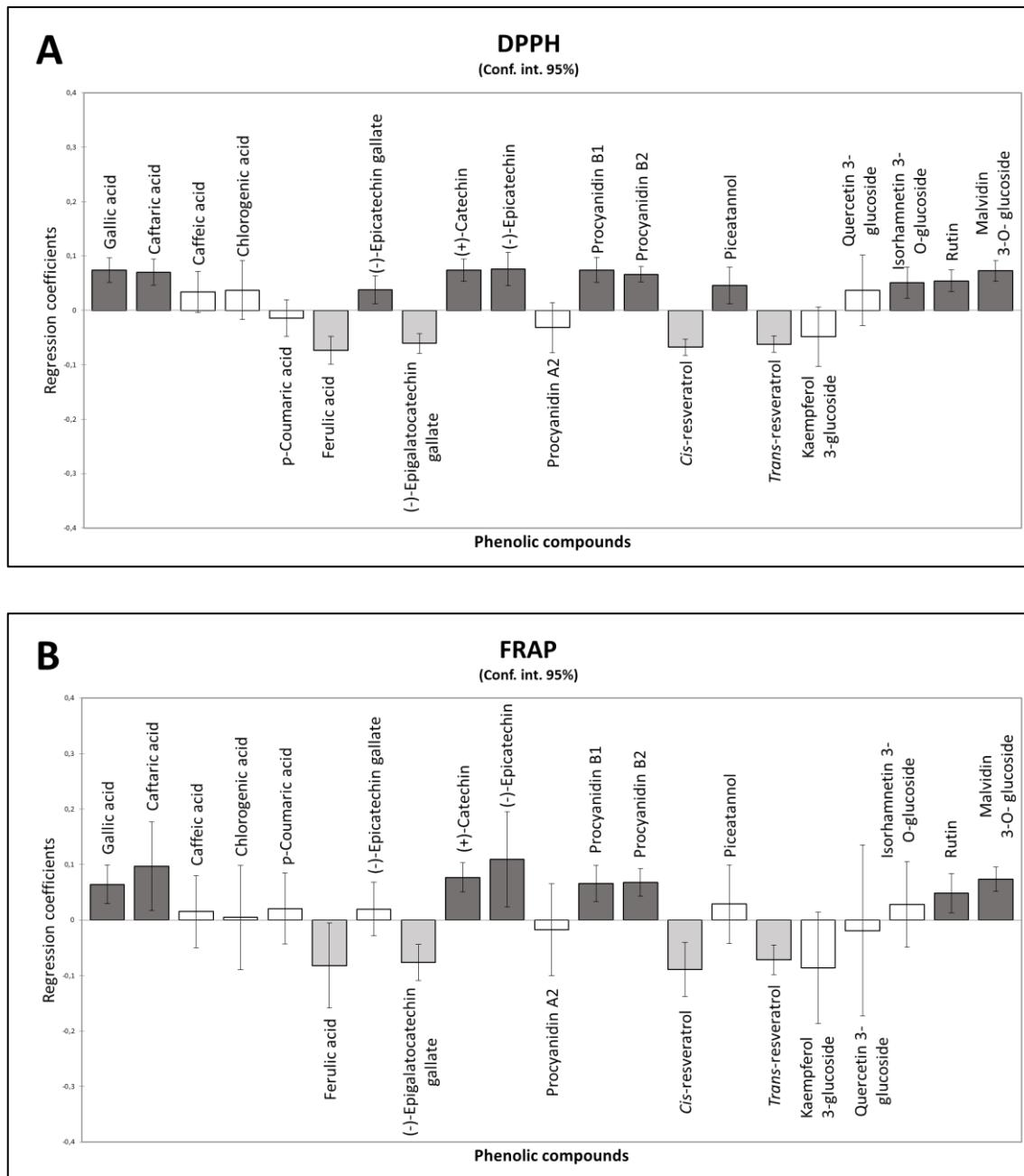
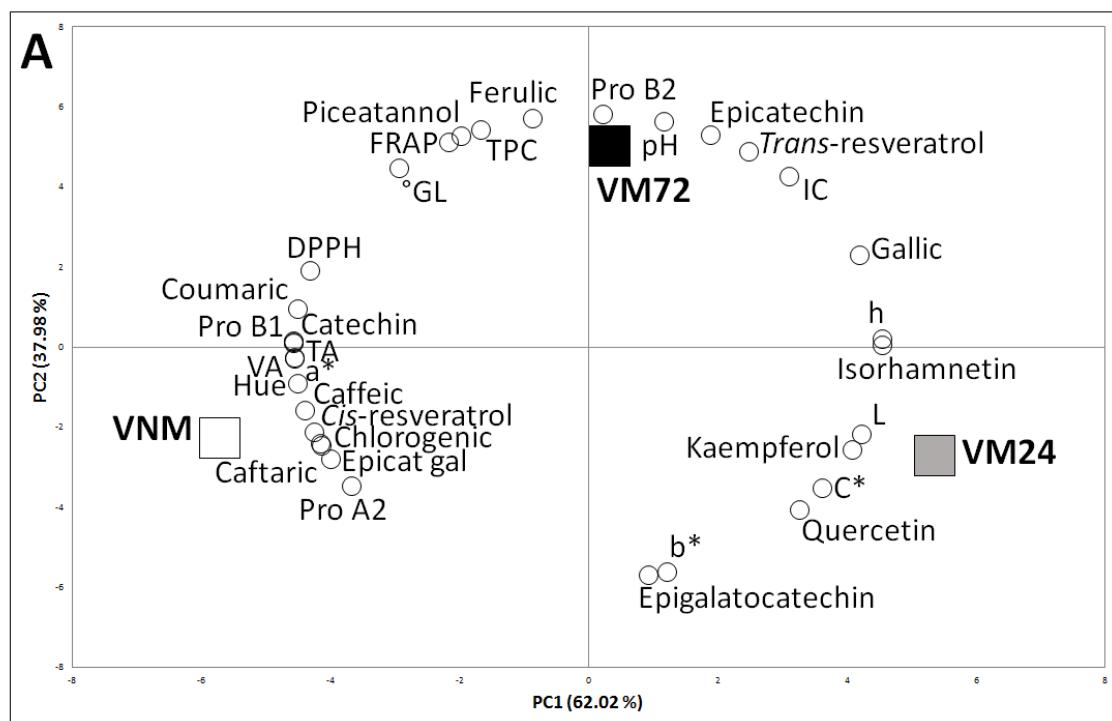


Fig. 2 95% jackknife confidence intervals of the Partial Least Squares regression coefficients for the prediction of the antioxidant capacity (AOX) of the white and rosé sparkling wines according to the concentration of the phenolic compounds (phenolic acids, flavanols, flavonols, anthocyanins and stilbenes). (A) DPPH assay, (B) FRAP assay (light gray bars = phenolic compound that contributed negatively to AOX at $p \leq 0.05$; dark gray bars = phenolic compound that contributed positively to AOX at $p \leq 0.05$; white bars = phenolic compound with no significant contribution to AOX).

4.4.4 Principal Component Analysis

The principal component analysis was applied to explain the influence of the pre-fermentative maceration technique on the oenological parameters, colorimetrics, phenolic compounds profile and antioxidant capacity of the sparkling wines. The Figure 3 represent the distribution of the sparkling wines elaborated with the Viognier (Fig. 3A) and Grenache (Fig. 3B) grapes, as a function of the variables presented in Tables 1 and 2 and Figure 1. For the Viognier sparkling wines, the PC1 (62.02%) was responsible for separating the non-macerated sparkling wine (VNM – control) from the VM24. The VNM sparkling wines were located in the negative part of this component, associated with higher concentrations of trans-caftaric, caffeic and chlorogenic acids, and also (-)-epicatechin gallate, procyanidin A2 and cis-resveratrol. Additionally, the PC2 (37.98%) was responsible for separating the sparkling wines VM72 from the others (VNM and VM24). On the component positive part, the sparkling wine VM72 was associated with pH and higher concentrations of (-)-epicatechin, procyanidin B2, TPC and antioxidant capacity by the FRAP, which the vectors were closer to this treatment. Other phenolic compounds such as ferulic acid and piceatannol also contributed to separating, however, did not show a significant difference (Table 2) between the pre-fermentative maceration treatments tested.



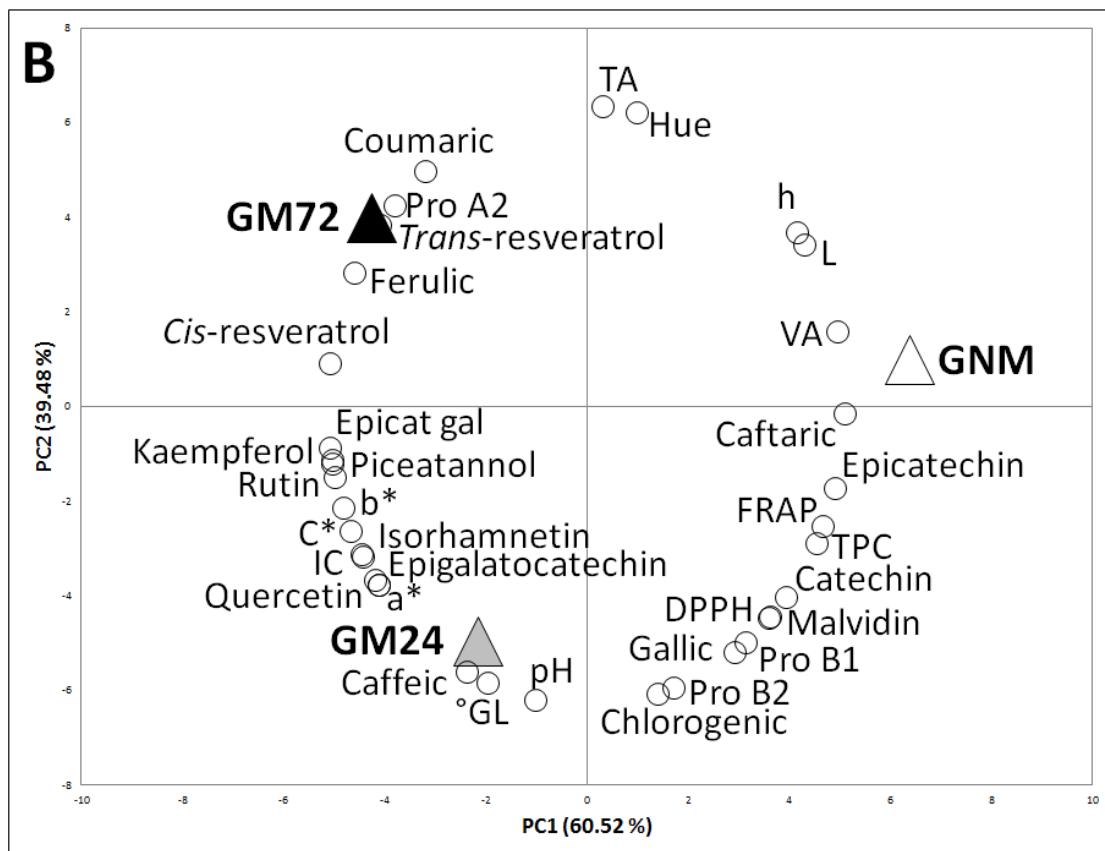


Fig. 3. Principal Component Analysis (PCA) showing the configuration of the sparkling wines produced with different cold pre-fermentative maceration times with Viognier (A) and Grenache (B) varieties in function of the and the oenological and colorimetrics parameters, antioxidant capacity and of the phenolic compounds quantified by HPLC-DAD-FD. VNM: Viognier without maceration, VM24: Viognier maceration for 24 hours, VM72: Viognier maceration for 72 hours, GNM: Grenache without maceration, GM24: Grenache maceration for 24 hours and GM72: Grenache maceration for 72 hours. TA: Total acidity, VA: Volatile acidity, L*: Luminosity, a*: Red/green color, b*: Blue/yellow color, C*: Saturation, h: Hue angle, CI: Color intensity, TPC: total phenolic content, Ferulic: ferulic acid, Caffeic: caffeic acid, Caftaric: *trans*-caftaric acid, Coumaric: p-coumaric acid, Chlorogenic: chlorogenic acid, Gallic: gallic acid, Epicat gal: (-)-epicatechin gallate, Epigalatocatechin: (-)-epigalatocatechin gallate, Catechin: (+)-catechin, Epicatechin: (-)-epicatechin, Pro A2: procyanidin A2, Pro B1: procyanidin B1, Pro B2: procyanidin B2, Kaempferol: kaempferol-3-*O*-glucoside, Quercetin: quercetin-3- β -D-glucoside, Isorhamnetin: isorhamnetin-3-*O*-glucoside, Malvidin: malvidin-3-*O*-glucoside.

For the Grenache sparkling wines (Fig. 3B) the PC1 (60.52%) was responsible for separating the non-macerated sparkling wine (GNM – control) from the others (GM24 and GM72). The sparkling wine GNM occupied the positive part of PC1, while GM24 and GM72

were localized in the component negative part. The main variables responsible for this separation were *trans*-caftaric acid, (-)-epicatechin, TPC, antioxidant capacity by the FRAP, volatile acidity (VA) and the parameters of color L* and h, whose vectors were closer to sparkling wine from GNM, converging with the results presented in Tables 1 and 2 and Figure 1. Additionally, the PC2 (39.48%) was responsible for separating the sparkling wines elaborated with 24h of maceration (GM24) and 72h (GM72). The vectors that represented caffeic acid, quercetin-3- β -D-glucoside, chlorogenic acid, color component a* and pH were closer to the sparkling wine GM24, converging with the results presented in Table 1 and 2. Beyond that, in this PCA (Fig. 3B) it makes it clear the proximity and the positive relation between the sparkling wine GM24 and higher values from the majority color parameters evaluated, such as IC, b*, C* and a*.

In general, it can be observed that the use of cold pre-fermentative maceration in the sparkling wine elaboration influenced more directly the phenolic compounds and the pH, independent of the grape variety. Additionally, for the Grenache sparkling wines, the winemaking practice altered significantly the colorimetric parameters.

4.4.5 Hierarchical clustering and heatmap analysis

Aiming to evidence the general impact of the use of cold pre-fermentative maceration in the similarity degree of the sparkling wines as a function of the phenolic compounds and the antioxidant capacity, and based in the ANOVA presented in the Table 2 and Figure 1, heatmaps were built from the variables that showed significant ($p \leq 0.05$) to differentiate the Viognier (Fig. 4A) and Grenache (Fig. 4B) sparkling wines samples.

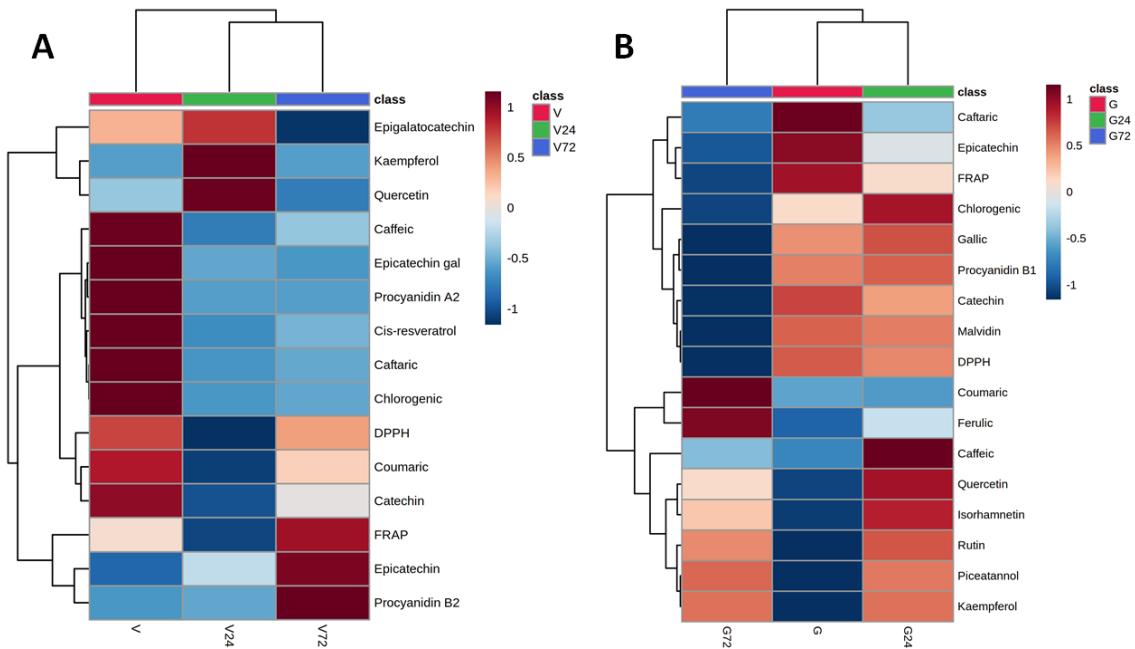


Fig. 4 Hierarchical clustering and heatmap for each sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration times from the varieties Viognier (A) and Grenache (B) by of values of phenolic compounds quantified by HPLC-DAD-FD and antioxidant capacity (DPPH and FRAP) with significant difference ($p \leq 0.05$). V: Viognier without maceration, V24: Viognier maceration for 24 hours, V72: Viognier maceration for 72 hours, G: Grenache without maceration, G24: Grenache maceration for 24 hours and G72: Grenache maceration for 72 hours. Ferulic: ferulic acid, Caffeic: caffeic acid, Caftaric: *trans*-caftaric acid, Coumaric: p-coumaric acid, Chlorogenic: chlorogenic acid, Gallic: gallic acid, Epicatechin gal: (-)-epicatechin gallate, Epigalatocatechin: (-)-epigalatocatechin gallate, Catechin: (+)-catechin, Epicatechin: (-)-epicatechin, Kaempferol: kaempferol-3-*O*-glucoside, Quercetin: quercetin-3- β -D-glucoside, Isorhamnetin: isorhamnetin-3-*O*-glucoside, Malvidin: malvidin-3-*O*-glucoside.

For the sparkling wines elaborated from the Viognier variety, the results from the heatmap (Fig 4A) showed the difference between the VNM treatment and the others, including the sparkling wines VM24 and VM72 in the same cluster. The main variables identified as the most significative to differentiate VNM were caffeic acid, (-)-epicatechin gallate, procyanidin A2, *cis*-resveratrol, *trans*-caftaric acid, chlorogenic acid and (+)-catechin. Also, kaempferol-3-*O*-glucoside and quercetin-3- β -D-glucoside showed positive relation with the sparkling wine VM24. For VM72, the phenolic compounds that showed positive relation were (-)-epicatechin and procyanidin B2, that were present in the same cluster of AOX by the FRAP. This proximity reveals the relation of these compounds (Table 2) with a higher AOX from the Viognier sparkling wine (Fig. 1A) and, converging with the results presented in the PLS (Fig. 2B).

In the opposite observed for the Viognier sparkling wine in the heatmap build from the Grenache sparkling wines data (Fig. 4B), the GM72 stood out from the GNM (control) and GM24. The latter two were present in the same cluster, showing more similar phenolic profile, regardless of that the cold pre-fermentative maceration technique was not used for the GNM elaboration. The GM72 differentiated mainly for the variables p-coumaric and ferulic acids. While the GNM showed positive relation with *trans*-caftaric acid, (-)-epicatechin and AOX by the FRAP, and GM24 was highlighted by the chlorogenic acid, caffeic acid, quercetin-3- β -D-glucoside and isorhamnetin-3-*O*-glucoside. Thus, it is evident the higher AOX from the GNM sparkling wine compared to the GM24. Also, the PLS (Fig. 2B) shows that the *trans*-caftaric acid and (-)-epicatechin concentrations favor a higher AOX by the FRAP. While, chlorogenic acid, caffeic acid and quercetin-3- β -D-glucoside did not contribute significantly to elevate the antioxidant capacity of the tropical sparkling wines. However, even if the literature can supply the individual antioxidant capacities of each phenolic compound, the association between them and a possible synergic effect represents a primordial factor in determining the antioxidant capacity of a wine (Roig, Cascón, Arola, Bladé, & Salvadó, 2002).

4.5 CONCLUSIONS

The results presented were able to evaluate the influence of the cold pre-fermentative maceration time on the nutraceutical quality of white and rosé sparkling wines, and showed that the Viognier and Grenache cultivars had the potential to elaborate sparkling wines by the traditional method.

Some phenolic compounds stood out as potential markers for the use of the technique to elaborate sparkling wines. For the Viognier sparkling wines, the use of the maceration technique increased the concentrations of kaempferol-3-*O*-glucoside and quercetin-3- β -D-glucoside after 24 hours of treatment, and of (-)-epicatechin and procyanidin B2 after 72 hours. On the other hand, for the Grenache sparkling wines, the caffeic and chlorogenic acids and quercetin-3- β -D-glucoside contents increased after 24h of maceration and p-coumaric and ferulic acids after 72 hours, while kaempferol-3-*O*-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside and rutin increased for both maceration times.

Aiming to maintain the Viognier sparkling wines antioxidant capacity, the cold pre-fermentative maceration should be applied for 72 hours, whereas for Grenache rosé sparkling wines, the technique should not be applied for more than 24 hours. In addition, cold pre-

fermentative maceration of the Grenache grapes resulted in sparkling rosé wines with a more intense color when applied for 24 hours, whereas for the Viognier sparkling wines, the technique did not change the colorimetric parameters.

Partial Least Squares regression showed that gallic acid, *trans*-caftaric acid, (-)-epicatechin gallate, (+)-catechin, (-)-epicatechin, procyanidin B1, procyanidin B2, piceatannol, rutin and malvidin-3-O-glucoside collaborated to produce greater antioxidant capacity in the tropical sparkling wines.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to FAPESB (Bahia State Research Support Foundation) for the scholarship (BOL0723/2019) and to the winemakers *Vitivinícola Santa Maria* (Rio Sol wines) and *Vinícola Terranova* (Miolo wine group) for donating the grapes.

4.6 REFERENCES

- Alexandre-Tudo, J.L., & du Toit, W. (2018). Cold maceration application in red wine production and its effects on phenolic compounds: A review. LWT - Food Science and Technology, 95, 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.096>
- Alexandre, H. & Guilloux-Benatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine - A review. Australian Journal of Grape and Wine Research, 12(2), 119–127. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00051.x>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239, Article 0292, 70-76.
- Biasoto, A. C. T., Netto, F. M., Marques, E. J. N., Da Silva, M. A. A. P. (2014). Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. Food Research International, 62, 456-466.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Buxaderas, S. & López-Tamames, E. (2012). Sparkling Wines: Features and Trends from Tradition. In Advances in Food and Nutrition Research, 66. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394597-6.00001-X>
- Caliari, V., Burin, V. M., Rosier, J. P., & Bordignon-Luiz, M. T. (2014). Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. Food Research International, 62, 965-973. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.013>

- Caliari, V., Panceri, C. P., Rosier, J. P., & Bordignon-Luiz, M. T. (2015). Effect of the traditional, charmat and asti method production on the volatile composition of moscato giallo sparkling wines. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 393-400. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.039>
- Cejudo-Bastante, M. J., Castro-Vázquez, L., Hermosín-Gutiérrez, I., & Pérez-Coello, M. S. (2011). Combined effects of prefermentative skin maceration and oxygen addition of must on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics of Airén white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(22), 12171-12182. <https://doi.org/10.1021/jf202679y>
- Cejudo-Bastante, M. J., Gordillo, B., Hernanz, D., Escudero-Gilete, M. L., González-Miret, M. L., & Heredia, F. J. (2014). Effect of the time of cold maceration on the evolution of phenolic compounds and colour of Syrah wines elaborated in warm climate. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(8), 1886-1892. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12523>
- Chamkha, M., Cathala, B., Cheynier, V., & Douillard, R. (2003). Phenolic composition of champagnes from Chardonnay and Pinot noir vintages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 3179-3184. <https://doi.org/10.1021/jf021105j>
- CIE, Commission Internationale de l'Eclairage. (1986). Colorimetry (2nd ed.), Publication CIE, 15 (2).
- Costa, R. R., Rodrigues, A. A. M., De Vasconcelos, V. A. F., Costa, J. P. D., & De Lima, M. A. C. (2020). Trellis systems, rootstocks and season influence on the phenolic composition of 'Chenin Blanc' grape. *Scientia Agricola*, 77(3). <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0207>
- Di Gianvito, P., Arfelli, G., Suzzi, G., Tofalo, R. (2019). 11 – New Trends in Sparkling Wine production: Yeast Rational Selection. *Alcoholic Beverages*, 7, 347-386. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815269-0.00011-8>
- Ferreira-Lima, N. E., Burin, V. M., Caliari, V., & Bordignon-Luiz, M. T. (2016). Impact of Pressing Conditions on the Phenolic Composition, Radical Scavenging Activity and Glutathione Content of Brazilian *Vitis vinifera* White Wines and Evolution During Bottle Ageing. *Food and Bioprocess Technology*, 9(6), 944-957. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1680-7>
- Gallardo-Chacón, J. J., Vichi, S., Urpí, P., López-Tamames, E., Buxaderas, S. (2010). Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie aging. *International Journal of Food Microbiology*, 143, 48-53.
- Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2), 1844-1858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
- González-Lázaro, M., Martínez-Lapuente, L., Palacios, A., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Bueno-Herrera, M., Cuesta, P. L., Pérez-Magariño, S. (2019). Effects of different oenological techniques on the elaboration of adequate base wines for red sparkling wine production: phenolic composition, sensory properties and foam parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 4580-4592.
- Harbertson, J. & Spayd, S. E. (2006). Measuring phenolics in the winery. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 280-288.

- Ibern-Gómez M., Andrés-Lacueva C., Lamuela-Raventós, R. M., Buxaderas, S., Singleton, V. L., & de la Torre-Boronat, M. C. (2000). Browning of Cava (sparkling wine) during aging in contact with lees due to the phenolic composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51, 29-36.
- Jackson, R. S. (2000). *Wine Science: Principles, practice and perception* (2nd ed). San Diego, CA: Academic Press.
- Kemp, B., Alexandre, H., Robillard, B., & Marchal, R. (2015). Effect of production phase on bottle-fermented sparkling wine quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(1), 19-38. <https://doi.org/10.1021/jf504268u>
- Monagas, M. & Bartolomé, B. (2009). Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds. In: Moreno-Arribas, M. V. & Carmen Polo, M. *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 439-456).
- Martínez-Lapuente, L., Valiente, R. A., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Pérez-Magariño, S., Williams, P., Doco, T. (2018). Polysaccharides, oligosaccharides and nitrogenous compounds change during the ageing of Tempranillo and Verdejo sparkling wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1), 291–303. <https://doi.org/10.1002/j>
- Pérez-Magariño, S., Bueno-Herrera, M., de la Cuesta, P. L., González-Lázaro, M., Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B. (2018). Volatile composition, foam characteristics and sensory properties of Tempranillo red sparkling wines elaborated using different techniques to obtain the base wines. *European Food Research and Technology*, 245(5), 1047-1059. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3209-y>
- Nascimento, A. M. S., Souza, J. F., Lima, M. S. L., & Pereira. G. E. (2018). Volatile Profiles of Sparkling Wines Produced by the Traditional Method from a Semi-Arid Region. *Beverages*, 4 (4), 103. <https://doi.org/10.3390/beverages4040103>
- Natividade, M. M. P., Corrêa, L. C., Souza, S. V. C. de, Pereira, G. E., & Lima, L. C. de O. (2013). Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110, 665-674. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>
- Nicolli, K. P., Welke, J. E., Closs, M., Caramão, E. B., Costa, G., Manfroi, V., & Zini, C. A. (2015). Characterization of the volatile profile of Brazilian moscatel sparkling wines through solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(7), 1411-1430. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150110>
- OIV, International Organization of Vine and Wine. (2019). Statistical Report on World Vitiviniculture. Retrieved from <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/annual-assessment>. Accessed February 17, 2021.
- OIV, International Organization of Vine and Wine. (2021a). Compendium of international methods of wine and must analysis. Retrieved from <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol>. Accessed February 17, 2021.

OIV, International Organization of Vine and Wine. (2021b). International Oenological Codex. Retrieved from <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/oenological-products/international-oenological-codex>. Accessed February 17, 2021.

Olejar, K. J., Fedrizzi, B., & Kilmartin, P. A. (2015). Antioxidant activity and phenolic profiles of Sauvignon Blanc wines made by various maceration techniques. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1), 57-68. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12119>

Ough, C.S. & Amerine, M. A. (1988) Methods Analysis of Musts and Wines (2nd ed.).

Pang, Z., Chong, J., Zhou, G., Morais D., Chang, L., Barrette, M., Gauthier, C., Jacques, PE., Li, S., and Xia, J. (2021) MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic Acids Research*, 49, 388-396 . <https://doi.org/10.1093/nar/gkab382>

Pereira, G. E., Zanus, M. C., de Mello, L. M. R., Lima, M. S. & Peregrino, I. (2020). Panorama da produção e mercado nacional de vinhos espumantes. *Informe agropecuário*, 41(310), 7-18.

Pérez-Magariño, S., Bueno-Herrera, M., López de la Cuesta, P., González-Lázaro, M., Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., & Ayestarán, B. (2018). Volatile composition, foam characteristics and sensory properties of Tempranillo red sparkling wines elaborated using different techniques to obtain the base wines. *European Food Research and Technology*, 245(5), 1047-1059. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3209-y>

Pozo-Bayón, M. Á., Hernández, M. T., Mantín-Álvarez, P. J. & Polo, M. C. (2003). Study of Low Molecular Weight Phenolic Compounds during the Aging of Sparkling Wines Manufactured with Red and White Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 2089-2095.

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(6-7), 289-299. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.03.011>

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaund, A. (2006a). The microbiology of wine and vinifications (2nd ed.). Handbook of Enology, v. 1, <https://doi.org/10.1002/0470010363>

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006b). The Chemistry of Wine (2nd ed.). Handbook of Enology, v. 2. <https://doi.org/10.1002/0470010398>

Roig, R., Cascón, E., Arola, L., Bladé, C., & Salvadó, M. J. (2002). Procyanidins protect Fao cells against hydrogen peroxide-induced oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1572, 25-30.

Ruiz-Moreno, M. J., Muñoz-Redondo, J. M., Cuevas, F. J., Marrufo-Curtido, A., León, J. M., Ramírez, P., & Moreno-Rojas, J. M. (2017). The influence of pre-fermentative maceration and ageing factors on ester profile and marker determination of Pedro Ximenez sparkling wines. *Food Chemistry*, 230, 697-704. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.048>.

- Salinas, M. R., Garijo, J., Pardo, F., Zalacain, A., & Alonso, G. L. (2005). Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(9), 1527-1536. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2133>
- Sartor, S., Burin, V. M., Ferreira-Lima, N. E., Caliari, V., & Bordignon-Luiz, M. T. (2019a). Polyphenolic Profiling, Browning, and Glutathione Content of Sparkling Wines Produced with Nontraditional Grape Varieties: Indicator of Quality During the Biological Aging. *Journal of Food Science*, 84(12), 3546-3554. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14849>
- Sartor, S., Toaldo, I. M., Panceri, C. P., Caliari, V., Luna, A. S., de Gois, J. S., & Bordignon-Luiz, M. T. (2019b). Changes in organic acids, polyphenolic and elemental composition of rosé sparkling wines treated with mannoproteins during over-lees aging. *Food Research International*, 124, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.012>
- Siebert, T. E., Barker, A., Pearson, W., Barter, S. R., De Barros Lopes, M. A., Darriet, P., Herderich, M. J., & Francis, I. L. (2018). Volatile Compounds Related to "Stone Fruit" Aroma Attributes in Viognier and Chardonnay Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(11), 2838-2850. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05343>
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybodic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Stefenon, C. A., Bonesi, C. D. M., Marzarotto, V., Barnabé, D., Spinelli, F. R., Webber, V., & Vanderlinde, R. (2014). Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees. *Food Chemistry*, 145, 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.070>
- Terrier, N., Poncet-Legrand, C. & Cheynier, V. (2009). Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. In: Moreno-Arribas, M. V. & Carmen Polo, M. *Wine Chemistry and Biochemistry*, 464-508.

5 CAPÍTULO III

Effect of the cold pre-fermentative maceration and aging on lees times on the phenolic compound profile, antioxidant capacity and color of red sparkling wines

Artigo submetido em 03/03/2022

Revista: Journal of Food Science and Technology

5.1 ABSTRACT

This was the first study evaluating the impact of cold pre-fermentative maceration using refrigeration on the nutraceutical quality and color of red sparkling wines elaborated with the cultivar Syrah, and the evolution of these variables with different autolysis times. The sparkling wines were elaborated using the traditional method with different maceration times (NM, 24 and 72 hours) and aging on lees (3 and 18 months of autolysis). In the sequence, it was conducted the characterization of the phenolic compound profile by HPLC-DAD ($n = 21$), the antioxidant capacity (ABTS, DPPH, and FRAP assays), and the color (CIELab and CIEL* C^* h systems). The total phenolic compound content and antioxidant capacity were higher with longer maceration (M72) and autolysis (18 months) times. *Cis*-resveratrol, kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3- β -D-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, and petunidin-3-*O*-glucoside showed a good correlation ($r > 0.8$; $P < 0.05$) with the antioxidant capacity and were found in higher concentrations in the sparkling wines elaborated with maceration. In addition, maceration promoted a more intense red (a^*) and saturated (C^*) color. Thus, the results indicated that cold pre-fermentative maceration and autolysis positively influenced the bioactive potential and the color of the red sparkling wines. This practice should be better explored through the elaboration of this product.

Keywords: Syrah (Shiraz), Traditional method (*Champenoise*), Autolysis, Bioactive compounds, *in vitro* antioxidant activity.

5.2 INTRODUCTION

There has been a search for diversification in the production of sparkling wines in recent years, exploring new varieties and styles (Sartor et al., 2019; González-Lázaro et al., 2019; Eder & Rosa 2021). Although most are white or rosé, the elaboration of red sparkling wines could be a new alternative for production and marketing (González-Lázaro et al., 2019). The increasing interest in the production of red sparkling wines has encouraged research concerning

their chemical composition and the contributions of these characteristics to increase their quality and complexity (Rizzolo et al., 2018; González-Lázaro et al., 2019; Pérez-Magariño et al., 2019). The red grape of the cultivar Syrah is already widely used to elaborate still red wines (Garrido-Bañuelos et al., 2021; Alves et al., 2022) and for sparkling wines in countries such as Australia and Brazil (Eder & Rosa 2021). However, there is still no research aimed at understanding the behavior of this variety in the elaboration of red sparkling wines. The use of red grapes to elaborate this product should aim at adequate technological and phenolic maturity, such that the base wine reaches a moderate alcoholic content (10.0 to 11.5°GL) and low pH value (below 3.5), with the acidity and phenolic compound content well-balanced to guarantee the sensory characteristics desired by the winemaker (González-Lázaro et al., 2020).

Thus, the use of different enological techniques has been put into practice to obtain high quality red sparkling wines (Rizzolo et al., 2018; González-Lázaro et al., 2019; Pérez-Magariño et al., 2019). In the elaboration of still red wines, different non-traditional pre-fermentative enological techniques have been studied to understand their effects on the color and phenolic compound composition of the beverage (Heredia et al., 2010; Cejudo-Bastante et al., 2014). One example is cold pre-fermentative maceration, which could be adopted to extract water soluble compounds in the absence of alcohol at low temperatures, mainly phenolic and volatile compounds (Ribéreau-Gayon et al., 2006). This technique has been used in the elaboration of sparkling wines to obtain white, rosé, or red products depending on the time and temperature employed. In addition, different protocols can be adopted, influencing the contents of the compounds extracted and providing chemical and sensory changes to the beverage (Ruiz-Moreno et al., 2017; Pérez-Magariño et al., 2019; González-Lázaro et al., 2019). Of these protocols, cold pre-fermentative maceration with the use of dry ice provided good results for the elaboration of red sparkling wines (González-Lázaro et al., 2019). Refrigeration is another option for cold pre-fermentative maceration, and it was compared with the use of dry ice to elaborate Syrah still red wines (Heredia et al., 2010). The authors observed a greater potential for refrigeration due to better extraction of phenolic compounds and greater color stability. However, the technique of cold pre-fermentative maceration with the use of refrigeration has still not been exploited for the elaboration of red sparkling wines.

On the other hand, in the elaboration of sparkling wines by the traditional method, the time of aging on lees (autolysis) is also a determinant factor for the composition and complexity of the product. Thus, giving rise to more aromatic and balanced sparkling wines, with a greater potential for aging and color stability (Gallardo-Chacón et al., 2010) and the duration of this

step and the reactions involved has been the object of various studies (Ruiz-Moreno et al., 2017; Sartor et al., 2019; Sartor et al., 2021). Furthermore, the interaction between the cell surface of the yeast lees during autolysis has been investigated, to understand its antioxidant action, since this could protect the sparkling wine against oxidation by consuming small amounts of oxygen during autolysis (Gallardo-Chacón et al., 2010). However, it was shown that the antioxidant capacity of the yeast lees decreased with an autolysis time greater than 36 months (Pons-Mercadé et al., 2021). Hence, the authors showed that the duration of this step was a determinant factor in the maintenance of the sparkling wine bioactive quality. In addition, recent studies evaluated the phenolic and volatile compositions and color of red sparkling wines after nine months of autolysis (Pérez-Magariño et al., 2019; González-Lázaro et al., 2019), nonetheless the autolysis time was not a focus of these studies. To the present moment, only red sparkling wines elaborated with four and nine months of autolysis have been registered (Eder & Rosa, 2021), so it is important to explore a longer time for this step to provide greater complexity and stability to the product.

The present study aimed to provide, for the first time, information concerning the impact of the time of cold pre-fermentative maceration with the use of refrigeration, on the extraction of phenolic compounds, antioxidant capacity and color of red sparkling wines elaborated with the cultivar Syrah, and also evaluate the evolution of these variables during different autolysis times.

5.3 MATERIAL AND METHODS

5.3.1 Raw material

Four hundred and fifty kilos of Syrah grapes cultivated in the experimental area of Embrapa Semiárido ($09^{\circ} 09' S$, $40^{\circ} 22' W$, 365.5 m, Petrolina- PE, Brazil), were harvested in September 2017, with a soluble solids content 20.1 °Brix, pH 3.1 and total acidity of 8.6 g L^{-1} (expressed as tartaric acid) and used to elaborate red sparkling wines. The vines were cultivated on a vertical shoot positioning trellis system, grafted onto Paulsen 1103 rootstock, and drip irrigated.

5.3.2 Winemaking process

The base wines were elaborated in triplicate. The Syrah grapes were homogenized and divided into three batches, each with about 150 kg, one for each of the following treatments:

Non-macerated (NM), with cold pre-fermentative maceration for 24 hours (M24), and with cold pre-fermentative maceration for 72 hours (M72). The NM batch grapes were destemmed, crushed, pressed, and clarified (8 °C for 48 hours). The M24 and M72 grapes were destemmed and crushed and then submitted to cold pre-fermentative maceration with refrigeration in a cold chamber (8 ± 2 °C) in three 50kg capacity stainless steel tanks and then pressed and clarified (8 °C for 48 hours). During destemming, 120 mg Kg⁻¹ of potassium metabisulfite (Amazon Group Ltda., Brazil) and 0.02 mg L⁻¹ of the pectolytic enzyme Everzym Blanc (Ever Brasil, Brazil) were added. After pressing, the musts of each treatment were transferred to three 20 L glass jars closed with glass airlocks. After clarification, alcoholic fermentation was carried out at 16 ± 2 °C using the commercial yeast Maurivim PDM (Mauri Yeast Pty Ltd., Australia) *Saccharomyces cerevisiae* (0.20 g L⁻¹) and Gesferm (Amazon Group Ltd., Brazil) as the nutrient (0.20 g L⁻¹). After this step, protein stabilization was carried out using Maxibent plus bentonite (Amazon Group Ltd., Brazil) (0.8 g L⁻¹), and the tartaric acid stabilized at -4 °C for 10 days.

For the second alcoholic fermentation, a tirage liqueur containing sucrose (24 g L⁻¹), Maurivim PDM yeast (0.25 g L⁻¹), Gesferm nutrient (0.25 g L⁻¹), and bentonite (0.10 g L⁻¹) was added to the base wine. The wines corresponding to each treatment were bottled in 750 mL bottles, each closed with a bidule and corona cap, giving 80 bottles per treatment, and maintained at 15 ± 2 °C. This step was monitored by measuring the pressure with an aphrometer and the residual sugar content (OIV, 2021). After concluding the second fermentation, the sparkling wines were maintained at 16 ± 2 °C for 3 and 18 months for autolysis, and at the end of each of these times, they were riddled, disgorged, and corked.

5.3.3 Colorimetric parameters

The colorimetric parameters were determined using a portable colorimeter (Delta Color, Brazil) in the transmittance mode with illuminant D65, according to the CIELab and CIEL*C*h systems (CIE 2004), obtaining the values for luminosity (L*), red/green component (a*), blue/yellow component (b*), saturation (C*) and the hue angle (h).

5.3.4 Phenolic compounds

The total phenolic content (TPC) was determined according to Singleton & Rossi (1965) using a spectrophotometer. This method is based on the oxidation of these compounds in the presence of a sodium carbonate solution and the Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, USA). The compounds were quantified by constructing a calibration curve with gallic acid

(Vetec, Brazil), reading the absorbance at 760 nm in a ThermoFisher Scientific spectrophotometer (Multiskan Go, USA), and the results expressed in mg L⁻¹ gallic acid (GAE).

Using a Waters Alliance e2695 model liquid chromatograph (Milford, USA) and Diode Array detector – DAD (280, 320, 360, 520 nm), 21 phenolic compounds were quantified in the samples in a single 60-minute run, as from adaptations of validated methods under the same analytical conditions by Natividade et al. (2013) and Da Costa et al. (2020). The validation parameters for the identification and quantification of the phenolic compounds can be found in the supplementary material (Table 1S). The column and pre-column used were Gemini-NX C18 (150mm x 4.60mm x 3µm) and Gemini-NX C18 (4.0mm x 3.0mm) (Phenomenex, USA), respectively, using gradient elution and a mobile phase of 0.85% ortho-phosphoric acid (Fluka, Switzerland) in ultrapure water (Purelab Option Q Elga System, USA) (Phase A) and HPLC grade acetonitrile (J. T. Baker, USA) (Phase B). The oven temperature was maintained at 40 °C and the flow rate at 0.5 mL min⁻¹. After filtering through a 13 mm diameter nylon membrane with a pore size of 0.45µm (Phenomenex, USA), 5 and 10 µL of each wine sample were injected into the equipment.

The ferulic acid standard was obtained from ChemService (West Chester, USA). The standards of caffeic, *trans*-caftaric, p-cumaric, chlorogenic, and gallic acids, and piceatannol were acquired from Sigma-Aldrich (USA) and *cis*-resveratrol was acquired from Cayman Chemical (Michigan, USA). (-)-Epicatechin gallate, (-)-epigalatocatechin gallate, kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3-β-D-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, miricetin, rutin, malvidin-3-*O*-glucoside, peonidin-3-*O*-glucoside, delphinidin-3-*O*-glucoside, cyanidin-3-*O*-glucoside, pelargonidin-3-*O*-glucoside and o *trans*-resveratrol were acquired from Extrasynthese (Genay, France).

5.3.5 Antioxidant capacity

The *in vitro* antioxidant capacity of the wines was determined using three spectrophotometric assays: DPPH radical capture (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Brand-Williams et al., 1995), FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power (Benzie & Strain 1996), and the ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical capture method according to Re et al. (1999).

For the DPPH radical capture method (Sigma-Aldrich, USA), 0.1 mL of sample was mixed with 3.9 mL DPPH (0.06 mM) in a methanolic solution and incubated in the dark for 60

minutes at 23 ± 2 °C, the absorbance being read at 515 nm. The FRAP reagent consists of acetate buffer (300 mM, pH 3.6), TPTZ (Sigma–Aldrich, USA) (10 mM in 40 mM HCl) and FeCl₃ 6H₂O (20 mM), adding (2.85 mL) to 0.15 mL of the sample. The mixture was incubated for 30 minutes in the dark at 23 ± 2 °C, and the absorbance was read at 593 nm. For the ABTS assay, 5 mL of a 7 mM stock solution of ABTS (Sigma–Aldrich, USA) were mixed with 176 µL of 70 mM potassium persulfate, and the mixture was incubated in the dark for 16 hours. Readings were taken at 743 nm after 0 and 6 minutes for the control and after 6 minutes of incubation in the dark for the samples. The analytical standard used for the three methods to construct the calibration curves was Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (Sigma-Aldrich, USA). The results were expressed in milli mole equivalents of Trolox per liter of wine (mmol TEAC L⁻¹). The absorbances were read in a Biospectro SP-220 spectrophotometer (Lab-lider, Brazil).

5.3.6 Statistical analysis

The base wines were analyzed in triplicate by repetition of the vinification ($n = 3$) of each maceration treatment (NM, M24, and M72). For the analysis of the sparkling wines with the two autolysis times (3 and 18 months), three bottles of each replicate ($n = 3$) were taken at random for each maceration treatment (NM, M24, and M72), which were also analyzed in triplicate. The results were first submitted to the Shapiro-Wilk normality test ($p \leq 0.05$), and those not presenting normality were transformed ($\sqrt{}$: gallic and chlorogenic acids and delphinidin-3-O-glucoside; Log(x+1): piceatannol, trans-resveratrol, myricetin, and petunidin-3-O-glucoside). After the transformations, the data were submitted to the analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($p \leq 0.05$) using the R Core Team (2021). The Principal Components Analysis (PCA) was used for exploratory purposes to analyze the data, and the Pearson correlation coefficients (r values) were calculated to correlate the phenolic compound composition with the antioxidant capacity at $p \leq 0.05$ for the sparkling wines using the XLStat software (Addinsoft Inc., Anglesey, UK, 2015).

5.4 RESULTS AND DISCUSSION

5.4.1 Phenolic compounds and antioxidant capacity

Table 1 shows the phenolic compounds identified and quantified by HPLC-DAD, the total phenolic compound content, and the antioxidant capacity of the Syrah red sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration and autolysis times.

Table 1 Phenolic profile and antioxidant capacity of Syrah red sparkling wines elaborated with different times of cold pre-fermentative maceration and its evolution during aging on lees.

Parameters	Maceration time ^b	Base wine	Aging time on lees ^a	
			3 months	18 months
Phenolic compounds^c				
Gallic acid	NM	0.69 ± 0.03	0.76 ± 0.01 Bb	3.78 ± 0.03 Ab
	M24	1.12 ± 0.05	1.52 ± 0.02 Ba	3.99 ± 0.10 Ab
	M72	1.19 ± 0.11	1.53 ± 0.02 Ba	4.26 ± 0.01 Aa
<i>trans</i> -caftaric acid	NM	90.48 ± 3.26	83.93 ± 1.85 Aa	81.66 ± 2.03 Aa
	M24	47.33 ± 0.41	46.78 ± 1.56 Ab	45.42 ± 0.50 Ab
	M72	34.58 ± 1.98	34.79 ± 3.02 Ac	35.69 ± 3.84 Ac
Caffeic acid	NM	6.84 ± 0.19	6.66 ± 0.14 Aa	6.31 ± 0.16 Aa
	M24	5.27 ± 0.03	5.10 ± 0.23 Ab	5.42 ± 0.15 Ab
	M72	4.05 ± 0.30	4.11 ± 0.28 Bc	5.12 ± 0.61 Ab
Chlorogenic acid	NM	0.58 ± 0.06	0.81 ± 0.04 Bb	2.07 ± 0.08 Ab
	M24	0.85 ± 0.02	1.18 ± 0.02 Ba	2.90 ± 0.12 Aa
	M72	0.91 ± 0.07	1.11 ± 0.06 Ba	2.80 ± 0.44 Aa
<i>p</i> -Coumaric acid	NM	0.28 ± 0.02	0.32 ± 0.01 Bb	0.53 ± 0.04 Ab
	M24	0.30 ± 0.00	0.41 ± 0.03 Ba	0.70 ± 0.02 Aa
	M72	0.29 ± 0.01	0.36 ± 0.00 Bab	0.57 ± 0.07 Ab
Ferulic acid	NM	0.31 ± 0.01	0.40 ± 0.00 Ab	0.31 ± 0.01 Ab
	M24	0.32 ± 0.00	0.70 ± 0.02 Aa	0.47 ± 0.01 Ba
	M72	0.32 ± 0.02	0.65 ± 0.04 Aa	0.45 ± 0.04 Ba
(-)-Epicatechin gallate	NM	1.63 ± 0.03	0.66 ± 0.02 Ab	0.73 ± 0.03 Ac
	M24	1.43 ± 0.06	1.18 ± 0.08 Ba	1.32 ± 0.01 Aa
	M72	1.15 ± 0.06	0.79 ± 0.04 Bb	1.17 ± 0.12 Ab
(-)-Epigalatocatechin gallate	NM	1.09 ± 0.04	1.69 ± 0.02 Ac	1.58 ± 0.02 Ab
	M24	1.18 ± 0.02	1.98 ± 0.13 Ab	1.61 ± 0.03 Bb

	M72	1.18 ± 0.02	2.22 ± 0.09 Aa	1.74 ± 0.09 Ba
Kaempferol-3-O-glucoside	NM	0.34 ± 0.01	0.33 ± 0.01 Ac	0.32 ± 0.01 Ac
	M24	0.77 ± 0.03	0.77 ± 0.02 Ab	0.67 ± 0.05 Bb
	M72	0.96 ± 0.06	0.90 ± 0.03 Aa	0.84 ± 0.04 Aa
Quercetin-3-β-D-glucoside	NM	2.10 ± 0.21	1.86 ± 0.23 Ab	1.68 ± 0.11 Ac
	M24	9.46 ± 0.65	9.72 ± 0.54 Aa	8.67 ± 0.91 Ab
	M72	10.68 ± 0.58	10.68 ± 0.61 Aa	10.55 ± 0.87
Aa				
Isorhamnetin-3-O-glucoside	NM	0.64 ± 0.04	0.76 ± 0.05 Ab	0.73 ± 0.05 Ac
	M24	2.63 ± 0.12	3.75 ± 0.16 Aa	3.55 ± 0.31 Ab
	M72	3.16 ± 0.24	4.11 ± 0.19 Aa	4.30 ± 0.40 Aa
Myricetin	NM	0.42 ± 0.00	ND	0.42 ± 0.00 b
	M24	0.53 ± 0.01	0.49 ± 0.00 Aa	0.49 ± 0.01 Aa
	M72	0.54 ± 0.02	0.47 ± 0.00 Aa	0.49 ± 0.02 Aa
Rutin	NM	0.23 ± 0.00	0.35 ± 0.03 Ac	0.29 ± 0.01 Ab
	M24	0.29 ± 0.00	1.08 ± 0.07 Ab	0.60 ± 0.02 Ba
	M72	0.31 ± 0.01	1.20 ± 0.04 Aa	0.61 ± 0.05 Ba
<i>cis</i> -resveratrol	NM	0.13 ± 0.00	0.16 ± 0.01 Ab	0.16 ± 0.02 Aa
	M24	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.01 Aa	0.18 ± 0.02 Aa
	M72	0.17 ± 0.00	0.19 ± 0.01 Aa	0.18 ± 0.02 Aa
Piceatannol	NM	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.00 b	ND
	M24	0.39 ± 0.01	0.50 ± 0.01 a	ND
	M72	0.39 ± 0.00	0.52 ± 0.02 a	ND
<i>trans</i> -resveratrol	NM	0.27 ± 0.00	0.27 ± 0.00 a	ND
	M24	0.30 ± 0.01	0.27 ± 0.00 a	ND
	M72	0.29 ± 0.00	0.26 ± 0.00 a	ND
Malvidin-3-O-glucoside	NM	9.76 ± 0.59	4.19 ± 0.16 Ac	0.92 ± 0.03 Bb
	M24	48.45 ± 1.19	26.10 ± 0.69 Aa	7.19 ± 0.36 Ba
	M72	49.97 ± 3.80	25.00 ± 0.55 Ab	6.95 ± 0.86 Ba
Peonidin-3-O-glucoside	NM	0.96 ± 0.08	0.34 ± 0.01 c	ND
	M24	2.46 ± 0.12	0.98 ± 0.05 Aa	0.27 ± 0.01 Ba
	M72	2.37 ± 0.13	0.87 ± 0.04 Ab	0.23 ± 0.02 Ba
	NM	1.36 ± 0.10	0.68 ± 0.02 Ac	0.27 ± 0.01 Bb

Pelargonidin-3- <i>O</i> -glucoside	M24	5.46 ± 0.21	2.78 ± 0.11 Aa	0.83 ± 0.04 Ba
	M72	5.65 ± 0.45	2.62 ± 0.08 Ab	0.80 ± 0.09 Ba
Delphinidin-3- <i>O</i> -glucoside	NM	0.80 ± 0.05	0.42 ± 0.01 Ac	0.22 ± 0.00 Bb
	M24	2.50 ± 0.11	1.17 ± 0.07 Aa	0.45 ± 0.02 Ba
	M72	2.48 ± 0.16	1.06 ± 0.05 Ab	0.43 ± 0.04 Ba
Petunidin-3- <i>O</i> -glucoside	NM	0.27 ± 0.01	0.30 ± 0.00 Ab	0.26 ± 0.00 Ac
	M24	0.52 ± 0.02	0.94 ± 0.03 Ba	1.08 ± 0.03 Ab
	M72	0.53 ± 0.03	1.02 ± 0.01 Ba	1.20 ± 0.15 Aa
TPC ^d	NM	343.16 ± 4.32	272.44 ± 6.39 Bc	301.69 ± 5.07 Ab
	M24	464.76 ± 13.91	396.70 ± 11.15 Bb	436.79 ± 13.10 Aa
	M72	489.37 ± 28.82	426.02 ± 13.02 Ba	453.54 ± 9.46 Aa
	NM	1.70 ± 0.05	1.27 ± 0.06 Bc	1.41 ± 0.02 Ac
	M24	2.64 ± 0.06	2.28 ± 0.10 Bb	2.43 ± 0.07 Ab
ABTS ^e	M72	2.84 ± 0.07	2.47 ± 0.02 Ba	2.67 ± 0.09 Aa
	NM	1.50 ± 0.05	1.32 ± 0.03 Bc	1.51 ± 0.02 Ac
	M24	1.93 ± 0.08	1.76 ± 0.03 Bb	1.95 ± 0.06 Ab
DPPH ^f	M72	2.04 ± 0.03	1.91 ± 0.03 Ba	2.11 ± 0.05 Aa
	NM	2.02 ± 0.19	1.36 ± 0.02 Bc	1.57 ± 0.02 Ab
	M24	2.96 ± 0.08	2.18 ± 0.06 Bb	2.53 ± 0.05 Aa
FRAP ^g	M72	3.26 ± 0.13	2.31 ± 0.05 Ba	2.56 ± 0.05 Aa

^aResults expressed as mean values ± standard deviation. Values followed by different letters indicate significant difference between the samples according to the Tukey's test ($p \leq 0.05$). Capital letters indicate differences and similarities between the sparkling wines with different aging time on less (3 and 18 months of autolysis). Small letters indicate differences and similarities between the sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration treatments tested (NM, 24 and 72 hours). ND: Not detected. ^bNM: Without maceration, M24: pre-fermentative maceration for 24 hours, M72: pre-fermentative maceration for 72 hours. ^c Phenolic compounds quantified by HPLC-DAD in mg L⁻¹. ^dTotal phenolic content measured by Folin-Ciocalteu reducing capacity expressed in mg L⁻¹ of gallic acid.

^{e,f,g}ABTS, DPPH and FRAP assays: Antioxidant capacity expressed as Trolox equivalents (mmol TEAC L⁻¹).

A total of six phenolic acids were quantified in the red sparkling wines. The use of cold pre-fermentative maceration increased the gallic, chlorogenic, and ferulic acid concentrations, and, to the contrary, decreased the *trans*-caftaric and caffeic acid contents. Furthermore, after 18 months of autolysis, the red sparkling wines showed increases in the gallic, chlorogenic, and *p*-coumaric acid contents and a decrease in the ferulic acid concentration compared with the initial period (3 months). The increase or decrease in some phenolic acids could be associated with the hydrolysis of tartaric esters and their corresponding hydroxycinnamic acids during the cold pre-fermentative maceration or even during the autolysis period (Sartor et al., 2019).

The gallic acid concentration in the sparkling wines after 3 months of autolysis varied from 0.76 mg L⁻¹ for NM to 1.53 mg L⁻¹ in M72, whereas after 18 months of autolysis, it ranged from 3.78 mg L⁻¹ in NM to 4.26 mg L⁻¹ in the sparkling wine M72. These results are consistent with studies that showed an increase in concentration of the hydroxybenzoic acids, principally gallic acid in red Syrah wines elaborated with cold pre-fermentative maceration (Cejudo-Bastante et al., 2014) and during the autolysis of sparkling wines made from other cultivars (Sartor et al., 2019), probably due to the hydrolysis of tannins (Garrido & Borges, 2013). Thus, gallic acid could be a possible quality marker for sparkling wines aged on lees.

Caftaric acid is the hydroxycinnamic acid found in largest amounts in grapes and wines (Garrido & Borges, 2013) and was the most abundant phenolic acid found in the present study. As a consequence of cold pre-fermentative maceration, its concentration varied from 83.93 mg L⁻¹ in the sparkling wine NM to 34.79 mg L⁻¹ in M72, after 3 months of autolysis. The fall in this concentration could be related to a greater oxidation rate in these wines since *trans*-caftaric acid is a substrate for polyphenoloxidase, the main oxidative enzyme present in the grapes (Sartor et al., 2019). This acid is one of the phenolic compounds responsible for the astringency of wines (Garrido & Borges, 2013), so the use of cold pre-fermentative maceration could represent an ally to decrease this gustatory sensation in red sparkling wines.

The flavanols (-)-epicatechin gallate and (-)-epigalatocatechin gallate were quantified in all the red sparkling wines, and in both cases, the highest concentrations were found in the sparkling wines M24 and M72. However, after 18 months of autolysis, the sparkling wines showed a different behavior when compared with the initial time (3 months), increasing the (-)

)-epicatechin gallate concentration and decreasing that of (-)-epigalatocatechin gallate in the sparkling wines elaborated with cold pre-fermentative maceration, independent of the time adopted in the technique. These variations could be related to the participation of these phenolic compounds in polymerization, hydrolysis, or even condensation reactions with the anthocyanins and could contribute to stabilizing the color of the wines (Monagas and Bartolomé, 2009).

The flavonols can stabilize colors by taking part in co-pigmentation reactions with the anthocyanins (Garrido & Borges, 2013) and are part of the phenolic compound group recognized for their antioxidant, anti-carcinogenic and anti-inflammatory properties. Thus, the present study showed a strong correlation ($r > 0.9$; $P < 0.05$) between kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3β-D-glucoside, and isorhamnetin-3-*O*-glucoside, with a strong antioxidant capacity for these red sparkling wines in the three assays carried out (ABTS, DPPH, and FRAP). Isorhamnetin-3-*O*-glucoside stood out with a greater correlation in the ABTS assay ($r = 0.951$; $P < 0.01$), FRAP ($r = 0.941$; $P < 0.01$) and DPPH ($r = 0.879$; $P < 0.03$). These flavonols showed greater concentrations in the red sparkling wines elaborated with cold pre-fermentative maceration (M24 and M72). Heredia et al., 2010 found similar results for this group of phenolic compounds, testing the same technique in the elaboration of still red wines from Syrah grapes. On the other hand, in general, the autolysis periods evaluated in this study showed no significant variation in the concentration of flavonols. This behavior was also observed in other studies that evaluated different times of aging of white sparkling wines on yeast lees (Sartor et al., 2019).

Concerning the stilbenes, the use of cold pre-fermentative maceration increased the piceatannol content, although its concentration was the same for both times tested (M24 and M72). After 18 months of autolysis, only *cis*-resveratrol was detected in the red sparkling wines, reaching 0.18 mg L^{-1} in the sparkling wines M24 and M72. The maintenance of the *cis*-resveratrol concentration, even after 18 months of autolysis, shows the bioactive potential of the red sparkling wines, since the *in vivo* antioxidant action associated with the consumption of this stilbene has already been proven (Gris et al., 2011). In addition, the present study showed a significant correlation ($r > 0.8$; $P < 0.05$) between the *cis*-resveratrol and *in vitro* antioxidant capacity of the red sparkling wines for the three assays carried out (ABTS, DPPH, and FRAP), especially ABTS ($r > 0.9$; $P < 0.02$).

The use of cold pre-fermentative maceration favored the extraction of anthocyanins, and of those quantified, malvidin-3-*O*-glucoside was the most abundant, as reported in another study concerning red sparkling wines (González-Lázaro et al., 2019). However, with the exception of petunidin-3-*O*-glucoside, autolysis decreased the concentration of the anthocyanins in the red sparkling wines, independent of the maceration time used. This decrease could be related to adsorption of the pigments by the yeast cell wall or even by possible hydrolysis and condensation reactions with other phenolic compounds, which could give rise to anthocyanin-derived pigments during the aging period (Monagas & Bartolomé 2009). The highest malvidin-3-*O*-glucoside concentration was found in sample M24 after 3 months of autolysis (26.10 mg L^{-1}), and even after 18 months of autolysis, the application of cold pre-fermentative maceration (M24 and M72) caused a six fold increase in the concentration of this anthocyanin when compared to the control (NM). On the other hand, petunidin-3-*O*-glucoside showed its highest value after 18 months of autolysis in the red sparkling wines produced using cold pre-fermentative maceration. Heredia et al., 2010 observed the formation of co-pigments derived from petunidin-3-*O*-glucoside in still red Syrah wines elaborated with cold pre-fermentative maceration, which could explain the conservation of this anthocyanin after aging on the lees. In addition, petunidin-3-*O*-glucoside showed good correlation with the antioxidant capacity of the red sparkling wines ($r > 0.92$; $P < 0.01$). Maintaining the anthocyanin content is important to conserve the antioxidant capacity of the sparkling wines, considering that this group of phenolic compounds shows great bioactive activity (Monagas & Bartolomé, 2009). Thus, when autolysis is adopted in the elaboration of sparkling wines, it can be associated with enological practices such as cold fermentative maceration to decrease the impact of the fall in the anthocyanin content during this step.

According to Table 1, the red sparkling wines elaborated with the longest maceration (M72) and autolysis (18 months) times stood out for their TPC. In the sparkling wines with 3 months of autolysis, the concentrations varied from 272.44 mg L^{-1} for NM to 426.02 mg L^{-1} for M72, reaching 453.54 mg L^{-1} in M72 after 18 months of autolysis. In a study with sparkling white wines produced using Syrah grapes elaborated without maceration, the TPC was 134.79 mg L^{-1} (Nascimento et al., 2018). On the other hand, in a study evaluating Spanish red sparkling wines elaborated with Tempranillo grapes with cold pre-fermentative maceration using dry ice and nine months of autolysis, the TPC arrived at 1169 mg L^{-1} (Pérez-Magariño et al., 2019). Ruiz-Moreno et al. (2017) observed a greater TPC in sparkling wines elaborated with cold pre-fermentative maceration; in contrast with the present results, there was no influence of autolysis

time on this variable in sparkling wines with up to 9 months of autolysis. Sartor et al. (2019) reported smaller concentrations in sparkling wines with 15 months of autolysis. On the other hand, Gnoinski et al. (2021) found increasing TPC values in Australian sparkling wines with increasing autolysis times. The different reports in these studies could be explained by the cultivars studied, the cultivation regions, and, above all, by the diverse enological techniques applied to obtain the base wine.

The use of cold pre-fermentative maceration and a longer autolysis time increased the antioxidant capacity of the Syrah red sparkling wines according to the three assays evaluated: ABTS, DPPH, and FRAP (Table 1).

The antioxidant capacity values measured by FRAP varied from 1.27 mmol TEAC L⁻¹ for NM to 2.47 mmol TEAC L⁻¹ for M72 in the sparkling wines with 3 months of autolysis, reaching 1.41 mmol TEAC L⁻¹ and 2.67 mmol TEAC L⁻¹ (NM and M72, respectively) when compared with the final time (18 months). This behavior was probably due to the capacity of the yeast lees to absorb and liberate some phenolic compounds during the autolysis period (Gallardo-Chacón et al., 2010) and because, in some cases, the yeast lees only show a fall in their oxygen-consumption capacity after three years of autolysis (Pons-Mercadé et al., 2021). In addition, the antioxidant capacity measured by ABTS and DPPH in the M72 Syrah red sparkling wines with 18 months of autolysis (2.67 and 2.11 mmol TEAC L⁻¹, respectively) represented values three times greater than the Syrah white sparkling wines elaborated without the use of cold pre-fermentative maceration and without aging on the lees (Nascimento et al., 2018). Knowing that the characteristics of the base wine influence the antioxidant capacity of the sparkling wines after autolysis (Gallardo-Chacón et al., 2010), and from the results obtained in the present study, one can infer that the use of cold pre-fermentative maceration increased the antioxidant capacity of the Syrah red sparkling wines aged on lees, possibly because this practice increased the concentrations of kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3- β -D-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside and petunidin-3-*O*-glucoside.

5.4.2 Principal components analysis

The principal components analysis was carried out to explain the influence of the times of cold pre-fermentative maceration and of autolysis on the phenolic compound composition and antioxidant capacity of the red sparkling wines (Figure 1). The PC1 (57.56%) was responsible for separating the non-macerated sparkling wines (NM) for both autolysis times

applied from the other samples. The NM sparkling wines were found in the negative part of PC1 and could be associated with greater concentrations of *trans*-caftaric and caffeic acid. The sparkling wines elaborated with cold pre-fermentative maceration (M24 and M72) were found in the positive part of the first component, showing that this practice had a greater influence on the phenolic compounds composition and antioxidant capacity of the red sparkling wines than the autolysis time. TPC, kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3β-D-glucoside and isorhamnetin-3-*O*-glucoside were the main components responsible for this separation, converging with the results of Table 1, which shows that these flavonols are present in greater concentrations in the sparkling wines elaborated with the use of cold pre-fermentative maceration. Figure 1 also shows that the vectors of these flavonols were the closest to those representing the antioxidant capacity according to the DPPH, ABTS, and FRAP assays, corroborating with the correlation between them, as cited before. In addition, the PC2 (33.70%) separated the sparkling wines with different autolysis times. In the positive part of this component, the sparkling wines with 18 months of autolysis were associated with higher concentrations of gallic, chlorogenic, and p-coumaric acids, whose vectors were closest to these samples. Hence, these phenolic acids could be possible quality markers of autolysis time in red sparkling wines.

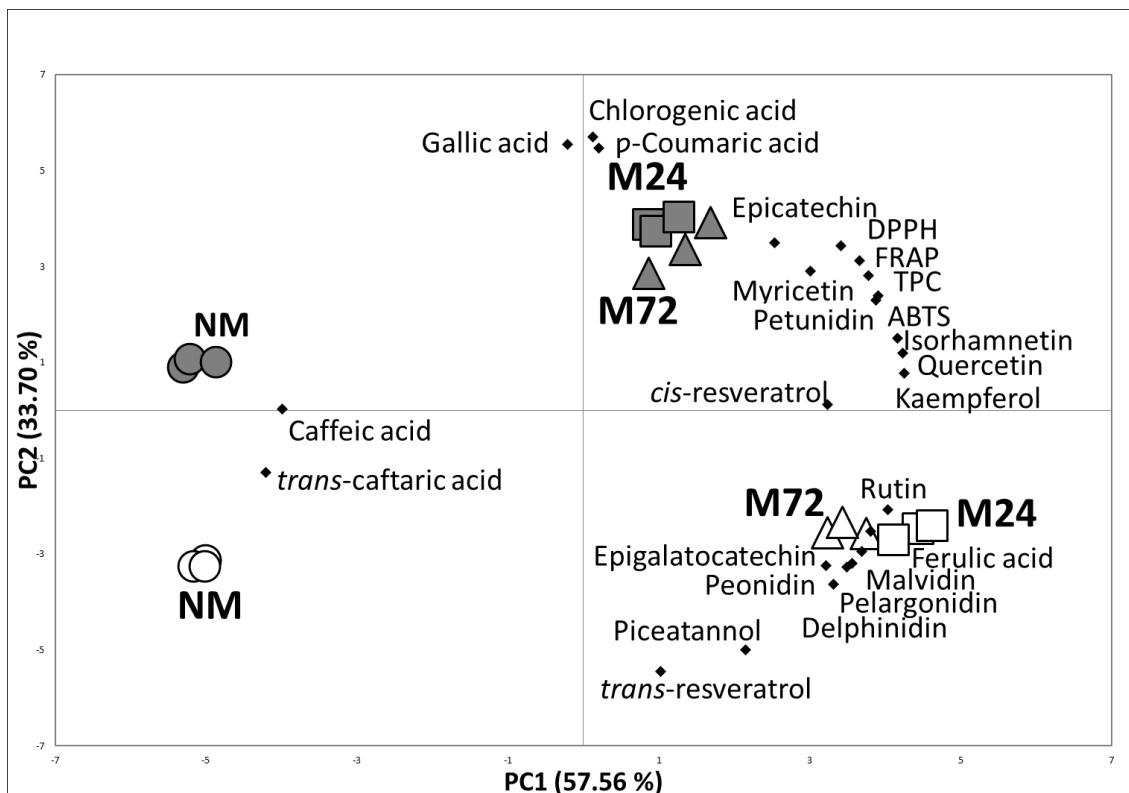


Fig 1 Principal Component Analysis (PCA) showing the configuration of Syrah red sparkling wines elaborated with different pre-fermentative cold maceration times (NM, 24 and 72 hours) and its evolution during aging on lees (3 and 18 months of autolysis) in function of antioxidant capacity, total phenolic content (measured by the spectrophotometric method) and phenolic compounds quantified by HPLC-DAD ($n = 21$ compounds). TPC: total phenolic content, Epicatechin: (-)-epicatechin gallate, Epigalatocatechin: (-)-epigalatocatechin gallate, Kaempferol: kaempferol-3-*O*-glucoside, Quercetin: quercetin-3- β -D-glucoside, Isorhamnetin: isorhamnetin-3-*O*-glucoside, Malvidin: malvidin-3-*O*-glucoside, Peonidin: Peonidin-3-*O*-glucoside, Delphinidin: Delphinidin-3-*O*-glucoside, Petunidin: Petunidin-3-*O*-glucoside. NM: Without maceration, M24: pre-fermentative maceration for 24 hours, M72: pre-fermentative maceration for 72 hours. White circles, squares, and triangles = 3 months of autolysis; Dark gray circles, squares, and triangles = 18 months of autolysis.

5.4.3 Colorimetry

The color of the red sparkling wines obtained by applying different cold pre-fermentative maceration times and their evolution during the two autolysis times applied, were evaluated by colorimetry (Figure 2).

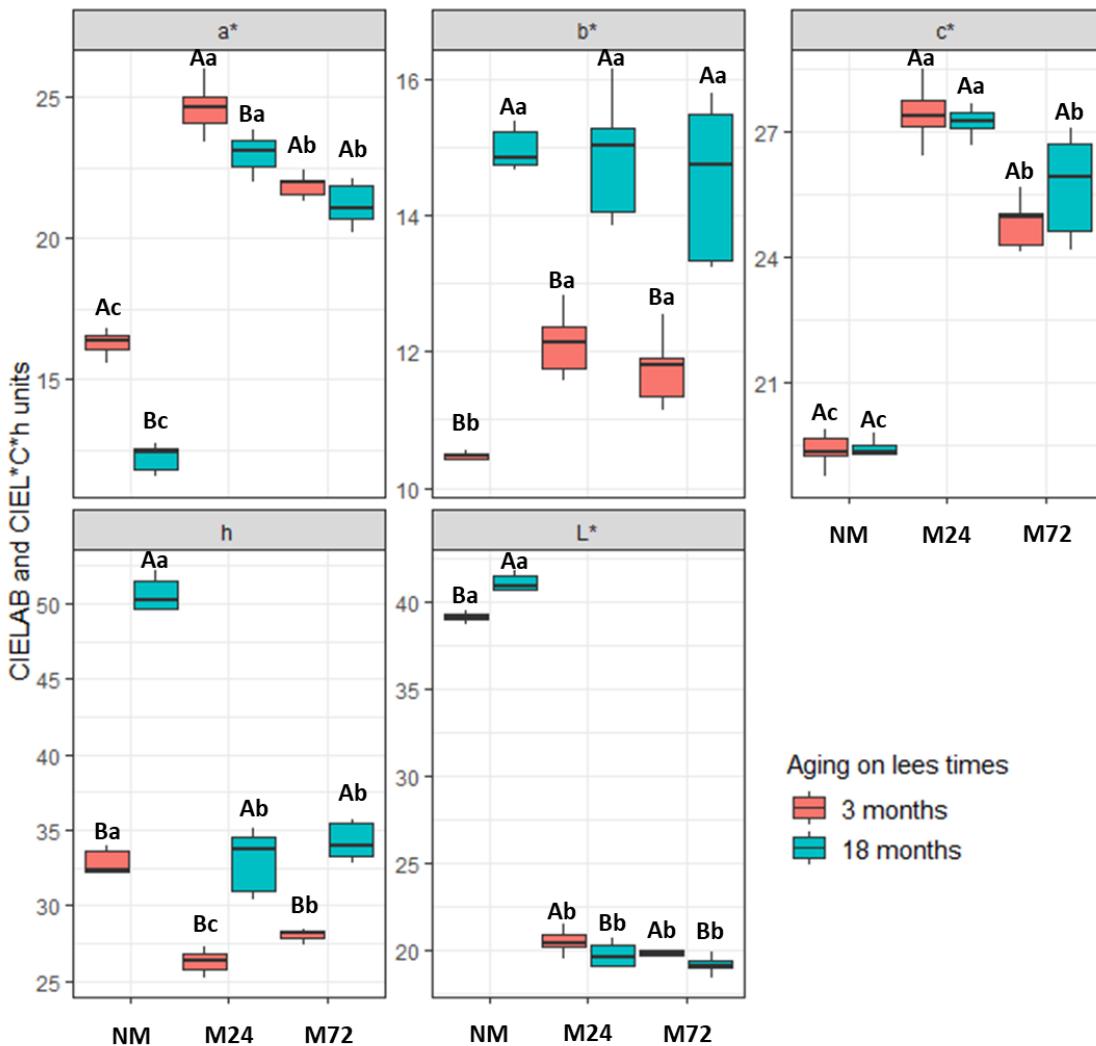


Fig. 2 Colorimetric analysis of Syrah red sparkling wines elaborated with different times of cold pre-fermentative maceration and its evolution during aging on lees. Different letters indicate a significant difference between the samples according to Tukey's test ($p \leq 0.05$). Capital letters indicate differences and similarities between the sparkling wines with different aging times on less (3 and 18 months of autolysis). Small letters indicate differences and similarities between the sparkling wines elaborated with different cold pre-fermentative maceration treatments tested (NM, 24 and 72 hours). NM: Without maceration, M24: pre-fermentative maceration for 24 hours, M72: pre-fermentative maceration for 72 hours.

In general, the red sparkling wines elaborated with cold pre-fermentative maceration (M24 and M72) presented higher values on the coordinate representing the red color (a^*) and color saturation (C^*) and less luminosity (L^*). Probably the nature of the phenolic compounds extracted with the different maceration times can explain this behavior, considering the hydroxycinnamic acids, flavonols, and flavanols. These compounds have an important role in

stabilizing the color of the red wines, since they could take part in co-pigmentation reactions with the anthocyanins (Barrio-Galán et al., 2012; Garrido & Borges, 2013).

Eighteen months of autolysis promoted an increase in the yellow coordinate (b^*) and, consequently, the hue angle (h) became more distant from the red color (0°) and closer to 90° , showing that NM was the treatment that most suffered the impact of the autolysis time. During the 18 months of autolysis, the oxygen present in the bottles, in addition to being consumed by the yeast lees and by free sulfur dioxide, probably promoted reactions between the phenolic compounds, such as the condensation of anthocyanins with flavonols which form orange complexes and could thus cause changes in the color of the red sparkling wines (Garrido & Borges, 2013; Pons-Mercadé et al., 2021).

5.5 CONCLUSIONS

Important changes in the bioactive compounds profile and color of the red sparkling wines were observed with the application of cold pre-fermentative maceration and as a function of the different autolysis times tested. An autolysis time of 18 months and the use of 72 hours of cold pre-fermentative maceration increased the antioxidant capacity of the red sparkling wines elaborated with the Syrah cultivar. In addition, the use of maceration promoted a more intense red color in the red sparkling wines after 18 months of autolysis.

Thus the results of the present study demonstrated that the use of cold pre-fermentative maceration by refrigeration could be an optimum alternative for the elaboration of red sparkling wines by the traditional method. In addition, increasing the autolysis time promotes a better nutraceutical quality to the product.

However, further studies are required to better understand the impact of the cold pre-fermentative maceration and autolysis times on the volatile compound profile, sensory quality, and acceptability by the consumers of red sparkling wines elaborated by the traditional method.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank FAPESB (Bahia State Research Support Foundation) for the scholarship (BOL0723/2019), Embrapa (SEG-23.13.06.017.00.00) and FACEPE (Pernambuco State Research Support Foundation) for their financial support (APQ-0921-5.07/14), and Dr. Janice Izabel Druzian (*in memoriam*) for reviewing the original project and acting as the first Ph.D. advisor for A. P. A. Barros.

5.6 REFERENCES

- Alves CAN, Biasoto ACT, Torres LHPS, Corrêa LC, Leão PCS, Barros APA, Vasconcelos LB (2022) Chemical typicity of tropical tannat red wines from sub-middle São Francisco Valley, Brazil. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05363-x>
- Barrio-Galán RD, Pérez-Magariño S, Ortega-Heras M (2012) Effect of the aging on lees and other alternative techniques on the low molecular weight phenols of Tempranillo red wine aged in oak barrels. *Analytica Chimica Acta*, 732:53–63. <https://doi:10.1016/j.aca.2011.12.040>
- Benzie IFF, Strain JJ (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (0292):70-76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1):25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- CIE (2004) Colorimetry. Publications CIE. Commission Internationale de l'Eclairage central bureau, technical report. Viena (Austria): CIE, 15(2)
- Cejudo-Bastante MJ, Gordillo B, Hernanz D, Escudero-Gilete ML, Maria Lourdes Gonzalez-Miret ML, Heredia FJ (2014) Effect of the time of cold maceration on the evolution of phenolic compounds and colour of Syrah wines elaborated in warm climate. *International Journal of Food Science and Technology*, 49:1886–1892. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12523>
- Da Costa RR, Rodrigues AAM, De Vasconcelos VAF, Costa JPD, De Lima MAC (2020) Trellis systems, rootstocks and season influence on the phenolic composition of ‘Chenin Blanc’ grape. *Scientia Agricola*, 77(3). <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0207>
- Eder MLR, Rosa AL (2021) Non-conventional grape varieties and yeast starters for first and second fermentation in sparkling wine production using the traditional method. *Fermentation*, 7 (321). <https://doi.org/10.3390/fermentation7040321>
- Gallardo-Chacón JJ, Vichi S, Urpí P, López-Tamames E, Buxaderas S (2010) Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie aging. *International Journal of Food Microbiology*, 143:48–53. [10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.027](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.027)
- Garrido J, Borges F (2013) Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International*, 54:1844-1858. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
- Garrido-Bañuelos G, Astrid Buica A, Kuhlman B, Schückel J, Zietsman AJJ, Willats WGT, Moore JP, du Toit WJ (2021) Untangling the impact of red wine maceration times on wine ageing. A multidisciplinary approach focusing on extended maceration in Shiraz wines. *Food Research International*, 150 (Part A):110697. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110697>
- González-Lázaro M, Martínez-Lapuente L, Palacios A, Guadalupe Z, Ayestarán B, Bueno-Herrera M, de la Cuesta PL, Pérez-Magariño S (2019) Effects of different oenological techniques on the elaboration of adequate base wines for red sparkling wine production: phenolic composition, sensory properties and foam parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99:4580-4592. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9697>

González-Lázaro M, Martínez-Lapuente L, Guadalupe Z, Ayestarán B, Bueno-Herrera M, de la Cuesta PL, Pérez-Magariño S (2020) Evaluation of grape ripeness, carbonic maceration and pectolytic enzymes to improve the chemical and sensory quality of red sparkling wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100:2618-2629. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10291>

Gnoinski GB, Close DC, Schmidt SA, Kerslake FL (2021) Towards Accelerated Autolysis? Dynamics of Phenolics, Proteins, Amino Acids and Lipids in Response to Novel Treatments and during Ageing of Sparkling Wine. *Beverages*, 7(50). <https://doi.org/10.3390/beverages7030050>

Gris EF, Mattivi F, Ferreira EA, Vrhovsek U, Filho DW, Pedrosa RC, Bordignon-Luiz MT (2011) Stilbenes and Tyrosol as Target Compounds in the Assessment of Antioxidant and Hypolipidemic Activity of *Vitis vinifera* Red Wines from Southern Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:7954-7961

Heredia FJ, Escudero-Gilete ML, Hernanz D, Gordillo B, Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, González-Miret ML (2010) Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chemistry*, 118:377–383.

Monagas M, Bartolomé B (2009) Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds, in *Wine Chemistry and Biochemistry* by Moreno-Arribas MV, Carmen Polo M, 439-456p.

Nascimento AMS, de Souza JF, Lima MS, Pereira GE (2018) Volatile Profiles of Sparkling Wines Produced by the Traditional Method from a Semi-Arid Region. *Beverages*, 4(103). doi:10.3390/beverages4040103

Natividade MMP, Corrêa LC, Souza SVC de, Pereira GE, Lima LCO (2013) Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110: 665-674. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>

OIV (2021) International Organization of Vine and Wine. Compendium of international methods of wine and must analysis. Retrieved from <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol>. Accessed February 17, 2021

Pérez-Magariño S, Bueno-Herrera M, De la Cuesta PL, González-Lázaro M, Martínez-Lapuente L, Guadalupe Z, Ayestarán B (2018) Volatile composition, foam characteristics and sensory properties of Tempranillo red sparkling wines elaborated using different techniques to obtain the base wines. *European Food Research and Technology*, 245: 1047–1059. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3209-y>

Pons-Mercadé P, Giménez P, Gombau J, Vilomara G, Conde M, Cantos A, Rozès N, Canals J, Zamora F (2021) Oxygen consumption rate of lees during sparkling wine (Cava) aging; influence of the aging time. *Food Chemistry*, 342:28238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128238>

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26(9-10):1231-1237.

Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B, Lonvaund A (2006) Handbook of Enology. The microbiology of wine and vinifications, Vol 1. John Wiley & Sons, New York

Rizzolo RG, Guerra CC, Perissutti GE, Ben RL, Navroski R, Malgarim MB (2018) Physicochemical and sensory characteristics of fine sparkling red wines produced at different maceration lengths in the south of Brazil. Bioscience Journal 34 (1): 37-47

Ruiz-Moreno MJ, Muñoz-Redondo JM, Cuevas FJ, Marrufo-Curtido A, León JM, Ramírez P, Moreno-Rojas JM (2017) The influence of pre-fermentative maceration and ageing factors on ester profile and marker determination of Pedro Ximenez sparkling wines. Food Chemistry, 230:697-704. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.048>

Sartor S, Burin VM, Ferreira-Lima NE, Caliari V and Bordignon-Luiz MT (2019) Polyphenolic Profiling, Browning, and Glutathione Content of Sparkling Wines Produced with Non-traditional Grape Varieties: Indicator of Quality During the Biological Aging. Journal of Food Science, 84(12):3546-3554.

Sartor S, Burin VM, Caliari V and Bordignon-Luiz MT (2021) Profiling of free amino acids in sparkling wines during over-lees aging and evaluation of sensory properties. LWT - Food Science and Technology, 140:110847. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110847>

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybidic-phosphotungstic acid reagent. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.

6 CAPÍTULO IV

Perfil volátil de vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e sua evolução durante o envelhecimento sobre as borras

6.1 RESUMO

Este estudo avaliou a evolução da composição volátil de vinhos espumantes tintos durante envelhecimento sobre borras. Foi avaliado o impacto do tempo da maceração pré-fermentativa a frio com uso de refrigeração na composição volátil por HS-SPME-GC/FID-GC/MS ($n = 66$) e sua evolução em dois tempos de autólise (3 e 18 meses) em vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah elaborados pelo método tradicional. Foram identificados e semi-quantificados setenta e seis compostos voláteis entre aldeídos, terpenos, cetonas, ácidos, álcoois e ésteres, estes três últimos em maior quantidade. A maceração pré-fermentativa a frio e o tempo de envelhecimento sobre as borras afetou a composição volátil dos vinhos espumantes tintos de diferentes formas, promovendo perfis voláteis distintos entre as amostras. O uso da maceração pré-fermentativa a frio promoveu maiores concentrações de ésteres como octanoato de etila, decanoato de etila e hexanoato de etila independente do tempo de autólise dos vinhos espumantes tintos. Além disso, ésteres como acetato de isoamila, acetato de hexila e acetato de fenetila diminuíram suas concentrações após 18 meses de autólise, independente do tempo de maceração pré-fermentativa testado. Além disso, vinte e um compostos se apresentaram com concentrações acima do limiar de odor sendo realizado um agrupamento hierárquico e mapa de calor que mostrou que os vinhos espumantes elaborados com uso da maceração pré-fermentativa a frio e 3 meses de autólise se destacaram entre as demais amostras, mostrando potencial para maior intensidade aromática. Por fim, consideramos que uma avaliação sensorial deve ser realizada para complementar esses estudos do aroma dos vinhos espumantes tintos Syrah, e do impacto das práticas enológicas no perfil volátil desse produto.

6.2 INTRODUÇÃO

Os vinhos espumantes tintos representam hoje uma pequena parcela da produção mundial de espumantes. Da mesma maneira, em muitos países, a exemplo do Brasil, a exploração comercial desse produto ainda é recente, e a comunidade científica vem buscando testar diferentes técnicas enológicas para melhoria de suas características sensoriais, tornando-o cada vez mais atrativo para o consumidor (EDER e ROSA, 2021). Em outros Países, como Austrália, África do Sul e Itália, vinhos tintos espumantes ou frisantes já são produzidos a mais

tempo e apresentam grande aceitação pelo mercado consumidor (PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018). De maneira geral, estes produtos ainda são caracterizados, como bebidas que possuem coloração vermelha pouco intensa e pouca complexidade sensorial (EDER e ROSA, 2021).

A complexidade aromática de um vinho é um dos fatores que mais influencia na preferência pelos consumidores. Os compostos voláteis do vinho espumante podem ter origem da uva (varietal), do processo fermentativo e, ainda, do tempo de envelhecimento sobre as borras das leveduras (autólise). Esta última etapa é peculiar do processo de elaboração de vinhos espumantes pelo método tradicional e é determinante para a composição e complexidade sensorial dessas bebidas, originando vinhos espumantes mais aromáticos e equilibrados (BOSCH-FUSTÉ et al. 2007; POZO-BAYÓN et al., 2009; TORRESI et al., 2011; UBEDA et al., 2019).

Dada a importância dos vinhos espumantes tintos como inovação no mercado vitivinícola e a contribuição dos compostos voláteis para a aceitação desse produto, alguns estudos foram iniciados (MARTÍNEZ-LAPUENTE et al., 2016; IVIT et al., 2017; PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018; RIZZOLO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2019; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020). Estas pesquisas com vinhos espumantes tintos foram realizadas com as cultivares Tempranillo, Merlot, Pinot Noir e Teroldego, e avaliaram a influência da maturação da uva e de algumas práticas enológicas na qualidade deste produto. Entre as práticas enológicas avaliadas para a elaboração de vinhos espumantes tintos, está a maceração pré-fermentativa a frio com adição de gelo seco (PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2019). Esta prática também pode ser realizada com uso de refrigeração, mas ainda não foi testada para elaboração deste produto. Estudo que comparou o desempenho da técnica de maceração pré-fermentativa a frio utilizando gelo seco e refrigeração para a elaboração de vinhos tintos tranquilos, encontrou que os vinhos obtidos com uso de refrigeração apresentaram cor mais intensa e estável, além de teores mais elevados de antocianinas e alguns flavonóis (HEREDIA et al., 2010). Além disso, diferentes protocolos adotados na aplicação da técnica, como temperatura e tempo, influenciam significativamente na extração dos diferentes compostos voláteis e fenólicos presentes na uva, proporcionando alterações químicas e sensoriais no vinho (RUIZ-MORENO et al., 2017; PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2019).

As alterações químicas e sensoriais promovidas pela autólise também vem sendo amplamente estudadas em vinhos espumantes brancos e rosés elaborados pelo método tradicional (RUIZ-MORENO et al., 2017; UBEDA et al., 2019; SARTOR et al., 2019;

SARTOR et al., 2021). Contudo, na elaboração de vinhos espumantes tintos, esta etapa de autólise ainda é pouco explorada, havendo apenas registros da caracterização química e sensorial dessas bebidas com quatro e nove meses de autólise (IVIT et al. 2017; PÉREZ-MAGARIÑO et al., 2018; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2019; GONZÁLEZ-LÁZARO et al., 2020).

A uva tinta ‘Syrah’ tem seu cultivo difundido em todo o mundo (OIV, 2017), sendo muito utilizada na elaboração de vinhos tintos tranquilos em regiões tradicionais (GEFFROY et al., 2020) e emergentes (ALVES et al., 2022), que apresentam boa aceitação pelo mercado consumidor (ALENCAR et al., 2019). Além disso, há registros da produção de vinhos espumantes brancos (NASCIMENTO et al., 2018) e tintos com a cultivar Syrah (EDER e ROSA, 2021) contudo, até o momento, não há registro de estudos que avaliaram as características químicas de vinhos espumantes tintos dessa cultivar.

Com isso, o presente estudo teve como objetivo fornecer informações sobre o impacto do tempo de maceração pré-fermentativa a frio com uso de refrigeração, no perfil volátil de vinhos espumantes tintos elaborados com a cultivar Syrah, e avaliar a evolução dos compostos voláteis durante diferentes tempos de autólise.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

6.3.1 Uvas

Quatrocentos e cinquenta quilos de uvas da cultivar Syrah provenientes de área experimental da Embrapa Semiárido em Bebedouro (Lagoa Grande, Pernambuco, Brasil), colhidas em setembro de 2018, foram utilizadas para elaboração dos vinhos espumantes tintos. As videiras eram cultivadas em sistema de condução tipo espaldeira, sob porta-enxerto Paulsen 1103 e irrigadas por gotejamento. As uvas foram colhidas com 20,1 °Brix e acidez total de 8,6 g L⁻¹ em ácido tartárico.

6.3.2 Vinho Base

As uvas Syrah foram homogeneizadas e divididas em três lotes de 150 kg, correspondente a cada tratamento, foram eles: 1) Não macerado, 2) Maceração pré-fermentativa a frio por 24 horas, e 3) Maceração pré-fermentativa a frio por 72 horas. As uvas do lote não macerado foram desengaçadas, esmagadas e prensadas seguindo para a clarificação (8 °C por 48 horas). As uvas do segundo e do terceiro tratamento foram desengaçadas, esmagadas e submetidas à maceração pré-fermentativa a frio em câmara fria com temperatura controlada (8

± 2 °C) por 24 e 72 h, respectivamente. Após esse período, foram prensadas seguindo para a clarificação (8 °C por 48 horas). Para todos os tratamentos, durante o desengace foram adicionadas 120 mg kg⁻¹ de metabissulfito de potássio (Amazon Group Ltda., Brasil) e 0,02 mg L⁻¹ de enzima pectolítica Everzym Blanc® (Ever Brasil, Brasil). Após o procedimento de clarificação, os mostos de cada tratamento foram transferidos para três garrafões de vidro de 20 L fechados com válvulas cilíndricas de vidro com câmara de ar (tipo *airlock*). A fermentação alcoólica foi conduzida a temperatura de 16 ± 2 °C, utilizando a levedura comercial Maurivim PDM® (Mauri Yeast Pty Ltda, Austrália) *Saccharomyces cerevisiae* (0,20 g L⁻¹) e o nutriente Gesferm® (Amazon Group Ltda., Brasil) (0,20 g L⁻¹). Concluída esta etapa, foi realizada estabilização proteica utilizando bentonite Maxibent Plus® (Amazon Group Ltda., Brasil) (0,80 g L⁻¹) e estabilização tartárica (-4 °C por 10 dias).

6.3.3 Vinhos Espumantes

Para a segunda fermentação alcoólica foi adicionado ao vinho base o licor de tiragem contendo sacarose (24 g L⁻¹), levedura Maurivim PDM (0,25 g L⁻¹), nutriente Gesferm nutriente (0,25 g L⁻¹) e bentonite (0,10 g L⁻¹). Em seguida, os vinhos correspondentes a cada tratamento foram envasados em garrafas de 750 mL com bidule e tampa tipo corona, e mantidos a 15 ± 2 °C, totalizando cerca de 70 garrafas por tratamento. Esta etapa foi monitorada através de análises de pressão, com auxílio do afrômetro, e açúcar residual pelo método de Lane-Eynon (OIV, 2021). Concluída esta segunda fermentação, os vinhos espumantes foram mantidos a 16 ± 2 °C por 3 e 18 meses em envelhecimento sobre as borras (autólise). Ao final de cada tempo de autólise, os vinhos espumantes passaram pelo processo de *remuage*, congelamento e retirada das borras. Previamente às análises, as amostras foram desgaseificadas a baixa temperatura (5 ± 2 °C) por ondas ultrassônicas (Ultrasonic Cleaner, China) durante 30 min em um erlenmeyer contendo 200 mL de vinho espumante (NICOLLI et al., 2015).

6.3.4 Parâmetros enológicos

Os parâmetros enológicos foram determinados seguindo procedimentos da OIV (2021). O pH foi determinado utilizando medidor de pH Edge (Hanna Instruments, Brasil). Após a destilação simples das amostras em destilador enológico Super Dee (Gibertini, Itália), o teor alcoólico foi determinado em balança hidrostática eletrônica Super Alcomat (Gibertini, Itália) a 20 °C. A acidez volátil foi determinada após destilação por arraste a vapor no destilador enológico, seguida de titulação com NaOH 0,1 N. A acidez total foi quantificada por titulação das amostras com NaOH 0,1 N até pH 8,2. O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado

pelo procedimento descrito por HABERTSON e SPAYD (2006), diluindo 1 mL da amostra em 99 mL de água destilada, seguido pela leitura da absorbância a 280 nm em espectrofotômetro ThermoFisher Scientific (Multiskan Go, EUA). A intensidade de cor (IC) e tonalidade foram determinadas a partir da leitura das absorbâncias nos comprimentos de 420 nm (A420), 520 nm (A520) e 620 nm (A620) em espectrofotômetro ThermoFisher Scientific (Multiskan Go, EUA) segundo método de OUGH e AMERINE (1988).

6.3.5 Compostos voláteis

A análise de compostos voláteis baseou-se no protocolo descrito por POZZATTI et al (2020), com algumas modificações. Para o preparo das amostras, uma alíquota de 5,0 mL foi inserida em *vial* de 20 mL, juntamente com 1,5 g de NaCl (Neon, Belo Horizonte, Brasil) e 100 µL de dois padrões internos, sendo eles o 4-metil-2-pentanol (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha) e o 3-octanol (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha), preparados em solução hidroalcoólica na concentração de 2,0 e 3,8 mg L⁻¹, respectivamente. Os compostos foram extraídos utilizando a técnica de micro extração em fase sólida aplicada no *headspace* da amostra (HS-SPME), onde foi inserida uma fibra sortiva de 1 cm com revestimento de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/Car/PDMS, Sulpeco®, Sigma-Aldrich, USA). A fibra foi previamente condicionada conforme recomendado pelo fabricante. A extração ocorreu pela exposição da fibra ao *headspace* da amostra a 40 °C por 50 min sob agitação constante, com um período prévio de equilíbrio do sistema de 5 min. Após esse período a fibra foi recolhida e submetida a análise cromatográfica.

As análises dos compostos voláteis ocorreram em cromatógrafo a gás equipado com um detector por ionização em chama (GC-FID) (Varian Star 3400, Palo Alto, CA, USA) e cromatógrafo à gás acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS QP2010 plus, Shimadzu, Toquio, Japão). Dessa forma, a fibra contendo os compostos voláteis sorvidos foi introduzida no injetor dos sistemas cromatográficos, para a dessorção térmica a 250 °C por 10 min, no modo splitless (válvula de divisão fechada por 1 min; 1:20). Para a separação dos compostos voláteis foi utilizada coluna polar ZB-Wax (Phenomenex, USA; 30 m x 0,25 mm; 0,25 µm de espessura de filme). O programa de temperatura da coluna iniciou em 35 °C, sendo mantida por 2 min, subindo até 80 °C a 2 °C min⁻¹, depois a 150 °C em uma rampa de 4 °C min⁻¹ até 230 °C, permanecendo por 5 min. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste para o GC-FID a uma pressão constante de 12,5 psi e vazão inicial de 1,6 mL min⁻¹. A temperatura do detector FID permaneceu a 250 °C. Para o GC-MS foi utilizado hélio como gás de arraste com vazão

constante de 1,2 mL min⁻¹. O detector foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons (EI) com uma energia de ionização de +70 eV e varredura de massas na faixa de 35 a 350 m/z. A interface e a fonte íons foram mantidas a 230 e 200 °C, respectivamente. O índice de retenção linear (LRI) foi calculado para cada composto volátil em ambos os sistemas cromatográficos, utilizando uma solução de alcanos (C6 ao C30, Sigma-Aldrich, USA) nas mesmas condições analíticas descritas acima.

Os compostos voláteis foram semi quantificados por comparação da área do pico dos compostos detectados com a área dos padrões internos, cuja escolha deu-se em função do tempo de retenção, utilizando a resposta do FID (WELKE et al., 2014; POZZATTI et al., 2020). A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos espectros de massas experimentais do analito, com os espectros disponíveis na biblioteca do equipamento (NIST14 e Wiley), auxiliada pela comparação dos índices de retenção linear dos compostos na coluna ZB-Wax com aqueles descritos na literatura para colunas da mesma polaridade (compostos considerados como tentativamente identificados). Quando possível, foi feita a comparação dos espectros de massa dos compostos detectados por GC-MS com os espectros de padrões puros, analisados no mesmo equipamento e sob as mesmas condições metodológicas (compostos considerados como positivamente identificados) (LINSTROM e MALLARD, 2022).

6.3.6 Análise Estatística

Para a análise dos vinhos espumantes, nos dois tempos de autólise (3 e 18 meses), foram selecionadas aleatoriamente três garrafas de cada replicata ($n = 3$) por tratamento de maceração (NM, M24 e M72), que foram analisadas em triplicata. Primeiramente, os resultados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p \leq 0.05$). Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o R Core Team (2021). Além disso, para fins exploratórios, foi realizado o agrupamento hierárquico e análise do mapa de calor gerados por distância euclidiana utilizando o software MetaboAnalyst 5.0.

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.4.1 Parâmetros enológicos

A Tabela 1 mostra os parâmetros enológicos dos vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e a evolução desses parâmetros em dois tempos de autólise (3 e 18 meses). Em relação aos tempos de maceração

pré-fermentativa avaliados, os vinhos espumantes macerados (M24 e M72) apresentaram maiores valores de pH, IPT e IC, e menor tonalidade de cor. Por outro lado, o envelhecimento sobre borras diminuiu a acidez volátil e o IPT, além de aumentar os valores de tonalidade de cor independente do tempo de maceração aplicado. O aumento da tonalidade de cor durante o envelhecimento dos vinhos espumantes tintos, pode estar relacionado a reações de condensação de antocianinas com flavonóis, formando complexos de cor alaranjada (GARRIDO e BORGES, 2013) e causando alterações na cor destes produtos. De todo modo, mesmo com as diferenças observadas, os vinhos espumantes tintos Syrah apresentaram parâmetros que atendem aos padrões de identidade e qualidade definidos pela legislação (BRASIL, 2018).

Tabela 1 Valores médios dos parâmetros enológicos dos vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e autólise

Parâmetros	Tempo de Maceração ¹	Vinho espumante 3 meses	Vinho espumante 18 meses
pH	NM	3,28 ± 0,00 Bc	3,32 ± 0,00 Ac
	M24	3,42 ± 0,01 Bb	3,47 ± 0,02 Ab
	M72	3,46 ± 0,00 Ba	3,53 ± 0,01 Aa
Acidez Titulável (g L ⁻¹)	NM	7,43 ± 0,04 Aa	7,41 ± 0,03 Aa
	M24	7,35 ± 0,05 Aa	7,32 ± 0,11 Aa
	M72	7,34 ± 0,03 Aa	7,39 ± 0,03 Aa
Acidez Volátil (g L ⁻¹)	NM	0,31 ± 0,01 Aa	0,23 ± 0,03 Ba
	M24	0,28 ± 0,03 Aa	0,24 ± 0,01 Ba
	M72	0,31 ± 0,01 Aa	0,25 ± 0,01 Ba
Álcool (%)	NM	13,36 ± 0,06 Aa	13,08 ± 0,23 Aa
	M24	12,50 ± 0,24 Ab	12,40 ± 0,28 Ac
	M72	12,85 ± 0,40 Ab	12,59 ± 0,21 Ab
IPT ²	NM	6,91 ± 1,53 Bb	7,60 ± 0,06 Ac
	M24	12,25 ± 1,45 Aa	11,81 ± 0,13 Ab
	M72	12,50 ± 0,02 Aa	12,85 ± 0,56 Aa
IC ³	NM	0,45 ± 0,08 Ac	0,29 ± 0,01 Bc
	M24	1,44 ± 0,03 Ab	1,30 ± 0,03 Bb
	M72	1,52 ± 0,07 Aa	1,44 ± 0,02 Ba
Tonalidade	NM	0,95 ± 0,03 Ba	1,22 ± 0,02 Aa
	M24	0,61 ± 0,01 Bb	0,80 ± 0,01 Ab
	M72	0,62 ± 0,02 Bb	0,83 ± 0,01 Ab

Resultados expressos em valores médios ± desvio padrão, ¹NM: Não macerado, M24: 24 horas de maceração pré-fermentativa a frio, M72: 72 horas de maceração pré-fermentativa a frio, ²IPT: Índice de Polifenóis Totais, ³IC: Intensidade de cor. Valores seguidos de letras distintas indicam diferença significativa entre as amostras de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As letras maiúsculas indicam diferenças e semelhanças entre os vinhos espumantes com diferentes tempos de autólise (3 e 18 meses). As letras minúsculas indicam diferenças e semelhanças entre os vinhos espumantes submetidos aos diferentes tratamentos de maceração pré-fermentativa a frio testados (NM, M24 e M72 horas).

6.4.2 Compostos voláteis

A representatividade dos principais grupos químicos na concentração total dos compostos voláteis identificados nos vinhos espumantes tintos Syrah, elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio (NM, M24 e M72) e tempos de autólise (3 e 18 meses), está disposta na Figura 1.

De uma maneira geral, ésteres, álcoois e ácidos carboxílicos foram os grupos químicos majoritários nos vinhos espumantes tintos Syrah. Os ésteres apresentaram diminuição em seu conteúdo após 18 meses de autólise nos vinhos espumantes tintos, independente do tempo de maceração pré-fermentativa a frio aplicado, contudo, uma maior queda foi observada nas amostras M72. Esta queda no conteúdo de ésteres já foi relatada em outros estudos e pode estar relacionada a interação desses compostos com as borras de levedura e ou pelo fato de sofrerem hidrólise química devido a sua instabilidade termodinâmica (RUIZ-MORENO et al., 2017; UBEDA et al., 2019). Nos vinhos espumantes M72 com 18 meses de autólise também podemos visualizar diminuição do conteúdo de álcoois. Ao contrário do observado nos demais tempos de maceração (NM e M24), visto que para essas amostras, os conteúdos de álcoois e de ácidos, apresentaram incremento das suas concentrações após o maior período de envelhecimento sobre as borras.

De forma geral, os vinhos espumantes M24 apresentaram maior estabilidade nas concentrações dos totais dos grupos químicos avaliados (Figura 1). Contudo, a tendência de aumento e queda dos compostos das classes dos ésteres, álcoois e ácidos foi similar ao observado em NM, indicando que M72 possivelmente apresentou um perfil volátil mais distinto após 18 meses de autólise.

A concentração dos compostos voláteis no *headspace* dos vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah, elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e tempos de autólise, está apresentada na Tabela 2. Um total de sessenta e cinco compostos foram identificados e semi-quantificados, com suas concentrações expressas em $\mu\text{g L}^{-1}$. Entre todos os grupos químicos encontrados nas amostras, os ésteres estiveram presentes em maior número ($n = 19$) e álcoois ($n = 19$), seguidos pelos ácidos ($n = 12$), terpenos ($n = 8$), aldeídos ($n = 2$), além de cinco compostos de outras classes (2-nanonona, tolueno, carbamato de amônio, 3-(metilthio)-1-propanol e 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol).

De maneira geral, os compostos encontrados em maior quantidade nas amostras foram o ácido octanóico (#09), no vinho espumante NM com 18 meses de autólise, o octanoato de

etila (#45) em M24 com 18 meses de autólise, e os álcoois 3-metil-1-butanol (#16) e feniletílico (#31), ambos no M72 com 3 meses de autólise.

Figura 1 Representatividade dos principais grupos químicos na concentração total de compostos voláteis identificados nos vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio (**A**) NM: Não macerado, (**B**) M24: 24 horas de maceração pré-fermentativa a frio, (**C**) M72: 72 horas de maceração pré-fermentativa a frio, em dois tempos de autólise (3 e 18 meses).

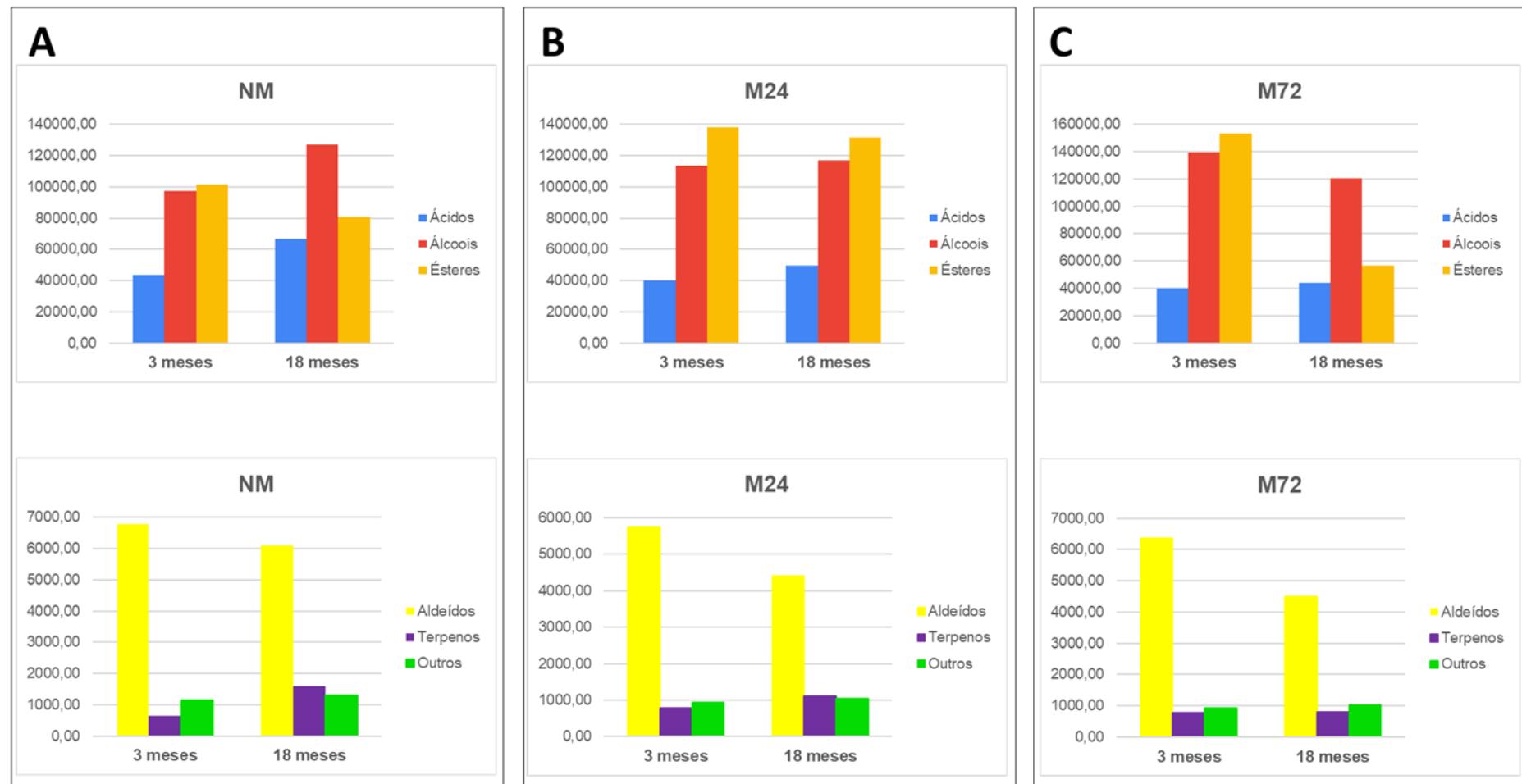


Tabela 2 Concentração dos compostos voláteis identificados nos vinhos espumantes tintos da cultivar Shiraz elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e autólise, com seus respectivos limiar de odor (*odour threshold*) e descritor do odor de acordo com a literatura.

#	Composto ($\mu\text{g L}^{-1}$) / CAS ¹	LRI _{exp} ²	LRI _{lit} ³	Tempo de maceração ⁴	Autólise de 3 meses ⁵	Autólise de 18 meses ⁶	Limiar de odor ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^{2,7}	Descriptor do odor ⁸
# Ácidos carboxílicos								
1	Ácido acético (64-19-7) ^a	1454	1455	NM	$43,66 \pm 1,68$ Ab	$60,11 \pm 24,69$ Ab		
				M24 M72	$86,45 \pm 15,34$ Aa $101,15 \pm 24,14$ Aa	$90,74 \pm 26,27$ Aa $22,20 \pm 1,13$ Bc	200000	Vinagre, pungente
2	Ácido propanoico (79-09-4) ^a	1543	1538	NM	$1179,90 \pm 135,41$ Ba	$1738,54 \pm 437,44$ Aa		
				M24 M72	$832,77 \pm 59,85$ Ab $1344,59 \pm 294,62$ Aa	$984,80 \pm 111,69$ Ab $1120,40 \pm 79,51$ Ab	8100	Rançoso, pungente
3	Ácido 2,2-dimetil propanoico (75-98-9) ^b	1562	1563	NM	$86,42 \pm 7,36$ a	NQ	-	-
				M24 M72	$77,62 \pm 11,96$ b $62,11 \pm 17,65$ Ab	NQ $25,97 \pm 11,36$ B		

				NM	$31,14 \pm 4,13$ Aa	$37,48 \pm 21,80$ Aa		
4	Ácido Isobutírico (79-31-2) ^a	1595	1592	M24	$37,28 \pm 3,75$ a	NQ	200000	Manteiga, queijo, rançoso
				M72	$39,15 \pm 15,73$ Aa	$22,69 \pm 9,12$ Ba		
5	Ácido butanóico (107-92-6) ^a	1616	1620	NM	$64,29 \pm 4,77$ Ba	$101,33 \pm 18,59$ Aa		
				M24	$57,66 \pm 5,95$ Aa	$39,71 \pm 11,86$ Ab	10000	Ranço, queijo, suor
6	Ácido isovalérico (503-74-2) ^a	1676	1675	M72	$53,97 \pm 16,30$ Aa	$42,08 \pm 10,41$ Ab		
				NM	$1060,7 \pm 43,15$ Ba	$12536,11 \pm$ $1635,40$ Aa		
7	Ácido hexanóico (142-62-1) ^a	1848	1848	M24	$1059,00 \pm 148,60$ Ba	$7455,10 \pm$ $531,71$ Ac	3000	Gordura, rançoso
				M72	$1480,95 \pm 322,34$ Ba	$9645,94 \pm$ $1635,40$ Ab		
8				NM	$6236,66 \pm 322,34$ Ba	$8467,88 \pm$ $1424,24$ Aa		
				M24	$6450,33 \pm 422,61$ Aa	$6134,27 \pm$ $592,86$ Ab	3000	Gordura, queijo, suor
				M72	$6333,08 \pm 229,59$ Aa	$5471,97 \pm$ $516,45$ Ab		

	Ácido heptanóico (111-14 - 8) ^b	1921	1923	M24	56,69 ± 14,36 Aa	31,45 ± 5,09 Bb		
				M72	34,75 ± 12,98 Ab	29,91 ± 7,23 Ab		
				NM	26387,61 ± 943,89 Ba	34932,41 ± 7679,05 Aa		
9	Ácido octanóico (124-07- 2) ^b	2069	2067	M24	30922,17 ± 2560,90 Aa	27709,75 ± 2512,18 Ab	3000	Gordura, ranço
				M72	30481,63 ± 4256,92 Aa	22530,73 ± 1684,31 Bb		
				NM	8028,59 ± 369,05 Aa	8728,06 ± 1999,48 Aa		
10	Ácido decanóico (334-48- 5) ^b	2278	2282	M24	22,81 ± 7,19 Bb	6465,87 ± 366,59 Ab	6	Gordura, ranço
				M72	21,86 ± 2,96 Bb	4418,32 ± 515,63 Ac		
				NM	19,77 ± 1,56 a	ND		
11	Ácido 9-decenóico (14436- 32-9) ^b	2353	2353	M24	16,94 ± 0,00 a	ND	40	Gordura, sabão
				M72	14,37 ± 2,36 b	ND		
				NM	224,29 ± 38,17 Ba	729,32 ± 85,81 Aa		
12	Ácido benzóico (65-85-0) ^b	2396	2399	M24	270,23 ± 14,48 Ba	535,02 ± 37,66 Ab	-	Urina

				M72	$255,75 \pm 64,99$ Ba	$416,77 \pm 103,54$ Ab		
<i>Álcoois</i>								
13	Metanol (67-56-1) ^b	890	882	NM	NQ	$10212,26 \pm 225,59$ a	-	-
				M24	$4168,03 \pm 951,69$ Bb	$6278,40 \pm 975,95$ Ab		
				M72	$5604,51 \pm 260,97$ Aa	$6889,83 \pm 1017,13$ Ab		
14	Álcool isobutílico (78-83-1) ^a	1110	1113	NM	$1927,47 \pm 64,55$ Ab	$2183,57 \pm 327,57$ Ab		
				M24	$2079,36 \pm 159,58$ Ab	$1961,87 \pm 165,36$ Ab	40000	Oleoso, alcoólico
				M72	$2834,17 \pm 451,13$ Aa	$2461,09 \pm 207,35$ Aa		
15	1-Butanol (71-36-3) ^a	1157	1152	NM	$50,84 \pm 12,30$ A	$51,44 \pm 12,27$ Aa		
				M24	NQ	$34,53 \pm 7,17$ b	15000	Medicinal, alcoólico
				M72	NQ			
16	3-Metil-1-butanol (123-51-3) ^b	1218	1214	NM	$65713,14 \pm 4114,26$ Bb	$77380,30 \pm 8089,81$ Aa	60000	Uísque, malte, solvente
				M24	$73243,39 \pm 4565,09$ Ab	$77772,87 \pm 4565,75$ Aa		

				M72	90830,10 ± 12989,56 Aa	79601,61 ± 2598,90 Ba		
17	4-Metil-1-pentanol (626-89-1) ^b	1315	1317	NM	72,40 ± 4,41 Aab	62,63 ± 3,06 Aa		
				M24	86,55 ± 4,70 Aa	76,96 ± 18,74 Aa	50000	Amêndoа, тостадо
				M72	63,41 ± 14,82 Ab	72,37 ± 10,19 Aa		
18	3-Metil-1-pentanol (589-35-5) ^b	1338	1325	NM	99,01 ± 10,28 Ba	200,46 ± 28,61 Aa		
				M24	87,95 ± 6,92 Ba	173,34 ± 41,20 Aa	50000	Vinho, herbáceo, cacau
				M72	87,12 ± 20,04 Ba	173,29 ± 20,84 Aa		
19	1-Hexanol (111-27-3) ^a	1354	1357	NM	3035,03 ± 131,72 Ab	3168,67 ± 133,88 Ab		
				M24	5054,26 ± 371,13 Aa	5370,90 ± 426,77 Aa	110	Herbáceo, grama, lenhoso
				M72	5101,04 ± 548,96 Aa	5030,01 ± 195,00 Aa		
20	(E)-3-Hexen-1-ol (928-97-2) ^b	1362	1362	NM	42,45 ± 5,89 Ab	42,62 ± 4,29 Ab		
				M24	68,39 ± 4,91 Aa	56,11 ± 12,29 Aa	400	Verde, floral, musgo, fresco
				M72	53,21 ± 10,02 Ab	54,77 ± 6,87 Aa		

					NM	$391,45 \pm 10,88$ Aa	$385,73 \pm 38,77$ Aa		
21	<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol (928-96-1) ^b	1381	1381	M24	$437,55 \pm 50,33$ Aa	$233,51 \pm 107,31$ Bb	1000	Verde, amargo, gordura	
					$364,93 \pm 54,33$ Aa	$340,88 \pm 43,02$ Aa			
				M72					
22	<i>cis</i> -2-Hexen-1-ol (928-94-9) ^b	1413	1412	M24	$71,31 \pm 8,63$ Ba	$112,14 \pm 32,71$ Aa	400	Herbáceo, verde, gordura	
					$48,05 \pm 10,73$ Aab	$35,87 \pm 32,15$ Ab			
				M72	$40,35 \pm 23,63$ Ab	$50,60 \pm 13,45$ Ab			
23	1-Heptanol (111-70-6) ^b	1466	1458	M24	$1754,48 \pm 84,26$ Aa	$1860,06 \pm 26,39$ Aa	1000	Uva, adocicado	
					$983,87 \pm 70,19$ Bb	$1552,77 \pm 230,44$ Ab			
				M72	$1087,61 \pm 115,96$ Bb	$1301,68 \pm 36,25$ Ac			
24	2-Metil-6-hepten-1-ol ^b	1485	1480	M24	$34,72 \pm 9,47$ a	NQ	-	-	
					$26,10 \pm 8,06$ Aa	$19,02 \pm 16,52$ A			
				M72	$37,59 \pm 8,08$ a	NQ			
25				NM	$23,58 \pm 1,74$ Bb	$114,16 \pm 5,63$ Aa	8000		

	2-Etil-1-hexanol (104-76-7) ^b	1504	1512	M24	40,81 ± 9,16 Ba	117,24 ± 9,14 Aa		
				M72	19,89 ± 3,15 Bb	67,81 ± 10,53 Ab		Cogumelo, frutado doce, floral
26	2-Nonanol (628-99-9) ^b	1525	1528	NM	37,01 ± 5,12 Aa	43,83 ± 17,89 Aa		
				M24	34,88 ± 4,33 Aa	28,04 ± 7,95 Ab	58	Frutado, verde, pepino
				M72	33,08 ± 13,32 Aa	34,50 ± 10,25 Aab		
27	(R,S) 2,3-Butanediol (513-85-9) ^b	1587	1580	NM	92,45 ± 11,79 a	ND		
				M24	65,12 ± 12,52 b	ND	-	Frutado, cebola
				M72	81,11 ± 12,36 ab	ND		
28	(R,R) 2,3-Butanediol (513-85-9) ^b	1605	1590	NM	150,20 ± 10,08 Aa	201,60 ± 52,85 Aa		
				M24	116,21 ± 14,75 Aa	89,98 ± 23,40 Ab	-	Frutado, cebola
				M72	127,92 ± 30,75 Aa	101,39 ± 14,50 Ab		
29	5-Etil-2-heptanol (19780-40-6) ^c	1672	-	NM	155,85 ± 16,03 Ab	186,86 ± 37,92 Aa		
				M24	220,60 ± 35,68 Aa	152,12 ± 41,87 Ba	-	

				M72	$206,75 \pm 38,44$ Aab	$179,94 \pm 31,37$ Aa		
				NM	$153,33 \pm 13,42$ Aa	$151,43 \pm 28,20$ Aa		
30	1-Decanol (112-30-1) ^b	1761	1760	M24	$142,22 \pm 8,53$ Aa	$114,43 \pm 28,33$ Aa	400	Adocicado, gordura
				M72	$159,78 \pm 27,11$ Aa	$116,01 \pm 20,60$ Ba		
31	Álcool feniletílico (60-12-8) ^a	1907	1906	NM	$21759,53 \pm 572,79$ Bb	$29803,06 \pm 5759,58$ Aa		
				M24	$23865,40 \pm 1886,26$ Ab	$22308,18 \pm 5348,28$ Ab	200000	Floral, mel, especiarias, rosas
				M72	$30739,55 \pm 5286,93$ Aa	$22620,16 \pm 3538,51$ Bb		
<i>Aldeídos</i>								
32	Acetaldeído (75-07-0) ^a	889	750	NM	$6566,23 \pm 618,85$ Aa	$6071,89 \pm 925,70$ Aa		
				M24	$5513,51 \pm 995,75$ Aa	$4376,87 \pm 655,28$ Ab	500	Pungente, éter
				M72	$6181,39 \pm 388,50$ Aa	$4474,04 \pm 164,23$ Bb		
33		1298	-	NM	$29,70 \pm 0,92$ Aa	$25,41 \pm 0,00$ Ab	-	-

	3-Hidroxi-butanal (107-89-1) ^c		M24	31,72 ± 4,19 Aa	36,27 ± 8,14 Aa			
			M72	33,06 ± 9,65 Aa	34,40 ± 2,03 Aa			
<i>Ésteres</i>								
34	Acetato de etila (141-78-6) ^b	974	990	NM	ND	302,15 ± 85,99 a		
				M24	ND	276,29 ± 75,60 a	7500	Frutado, adocicado, abacaxi; Solvente
35	Acetato de isobutila (110-19-0) ^b	1020	1014	M72	ND	NQ		
				NM	ND	100,63 ± 31,62 a		
				M24	40,67 ± 3,23 Ba	53,47 ± 8,41 Ab	1600	Solvente, frutado, maçã, banana
36	Butirato de etila (105-54-4) ^a	1049	1044	M72	37,66 ± 2,51 a	NQ		
				NM	23,33 ± 1,35 Ba	63,63 ± 9,06 Ab		
				M24	18,05 ± 4,46 Ba	61,47 ± 14,21 Ab	400	Morango, maçã
37	Acetato de butila (123-86-4) ^a	1067	1066	M72	NQ	77,20 ± 15,08 a		
				NM	54,05 ± 3,20 B	152,56 ± 5,36 Aa		
				M24	NQ	124,25 ± 20,49 b	1800	Frutado, pêra
38	Acetato de isoamila (123-92-2) ^b			M72	NQ	147,81 ± 34,91 a		
				NM	7586,08 ± 321,10 Ab	1969,76 ± 151,59 Bb	160	Banana, frutado, adocicado

				M24	8242,98 ± 473,46 Ab	2789,38 ± 164,78 Ba		
	1119	1122	M72	9541,96 ± 1168,42 Aa	3028,83 ± 447,90 Ba			
39	Hexanoato de etila (123-66-0) ^a	1229	1233	NM	22160,34 ± 1905,47 Aa	22048,64 ± 2231,92 Aa		
				M24	18967,26 ± 2988,53 Ba	24737,70 ± 893,18 Aa	8	Frutado, maçã verde, conhaque
			M72	20274,17 ± 2213,03 Aa	17304,13 ± 2692,46 Ab			
40	Acetato de hexila (142-92-7) ^b	1266	1263	NM	2972,35 ± 230,09 Aa	512,27 ± 30,17 Bb		
				M24	3489,33 ± 519,68 Aa	1115,52 ± 155,47 Ba	670	Maçã, cereja, pêra, floral, frutado; Herbáceo
			M72	3479,22 ± 1074,07 Aa	814,91 ± 143,32 Bab			
41	acetato de <i>cis</i> -3-hexenila (3681-71-8) ^b	1312	1315	NM	197,50 ± 4,12 Aa	50,07 ± 5,68 Bb		
				M24	187,95 ± 22,21 Aa	71,48 ± 16,66 Ba	-	Verde, banana, frutado
			M72	149,13 ± 65,53 Ab	52,31 ± 7,84 Bb			
42	Heptanoato de etila (106-30-9) ^b			NM	227,59 ± 10,19 Aa	215,37 ± 22,91 Aa	2,2	Uva, frutado

				M24	$261,60 \pm 18,68$ Aa	$232,98 \pm 47,66$ Aa		
	1327	1327		M72	$245,35 \pm 50,24$ Aa	$236,81 \pm 36,02$ Aa		
			NM		$57,14 \pm 5,48$ Aa	$50,13 \pm 4,52$ Aa		
43	Lactato de etila (97-64-3) ^b	1335	1334	M24	$40,44 \pm 5,43$ Ab	$47,27 \pm 13,68$ Aa	150000	Amanteigado, láctico, frutado, framboesa
			M72		$30,27 \pm 10,52$ Ab	$34,14 \pm 7,15$ Ab		
		1370	1374	NM		$42,31 \pm 0,00$ a		
44	Octanoato de metila (111- 11-5) ^b			M24	$41,05 \pm 4,72$ Aa	$37,91 \pm 11,70$ Ab	200	Cítrico, laranja
			M72		$39,90 \pm 9,43$ Aa	$34,67 \pm 1,63$ Ab		
			NM		$46322,26 \pm$ $2858,69$ Ab	$47957,69 \pm$ $2908,70$ Ab		
45	Octanoato de etila (106-32- 1) ^a	1435	1432	M24	$66864,35 \pm$ $4917,40$ Aa	$82833,46 \pm$ $4458,66$ Ba	580	Abacaxi, pêra, floral
			M72		$77143,43 \pm$ $17116,16$ Aa	$27623,56 \pm$ $1369,75$ Bc		
			NM		$31,39 \pm 0,00$ Ac	$34,58 \pm 0,00$ Aa		
46	Nonanoato de etila (123-29- 5) ^b	1538	1533	M24	$80,04 \pm 14,60$ Aa	$42,18 \pm 10,71$ Ba	1300	Floral, frutado
			M72		$62,65 \pm 12,16$ Ab	$44,41 \pm 12,61$ Ba		

				NM	$14709,11 \pm 481,06$ Ab	$6000,58 \pm 20,11$ Bb		
47	Decanoato de etila (110-38-3) ^b	1637	1640	M24	$26801,55 \pm 4358,77$ Aa	$17206,93 \pm 1549,79$ Ba	500	Frutado, uva; Gorduroso
				M72	$27503,27 \pm 3994,60$ Aa	$6185,25 \pm 768,18$ Bb		
48	Octanoato de isoamila (2035-99-6) ^b	1655	1657	NM	$134,59 \pm 20,02$ Ab	$45,75 \pm 8,06$ B	152	Oleoso, adocicado, frutado, queijo
				M24	$291,06 \pm 1,09$ a	NQ		
49	9-decenoato de etila (67233-91-4) ^b	1687	1688	M72	$301,82 \pm 54,38$ Aa	$36,48 \pm 4,99$ B	100	Rosas
				NM	$4118,11 \pm 401,19$ b	NQ		
50	Fenilacetato de etila (101-97-3) ^b	1800	1799	M24	$8428,51 \pm 305,03$ a	NQ	-	Frutado, adocicado
				M72	$8006,41 \pm 1225,01$ Aa	$32,66 \pm 4,08$ B		
				NM	$148,52 \pm 13,75$ A	$108,18 \pm 23,99$ Ba		
				M24	ND	$99,22 \pm 11,82$ a		
				M72	ND	$74,23 \pm 1,74$ b		

				NM	2700,55 ± 52,60 Ab	855,73 ± 136,34 Ba		
51	Acetato de Fenetila (103-45-7) ^b	1805	1810	M24	3487,87 ± 178,73 Aa	1009,41 ± 121,01 Ba	-	Rosas, mel, tabaco
				M72	3748,16 ± 132,42 Aa	1011,22 ± 141,81 Ba		
				NM	43,88 ± 2,87 a	NQ		
52	2-hidroxi-4-metilpentanoato de etila (10348-47-7) ^b	1551	1522	M24	51,76 ± 5,58 Aa	33,89 ± 13,26 Ba	51	Frutado, limão
				M72	43,16 ± 8,61 Aa	31,64 ± 6,25 Ba		
				NM	270,35 ± 72,52 Aa	317,66 ± 68,03 Aa		
53	Linalol (78-70-6) ^a	1582	1584	M24	184,79 ± 14,27 Ab	178,59 ± 39,87 Ab	15	Frutado, cítrico, floral
				M72	239,36 ± 53,47 Aab	194,88 ± 26,76 Ab		
				NM	NQ	112,38 ± 26,71a		
54	Aromadendrene (109119-91-7) ^a	1587	1589	M24	39,72 ± 9,76 B	92,66 ± 18,11 Aa	-	-
				M72	NQ	47,23 ± 2,22 b		
55	α-Terpineol (98-55-5) ^a			NM	50,17 ± 9,53 Bc	71,57 ± 22,05 Aa	1000	Floral, adocicado

				M24	122,63 ± 2,51 Aa	67,76 ± 10,00 Ba		
		1714	1713	M72	95,50 ± 7,56 Ab	47,78 ± 0,00 Bb		
				NM	102,97 ± 11,07 Ab	57,96 ± 11,52 Ba		
56	Citronelol (106-22-9) ^b	1766	1766	M24	139,42 ± 12,58 Aa	43,19 ± 12,94 Ba	100	Cítrico, adocicado, floral
				M72	145,20 ± 25,91 Aa	44,26 ± 12,15 Ba		
				NM	ND	ND		
57	Geraniol (106-24-1) ^a	1858	1856	M24	28,72 ± 0,50 Aa	25,26 ± 2,52 A	-	-
				M72	34,58 ± 14,70 a	NQ		
				NM	49,40 ± 13,52 b	ND		
58	Óxido de cariofileno (1139- 30-6) ^a	1967	1965	M24	109,80 ± 22,43 a	ND	-	-
				M72	41,43 ± 22,43 b	ND		
				NM	164,86 ± 5,88 Ba	632,11 ± 107,53 Aa		
59	(E)Nerolidol (40716-66-3) ^b	2045	2034	M24	139,99 ± 13,04 Ba	295,53 ± 39,19 Ab	1000	Floral, maçã, cítrico
				M72	149,37 ± 33,05 Ba	270,25 ± 57,78 Ab		

					NM	$13,06 \pm 0,72$ Ba	$426,96 \pm 182,87$ Aa		
60	(E)Farnesol (106-28-5) ^b	2343	2348	M24		$18,93 \pm 2,83$ Ba	$411,33 \pm 171,65$ Aa	2400	Floral
					M72	$20,55 \pm 6,24$ Ba	$199,43 \pm 6,58$ Ab		
<i>Outros</i>									
61	2-Nonanona (821-55-6) ^b	1376	1379	M24	NM	$136,06 \pm 11,98$ Aa	$115,46 \pm 12,48$ Aa		
					M72	$124,54 \pm 25,52$ Aa	$123,84 \pm 30,15$ Aa	41	Frutado
						$112,25 \pm 46,02$ Aa	$106,16 \pm 10,28$ Aa		
62	Tolueno (108-88-3) ^a	1033	1037	M24	NM	$1007,23 \pm 58,78$ Aa	$1027,86 \pm 53,59$ Aa		
					M72	$818,88 \pm 56,49$ Ab	$799,79 \pm 60,28$ Ab	-	Tinta
						$813,50 \pm 170,41$ Ab	$810,34 \pm 115,45$ Ab		
63	Carbamato de amônio (1111-78-0) ^c	763	-	M24	NM	NQ	$171,22 \pm 25,65$ a		
					M72	NQ	$121,09 \pm 19,56$ b	-	
						NQ	$111,71 \pm 24,88$ b		

64	3-(Metilthio)-1-propanol (0505-10-2) ^b	1718	1717	NM	$44,66 \pm 0,00$ Bb	$102,43 \pm 30,60$ Aa	500	Batata cozida, borracha	
				M24	$69,40 \pm 7,94$ Ba	$102,33 \pm 19,91$ Aa			
				M72	$48,26 \pm 16,01$ Ab	$68,05 \pm 0,00$ Ab			
65	2,4-bis(1,1-dimetiletil)- fenol (96-76-4) ^c	2325	-	NM	$1680,82 \pm 115,13$ Ab	$566,46 \pm 0,00$ Bb	-	-	
				M24	$2515,49 \pm 741,34$ Aa	$456,78 \pm 196,43$ Bb			
				M72	$2093,72 \pm 108,54$ Aab	$1467,58 \pm$ $358,27$ Ba			

¹CAS = Chemical Abstract Service. ²LRI_{exp} = Índice de retenção linear experimental calculado a partir de série de alcanos (C6 ao C30) para a coluna ZB-Wax. ³LRI_{lit} = Índice de retenção linear encontrado na literatura para colunas similares a ZB-Wax. ⁴NM: Não macerado, M24: 24 horas de maceração pré-fermentativa a frio e M72: 72 horas de maceração pré-fermentativa a frio. ^{5,6}Resultados expressos em valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos de letras distintas indicam diferença significativa entre as amostras de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As letras maiúsculas indicam diferenças e semelhanças entre os vinhos espumantes com diferentes tempos de autólise (3 e 18 meses). As letras minúsculas indicam diferenças e semelhanças entre os vinhos espumantes submetidos aos diferentes tratamentos de maceração pré-fermentativa a frio testados (NM, M24 e M72 horas). ND: Não detectado. NQ: Não quantificado. ⁷Limiar de odor para o composto de acordo com a literatura (GEFFROY et al., 2020; WELKE et al., 2014b; JIANG e ZHENWEN, 2010). ⁸Descrição do odor de acordo com a literatura (GEFFROY et al., 2020; WELKE et al., 2014b; JIANG e ZHENWEN, 2010). ^a Compostos identificados por MS, LRI_{lit} e através de padrões puros injetados no GC-MS nas mesmas condições analíticas. ^b Compostos tentativamente identificados por MS e LRI_{lit}. ^c Compostos provisoriamente identificado através da concordância do espectro de massa com aqueles da biblioteca do equipamento.

Considerando a análise estatística realizada (Tabela 2), dos sessenta e seis compostos identificados e semi-quantificados apenas heptanotato de etila (#42) e 2-nanonona (#62) não foram influenciados significativamente por nenhuma das práticas enológicas avaliadas nesse estudo. A maceração pré-fermentativa a frio afetou significativamente um maior número de compostos ($n = 61$) com exceção do ácido isobutírico (#4), 3-metil-1-pentanol (#18), 1-decanol (#30) e 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etila (#53). Por outro lado, o tempo de autólise influenciou a concentração de um menor número de compostos quando comparado à maceração ($n = 54$), excluindo álcool isobutílico (#14), 2-metil-1-pentanol (#17), 1-hexanol (#19), (E)-3-hexen-1-ol (#20), 2-nonal (#26), (R,R) 2,3-butanediol (#28), 2-hidroxi-butanal (#33), lactato de etila (#43), octanoato de metila (#44), linanol (#53), tolueno (#62).

A maceração pré-fermentativa a frio influenciou o perfil volátil dos vinhos espumantes tintos Syrah, e impactou na concentração de um maior número de compostos ($n = 61$) frente aos tempos de autólise ($n = 54$). O emprego da maceração pré-fermentativa a frio na elaboração de vinhos pode promover aumento da extração de compostos aromáticos e seus precursores presentes na película da uva (WANG et al., 2016). Em destaque, os vinhos espumantes elaborados com uso de maceração (M24 e M72) apresentaram maiores concentrações de 1-hexanol (#19) e 9-decanoato de etila, M72 ainda apresentou maior teor de acetato de isoamila (#38), em relação ao NM. Este comportamento pode ser explicado pelos diferentes tempos de maceração testados, visto que, junto a temperatura, esses fatores são determinantes para a natureza dos compostos extraídos e, consequentemente, para o perfil volátil final do vinho (WANG et al., 2016; ROLDÁN et al., 2021).

Considerando todos os tratamentos de maceração pré-fermentativa a frio testados (NM, M24 e M72), avaliando o tempo de autólise, houve aumento das concentrações de 3-metil-1-pentanol, 1-heptanol, 2-etyl-1-hexanol, (E)nerolidol e (E)farnesol após 18 meses de autólise, contudo, o conteúdo de acetato de isoamila, acetato de hexila, decanoato de etila, acetato de fenetila e 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol (#65) diminuiu após esse mesmo período. Junto a isso, analisando os resultados dos vinhos espumantes elaborados com o uso da maceração pré-fermentativa a frio (M24 e M72), observamos queda significativa na concentração de acetaldeído, octanoato de etila e nonanoato de etila após 18 meses de autólise.

Os ésteres são compostos que contribuem para as características frutadas dos vinhos e a concentração desses compostos pode variar durante a elaboração de vinhos espumantes. A biossíntese desses compostos depende da disponibilidade de ácidos graxos, e ambos dependem das condições de fermentação, composição do mosto (açúcar, nitrogênio assimilável) e práticas

enológicas adotadas (ROLDÁN et al., 2021), como a maceração pré-fermentativa a frio. Além disso, a liberação de enzimas esterases durante a autólise podem diminuir as concentrações de ésteres e, em contrapartida, reações químicas promovidas por ácidos carboxílicos e álcoois podem aumentar esse teor durante a etapa (WELKE et al. 2014b; UBEDA et al., 2019). Os ésteres mais abundantes nos vinhos espumantes foram octanoato de etila (#45 – Frutado: abacaxi e pêra), seguido do decanoato de etila (#47 – Frutado: uva) e hexanoato de etila (#39 – Frutado: maçã verde), e, cujas maiores concentrações foram encontradas em vinhos espumantes tintos elaborados com uso da maceração pré-fermentativa a frio (M24 e M72). Estes compostos podem contribuir positivamente com o aroma dos vinhos espumantes tintos Syrah, visto que apresentaram concentrações acima do limiar de odor relatado na literatura (Tabela 2), promovendo aromas frutados ao produto. Além disso, ésteres de acetato são descritos, principalmente, por suas notas aromáticas frutadas e adocicadas, e são marcadores de envelhecimento sobre as borras em vinhos espumantes (RUIZ-MORENO et al., 2017; UBEDA et al., 2019). Em nossa pesquisa, compostos que fazem parte desse grupo, como acetato de isoamila (#38– Frutado: banana), acetato de hexila (#40– Frutado, maçã, cereja, pêra; Floral) e acetato de fenetila (#51– Floral) diminuíram suas concentrações após 18 meses de autólise, independente do tempo de maceração pré-fermentativa testado, possivelmente, promovendo perda de notas de frescor e frutas em vinhos espumantes tintos após 18 meses de autólise.

Os álcoois superiores são as principais substâncias aromáticas sintetizadas pelas leveduras durante a fermentação alcoólica. Sua formação ocorre, principalmente, através de reações de catabolismo de açúcares ou descarboxilação e desaminação de aminoácidos presentes no mosto (WANG et al., 2016). Desta forma, a natureza desses precursores extraídos nos diferentes tempos de maceração pré-fermentativa avaliados (NM, M24 e M72) afetaram a concentração e perfil dos álcoois superiores encontrados nos vinhos espumantes tintos elaborados. Entre os álcoois identificados e semi-quantificados neste estudo, os mais abundantes foram o 3-metil-1-butanol (#16) e álcool feniletílico (#31), cujo odor é descrito na literatura como malte e solvente, e floral, respectivamente, ambos com maiores concentrações nos vinhos espumantes M72 com 3 meses de autólise. Os álcoois superiores, em baixas concentrações, têm papel importante no aroma dos vinhos, sendo responsáveis pelos aromas secundários (CALIARI et al., 2014), e o período de autólise podem alterar suas concentrações pela capacidade das borras de levedura em reter esses compostos em sua superfície (GALLARDO-CHACÓN et al., 2009). Em nosso estudo, o envelhecimento sobre as borras de levedura contribuiu positivamente para o aroma dos vinhos espumantes após 18 meses de

autólise, diminuindo a concentração de 3-metil-1-butanol (#16 - Solvente) em M72 e aumentando os teores de 3-metil-1-pentanol (#18 – Vinho, herbáceo, cacau), 1-heptanol (#23 – Uva, adocicado) em M24 e M72 e 2-etil-1-hexanol (#25 – Frutado e floral).

A concentração de ácidos graxos presente no vinho final depende, principalmente, da ação das leveduras nas reações de síntese e/ou converção dos precursores aromáticos (açúcares, ácidos e aminoácidos) presentes no mosto (ROLDÁN et al., 2021). Os ácidos carboxílicos voláteis contribuem para o aroma no vinho dependendo da sua concentração encontrada. Entre 4 a 10 mg L⁻¹, proporcionam aromas agradáveis, contudo, acima de 20 mg L⁻¹, trazem impacto negativo para o aroma final do produto (WELKE et al., 2014b). Neste estudo, apenas o ácido octanóico, que remete aroma de gordura, foi encontrado em uma concentração que pode afetar negativamente o aroma do vinho espumante tinto Syrah, apresentando maior concentração nos vinhos que não utilizaram a maceração (NM) na elaboração, chegando a 34.932,41 µg L⁻¹ após 18 meses de autólise. Junto a isso, o ácido hexanóico (#7), que também está associado a defeitos em vinhos, e remete à aromas de gordura, queijo e suor, apresentou-se nos vinhos espumantes tintos acima do limiar de odor (Tabela 2). Contudo, o uso da maceração pré-fermentativa a frio (M24 e M72) promoveu as menores concentrações desse ácido nos vinhos espumantes após 18 meses de autólise.

Os terpenos são compostos que promovem aromas florais e frutados, associados ao aroma primário dos vinhos, e sua extração ocorre durante o processo de maceração (CALIARI et al., 2014; WANG et al., 2016) e durante a fermentação alcoólica onde glicosídeos de terpeno podem ser hidrolisados em terpenos voláteis livres (ROLDÁN et al., 2021). Nos vinhos espumantes tintos desse estudo, o (*E*)nerolidol (#59 - Floral) e (*E*)farnesol (#60 – Floral) foram os terpenos mais abundantes após o período de 18 meses de autólise, apresentando a menor concentração no vinho espumante M72. O linalol (#54 - Frutado) também sofreu diminuição com a aplicação da maceração pré-fermentativa a frio, contudo, o tempo de autólise não alterou a concentração desse composto.

Adicionalmente, para evidenciar o impacto global da composição volátil na qualidade do aroma dos vinhos espumantes tintos Syrah, foi realizada análise de agrupamento hierárquico e mapa de calor (Figura 2), agrupando os vinte e um compostos voláteis que se apresentaram nas amostras com concentrações acima da percepção mínima de limiar de odor (Tabela 2). Desta forma, a Figura 2 mostra que os vinhos espumantes tintos foram, inicialmente, agrupados em dois grupos distintos pelo tempo de autólise (3 e 18 meses), seguido do tempo de maceração pré-fermentativa a frio (NM, M24 e M72). O agrupamento mostrou que a autólise foi o fator

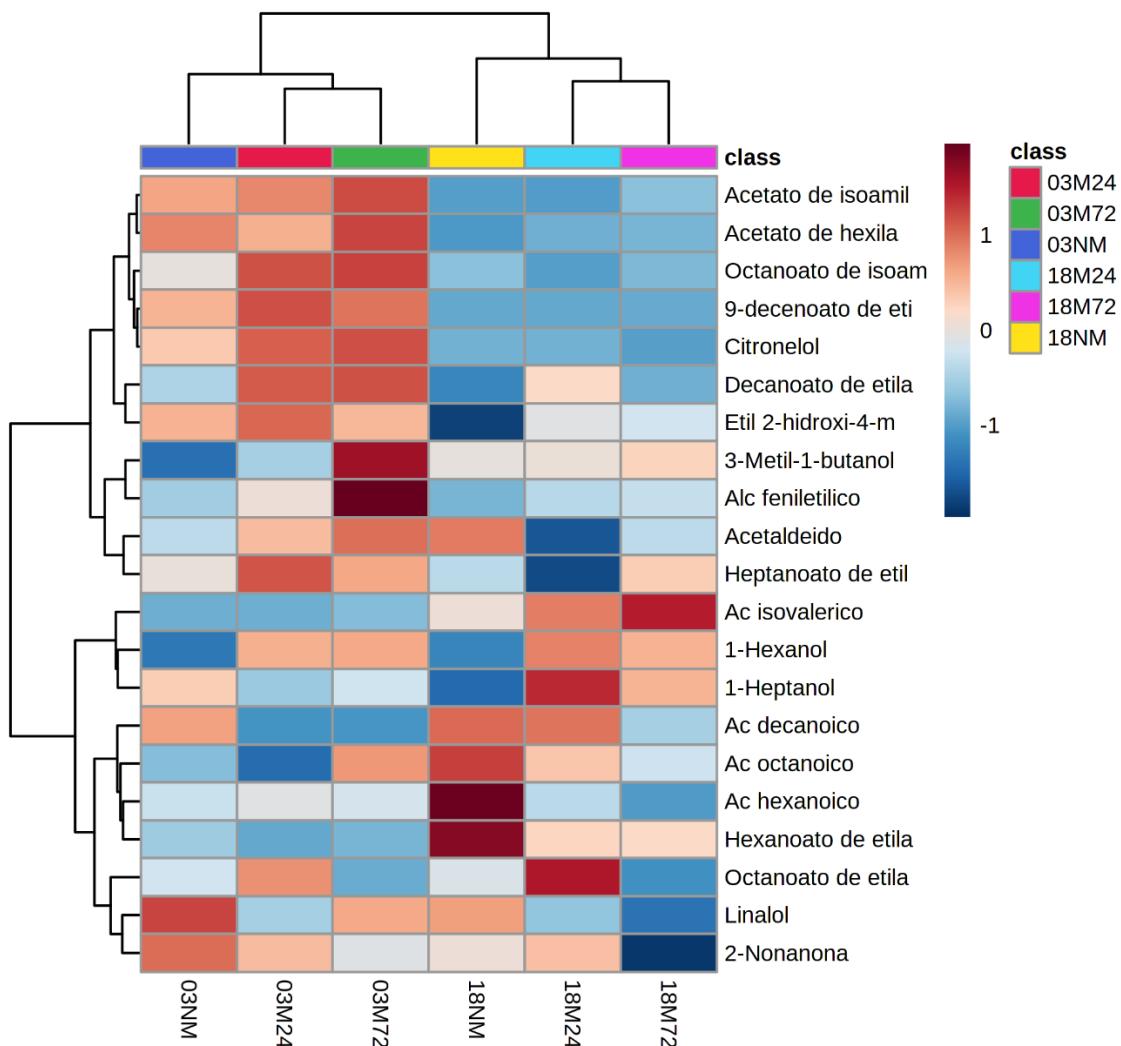
inicial para distinção das amostras e que os vinhos espumantes elaborados com uso da maceração (M24 e M72) permaneceram no mesmo cluster diferindo dos NM, nos dois tempos de autólise avaliados.

De maneira geral, os vinhos espumantes tintos M24 e M72 com 3 meses de autólise se associaram positivamente a uma maior quantidade de compostos voláteis em relação aos demais. Os compostos que foram identificados como os mais significativos para diferenciar essas amostras foram octanoato de isoamila, decanoato de etila, acetaldeído, heptanoato de etila, 1-hexanol, apresentando associação positiva (> 0) com os vinhos espumantes elaborados com uso da maceração pré-fermentativa a frio. Todos os ésteres citados, contribuem positivamente para o aroma dos vinhos espumantes tintos devido as notas frutadas que trazem ao produto (CALIARI et al., 2014; RUIZ-MORENO et al., 2017). Contudo, M72 se destaca de M24, devido a forte relação com o conteúdo dos álcoois 3-metil-1-butanol (#16) e álcool feniletílico (#31), compostos que remetem a notas de aromas de malte, uísque e flores (rosas), mel e especiarias (WELKE et al., 2014b; CALIARI et al., 2015).

Além disso, nos vinhos espumantes com 18 meses de autólise, o mapa de calor destaca outros importantes compostos voláteis como o ácido isovalérico (#6), ácido carboxílico que confere aos vinhos aroma que remete à suor e ranço (WELKE et al., 2014b) e já foi anteriormente relatado como característico de vinhos tintos Syrah (GEFFROY et al., 2020), apresentando relação positiva com os vinhos espumantes elaborados com uso de maceração, com destaque para M72. O álcool 1-heptanol (#23), que remete a aromas adocicados e de uva (JIANG e ZHANG, 2010) também teve destaque no vinho M24 e M72 com 18 meses de autólise, principalmente em M24. Por fim, o vinho espumante M24 com 18 meses de autólise, também se destacou dentre todas as amostras pela forte relação positiva com o éster octanoato de etila (#45), composto conhecido por contribuir positivamente com aromas de vinhos, proporcionando notas florais, e frutadas, como pêra e abacaxi (CALIARI et al., 2015).

Os vinhos espumantes tintos elaborados sem uso da maceração pré-fermentativa a frio (NM) com 18 meses de autólise, se destacaram pela associação positiva com o ácido hexanóico (#7) e o éster hexanoato de etila (#39), o primeiro promove aromas de gordura, queijo e suor, enquanto o segundo, aroma de maçã verde (CALIARI et al., 2015).

Figura 2 Agrupamento hierárquico e mapa de calor gerado a partir dos compostos cujas concentrações apresentaram valores superiores ao limiar de odor (*odor threshold*) descrito na literatura ($n = 21$), identificados nos vinhos espumantes tintos da cultivar Syrah elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e autólise.



Legenda: 03NM: Não macerado com 3 meses de autólise, 03M24: 24 horas de maceração pré-fermentativa a frio com 3 meses de autólise, 03M72: 72 horas de maceração pré-fermentativa a frio com 3 meses de autólise, 18NM: Não macerado com 18 meses de autólise, 18M24: 24 horas de maceração pré-fermentativa a frio com 18 meses de autólise, 18M72: 72 horas de maceração pré-fermentativa a frio com 18 meses de autólise.

Trazer informações contidas na literatura científica a respeito da potencial contribuição de compostos voláteis para o aroma do vinho espumante tinto Syrah otimiza a discussão, iniciando uma perspectiva, mesmo que preliminar, das possíveis contribuições de práticas enológicas como a maceração pré-fermentativa a frio e envelhecimento sobre as borras de levedura (autólise) para o aroma deste produto. Desta forma, sabendo que um composto volátil contribuirá para o aroma final do vinho se sua concentração estiver acima do limiar de

percepção (WELKE et al., 2014b), os vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com uso de maceração pré-fermentativa a frio (M24 e M72) e com 3 meses de autólise, possivelmente, possuem maior intensidade aromática que os demais. De fato, de acordo com a Tabela 2, a maioria dos compostos voláteis identificados que apresentaram concentrações acima do limiar de odor foram mais abundantes nessas duas amostras.

6.5 CONCLUSÃO

Esse trabalho contribuiu para um melhor conhecimento a respeito do perfil de compostos voláteis de vinhos espumantes tintos elaborados pelo método tradicional. Pela primeira vez foi relatada a composição volátil desse produto quando elaborado com a cultivar Syrah. Junto a isso, nossos resultados mostraram que o tempo da maceração pré-fermentativa a frio e o tempo de envelhecimento sobre as borras promoveram perfis voláteis distintos nos vinhos espumantes tintos e impactam no aroma da bebida.

As classes químicas majoritárias nas amostras foram as dos ácidos carboxílicos, álcoois e ésteres, este último em maior destaque. O uso da maceração pré-fermentativa a frio originou maiores concentrações ao vinho espumante de ésteres como octanoato de etila, decanoato de etila e hexanoato de etila, independente do tempo de autólise testado. Em contrapartida, o tempo de autólise de 18 meses promoveu a redução no conteúdo de ésteres, a exemplo do acetato de isoamila, acetato de hexila e acetato de fenetila.

A análise de agrupamento hierárquico e mapa de calor realizada a partir dos compostos voláteis que apresentaram concentrações acima do limiar de odor, destacou os vinhos espumantes tintos Syrah elaborados com uso de maceração pré-fermentativa a frio e com 3 meses de autólise. Desta forma, esses vinhos espumantes possivelmente apresentam maior intensidade aromática que os demais. Para avaliar a veracidade dessas constatações, uma avaliação sensorial deve ser considerada, a fim de complementar esse estudo do impacto das práticas de maceração pré-fermentativa a frio e autólise sobre a qualidade do aroma e sabor do vinho espumante tinto Syrah elaborado pelo método tradicional.

6.6 REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N.M.M.; RIBEIRO, T.G.; BARONE, B.; BARROS, A.P.A.; MARQUES, A.T.B.; BEHRENS, J.H. Sensory profile and check-all-that-apply (cata) as tools for evaluating and characterizing syrah wines aged with oak chips. **Food Research International**, v. 124, p. 156-164, 2019.

ALVES, C.A.N.; BIASOTO, A.C.T.; TORRES, L.H.P.S.; CORRÊA, L.C.; LEÃO, P.C.S.; BARROS, A.P.A.; VASCONCELOS, L.B. Chemical typicity of tropical tannat red wines from sub-middle São Francisco Valley, Brazil. **Journal of Food Science and Technology**, 2022.

BOSCH-FUSTÉ, J.; RIU-AUMATELL, M.; GUADAYOL, J.M.; CAIXACH, J.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXTADERAS, S. Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis. **Food Chemistry**, v.105, p. 428-435, 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº14, de 8 de fevereiro de 2018. **Diário oficial da união**, 2018. Altera dispositivos da Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho.

CALIARI, V.; PANCERI, C.P.; ROSIER, J.P.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Effect of the traditional, charmat and asti method production on the volatile composition of moscato giallo sparkling wines. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61(2), p. 393-400, 2015.

EDER, M.L.R.; ROSA, A.L. Non-conventional grape varieties and yeast starters for first and second fermentation in sparkling wine production using the traditional method. **Fermentation**, v. 7 (321), 2021.

GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. **Food Research International**, v. 54(2), p. 1844-1858, 2013.

GEFFROY, O.; MORÈRE, M.; LOPEZ, R.; PASQUIER, G.; CONDORET, J. Investigating the Aroma of Syrah Wines from the Northern Rhone Valley Using Supercritical CO₂-Dearomatized Wine as a Matrix for Reconstitution Studies. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 68, p. 11512-11523, 2020.

GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; PALACIOS, A.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; BUENO-HERRERA, M.; CUESTA, P. L.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Effects of different oenological techniques on the elaboration of adequate base wines for red sparkling wine production: phenolic composition, sensory properties and foam parameters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, p. 4580-4592, 2019.

GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; BUENO-HERRERA, M.; DE LA CUESTA P.L.; PÉREZ-MAGARIÑO, S. Evaluation of grape ripeness, carbonic maceration and pectolytic enzymes to improve the chemical and sensory quality of red sparkling wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, p. 2618-2629, 2020.

HARBERTSON, J.; SPAYD, S.E. Measuring phenolics in the winery. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 57(3), p. 280-288, 2006.

HEREDIA, F.J.; ESCUDERO-GILETE, M.L.; HERNANZ, D.; GORDILLO, B.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; VICARIO, I.M.; GONZÁLEZ-MIRET, M.L. Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. **Food Chemistry**, v. 118, p. 377–383, 2010.

IVIT, N.N.; LOIRA, I.; MORATA, A.; BENITO, S.; PALOMERO, F.; SUÁREZ-LEPE, J.A. Making natural sparkling wines with non-Saccharomyces yeasts. **European Food Research and Technology**, v. 244 (5), p. 925-935, 2017.

JIANG, B; ZHENWEN, Z. Volatile Compounds of Young Wines from Cabernet Sauvignon, Cabernet Gernischet and Chardonnay Varieties Grown in the Loess Plateau Region of China. **Molecules**, v. 15, p. 9184-9196, 2010.

LINSTROM, P.J.; MALLARD, W.G. Eds., **NIST Chemistry WebBook**, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>. Acesso em 27 março 2022.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº14, de 8 de fevereiro de 2018. Diário oficial da união, 2018.

MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; APOLINAR-VALIENTE, R.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; WILLIAMS, P.; DOCO, T. Influence of grape maturity on complex carbohydrate composition of red sparkling wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64 (24), p. 5020-5030, 2016.

NASCIMENTO, A.M.S.; SOUZA, J.F.; LIMA, M.S.L.; PEREIRA, G.E. Volatile Profiles of Sparkling Wines Produced by the Traditional Method from a Semi-Arid Region. **Beverages**, v. 4, 103, 2018.

NICOLLI, K.P.; WELKE, J.E.; CLOSS, M.; CARAMÃO, E.B.; COSTA, G.; MANFROI, V.; ZINI, C.A. Characterization of the volatile profile of Brazilian moscatel sparkling wines through solid phase microextraction and gas chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26(7), p. 1411-1430, 2015.

OIV, International Organization of Vine and Wine. Distribution of the world's grapevine varieties, 2017. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/thematic-focus>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

OIV, International Organization of Vine and Wine. State of the world vitivinicultural sector in 2020, 2020. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/statistical-analysis/state-of-vitiviniculture>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022.

OIV, International Organization of Vine and Wine. Compendium of international methods of wine and must analysis, 2021. Disponível em <https://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol>. Acesso em 17 de fevereiro de 2022.

OUGH, C.S.; AMERINE, M. A. Methods Analysis of Musts and Wines (2nd ed.), 1988. PÉREZ-MAGARIÑO, S.; BUENO-HERRERA, M.; DE LA CUESTA, P.L.; GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; AYESTARÁN, B. Volatile composition, foam characteristics and sensory properties of Tempranillo red sparkling wines elaborated using different techniques to obtain the base wines. **European Food Research and Technology**, v. 245(5), p. 1047-1059, 2018.

POZO-BAYÓN, M.Á.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; PUEYO, E.; MORENO-ARRIBAS, M.V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20(6-7), p. 289-299, 2009.

POZZATTI, M.; GUERRA, C.C.; MARTINS, G.; DOS SANTOS, I.D.; WAGNER, R.; MARCO, M.F.; MANFROI, V. Effects of winemaking on ‘marselan’ red wines: volatile compounds and sensory aspects. *Ciência Téc. Vitiv.* v. 35(2), p. 63-75. 2020

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. URL <https://www.R-project.org/>

RÍOS-REINA, R.; SEGURA-BORREGO, M.P.; GARCÍA-GONZÁLEZ, D.L.; MORALES, M.L.; CALLEJÓNA, R.M. A comparative study of the volatile profile of wine vinegars with protected designation of origin by headspace stir bar sorptive extraction. *Food Research International*, v. 123, p. 298-310, 2019.

RIZZOLO, R.G.; GUERRA, C.C.; PERISSUTTI, G.E.; BEN, R.L.; NAVROSKI, R.; MALGARIM, M.B. Physicochemical and sensory characteristics of fine sparkling red wines produced at different maceration lengths in the south of Brazil. *Bioscience Journal*, v. 34 (1), p. 37-47, 2018.

ROLDÁN, A.M; SÁNCHEZ-GARCÍA, F.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, L.; PALACIOS, V.M. Influence of Different Vinification Techniques on Volatile Compounds and the Aromatic Profile of Palomino Fino Wines. *Foods*, v. 10 (2), 453, 2021.

RUIZ-MORENO, M.J.; MUÑOZ-REDONDO, J.M.; CUEVAS, F.J.; MARRUFO-CURTIDO, A.; LEÓN, J.M.; RAMÍREZ, P.; MORENO-ROJAS, J.M. The influence of pre-fermentative maceration and ageing factors on ester profile and marker determination of Pedro Ximenez sparkling wines. *Food Chemistry*, v. 230, p. 697-704, 2017.

SARTOR, S.; BURIN, V.M.; FERREIRA-LIMA, N.E.; CALIARI, V.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Polyphenolic Profiling, Browning, and Glutathione Content of Sparkling Wines Produced with Nontraditional Grape Varieties: Indicator of Quality During the Biological Aging. *Journal of Food Science*, v. 84(12), p. 3546-3554, 2019a.

SARTOR, S.; TOALDO, I.M.; PANCERI, C.P.; CALIARI, V.; LUNA, A.S.; DE GOIS, J.S.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Changes in organic acids, polyphenolic and elemental composition of rosé sparkling wines treated with mannoproteins during over-lees aging. *Food Research International*, v. 124, p. 34-42, 2019b.

TORRESI, S.; FRANGIPANE, M.T.; ANELLI, G. Biotechnologies in sparkling wine production. Interesting approaches for quality improvement: A review. *Food Chemistry*, v. 129, p. 1232-1241, 2011.

UBEDA, C.; KANIA-ZELADA, I.; BARRIO-GALÁN, R.; MEDEL-MARABOLÍ, M.; GIL, M.; PEÑA-NEIRA, A. Study of the changes in volatile compounds, aroma and sensory attributes during the production process of sparkling wine by traditional method. *Food Research International*, v. 119, p. 554-563, 2019.

WANG, J.; HUO, S.; ZHANG, Y.; LIU, Y.; FAN, W. Impact of various maceration techniques on the phenolic and volatile composition of Chenin Blanc wines. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 51(11), 2016.

WELKE, J.E.; ZANUS, M.; LAZZAROTTO, M.; PULGATI, F.H.; ZINI, C.A. Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. *Food Chemistry*, v. 164, p. 427-437, 2014a.

WELKE, J.E.; ZANUS, M.; LAZZAROTTO, M.; ZINI, C. Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine. **Food Research International**, v. 59, p. 85–99, 2014b.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foi observado que as uvas “Viognier”, “Grenache” e “Syrah”, cultivadas no VSSF, apresentam potencial para elaboração pelo método tradicional de vinhos espumantes brancos, *rosés* e tintos, respectivamente. Além disso, este trabalho confirmou que as práticas de maceração pré-fermentativa a frio e envelhecimento sobre as borras (autólise) influenciam na composição química e capacidade antioxidante do vinho espumante e podem melhorar a qualidade nutracêutica do produto.

Inicialmente, o estudo com os vinhos espumantes brancos e *rosés* das cultivares Viognier e Grenache elaborados com diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio com a aplicação de refrigeração, permitiu demonstrar que o uso da prática por 24h no vinho espumante branco ‘Viognier’, aumentou os teores de kaempferol-3-*O*-glicosídeo e queracetina-3-β-D-glicosídeo, e por 72h promoveu maiores concentrações de (-)-epicatequina, procianidina B2 e teores de fenólicos totais. No vinho espumante *rosé* ‘Grenache’, 24h de maceração aumentou os teores de ácido clorogênico, ácido cafeico e queracetina-3-β-D-glicosídeo. Além disso, para manter a capacidade antioxidante desses espumantes, recomenda-se utilizar 72h de maceração pré-fermentativa a frio para o vinho espumante branco elaborado a partir da cultivar Viognier e até 24h para o vinho espumante *rosé* ‘Grenache’.

A inovação dessa tese, relaciona-se com a elaboração e análise de vinhos espumantes tintos. Pela primeira vez a cultivar Syrah, a maceração pré-fermentativa a frio com uso de refrigeração e a evolução química em diferentes tempos de envelhecimento sobre as borras foram estudados na elaboração deste produto. Na avaliação da composição fenólica e cor do vinho espumante tinto elaborado a partir da cultivar Syrah, nosso estudo permitiu verificar que o maior tempo de maceração pré-fermentativa (72 horas) e maior tempo de autólise (18 meses) aumentaram os teores de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante do produto, além de promoverem uma coloração vermelha (a^*) mais intensa e saturada (C^*). Adicionalmente, na avaliação da composição volátil, os diferentes tempos de maceração pré-fermentativa a frio e de envelhecimento sobre as borras estudados, afetaram significativamente o perfil volátil dos vinhos espumantes tintos e, consequentemente, a complexidade aromática do produto. O uso da maceração pré-fermentativa a frio promoveu maiores concentrações de ésteres como octanoato de etila, decanoato de etila e hexanoato de etila, independente do tempo de autólise empregado. Além disso, ésteres como o acetato de isoamila, acetato de hexila e acetato de fenetila, diminuíram suas concentrações após 18 meses de autólise, independente do tempo de maceração pré-fermentativa aplicado. A análise de agrupamento hierárquico e mapa

de calor, destacou o uso de maceração pré-fermentativa a frio e 3 meses de autólise, originando vinhos espumantes tintos com maior intensidade de aroma.

Contudo, uma avaliação sensorial deve ser considerada para complementar essa pesquisa com vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional no VSSF. Por fim, espera-se que, com os resultados dessa tese, nos próximos anos, os vinhos espumantes elaborados pelo método tradicional se tornem uma alternativa de produção e mercado no VSSF, movimentando a cadeia vitivinícola regional e nacional e agregando valor ao produto.