INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Altarquia Associada a Universidade de São Paulo

**Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jabuticaba, tipo
Vinho Tinto**

JULIANA ANGELO PIRES

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Tecnologia Nuclear –
Aplicações.**

Orientador: Profº Dr.Valter Arthur

SÃO PAULO
2018

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Altarquia Associada a Universidade de São Paulo

**Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jabuticaba, tipo
Vinho Tinto**

JULIANA ANGELO PIRES

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Tecnologia Nuclear –
Aplicações.**

Orientador: Profº. Drº. Valter Arthur

SÃO PAULO
2018

Verso da folha de rosto

Auxílio IPEN/CNEN : Processo n.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

PIRES, Juliana A.. Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jaboticaba, tipo Vinho Tinto. 2017. xx p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 27 abr. 2018.

PIRES, Juliana Angelo

Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jabuticaba, tipo Vinho Tinto / Juliana Angelo Pires. Orientador Valter Arthur. Piracicaba, 2018.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Energia nuclear.

Área de Concentração (Tecnologia Nuclear Aplicada) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo

1.Irradiação. 2. Fermentado de jabuticaba. 3.Envelhecimento. 4. Padrão de qualidade. I. Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jabuticaba, tipo “Vinho” Tinto

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Juliana Angelo Pires

Título: Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jabuticaba, tipo “Vinho” Tinto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares, Autarquia Associada a Universidade de São Paulo, para obtenção de título de Mestre em Ciências na área de Tecnologia Nuclear Aplicada.

Data: 27/04/2018

Banca Examinadora

Profº Dr. Valter Arthur

Instituição: IPEN/USP

Julgamento: APROVADA

Profº Dr. Antonio Sampaio Baptista

Instituição : ESALQ/USP

Julgamento: APROVADA

Profª Dr.ª Marcia Nalesso Costa Harder

Instituição: FATEC – Piracicaba

Julgamento: APROVADA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo conquistado e concedido até o momento e por tudo que estará por vir.

Aos meus familiares, mãe Josely, pai José, irmã Raquel, cunhado Jeferson, que tanto incentivaram a conseguir o título de mestre. E minha sobrinha Isabella Valentina que nasceu durante essa loucura, vindo como um remédio de alegria.

Agradeço ao meu orientador Valter Arthur pela orientação, por todo auxílio, instrução e paciência nesses anos.

Ao Conselho Nacional de Energia Nuclear pelo financiamento do projeto.

À minha professora de graduação e amiga prof^a Dr.^a Érika M. Roel Gutierrez, quem me incentivou, me apoiou, me guiou e também puxou minha orelha (como mãe faz com os filhos) e acima de tudo se mostrou um exemplo.

Ao meu amigo e companheiro de jornada nas aulas do mestrado Felipe Augusto Godoy, que sem ele com certeza não teria sido possível cursa-las e nem teria sido tão divertidas.

À técnica e amiga do Laboratório de Radiobiologia e Ambiente do Centro de Energia Nuclear Lucia Cristina A. S. Silva, pelo auxílio nas análises e pelas várias conversas e conselhos.

Aos tantos amigos que compartilharam comigo nesses dois anos, o trabalho, as risadas, os meus chilikies, os desabafos, as alegrias, algumas vezes o desespero, Aline da Silva Delabio, Bárbara Briense, Caroline Barros, Dâmaris Lima Carvalho, Diogo Marques, Eronise Grippa, Fabiane A. Delamutta, Gianni Haddad, Janice Jandoso, Karoline Raysel Rodrigues de Campos, Maria Alice Nottingham Furlan, Michele Schott dos Santos, Natasha Monteiro, Silvana Veregue.

E também à um amigo muito especial, quase um segundo pai Pedro Bassa, para mim sempre P.V.

E postumamente aos meus avós que ainda estavam vivos e me incentivando durante essa fase.

Epígrafe

**“No meio da confusão, encontre a simplicidade. A partir da discórdia encontre a harmonia. No meio da dificuldade reside a oportunidade.”
(Albert Einstein)**

RESUMO

PIRES, Juliana A. Efeito da Radiação Gama (^{60}Co) em fermentado de Jabuticaba, tipo Vinho Tinto, 2018, 76 p. Dissertação (mestrado em tecnologia Nuclear Aplicada) – Instituto de Pesquisa Energéticas Nucleares – IPEN – CENE/SP, São Paulo

A jabuticaba é uma fruta tropical, tipicamente brasileira, sendo originária da região centro-sul. Popularmente apreciada por suas características sensoriais *in natura*, é também utilizada em produtos como geleias, licores e bebidas fermentadas. Qualquer fruta que contenha níveis razoáveis de açúcar é possível de se produzir um bom vinho, com sabores característicos de cada fruta. Fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura. O objetivo deste trabalho foi de fabricar e irradiar vinhos de jabuticaba com radiação gama ($\text{Co}60$) para possível envelhecimento precoce. Para a fabricação do vinho as jabuticabas foram higienizadas com ácido Peracético PAC 200 e 24kg das frutas selecionadas foram prensadas até o rompimento das bagas. O mosto obtido juntamente com as cascas e sementes foram colocados em balde fermentador devidamente higienizados. O mosto foi tratado com 2,4g de metabissulfito de sódio e após alguns minutos foi adicionado 250g de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* do tipo Fleischmann e 2kg de açúcar para a correção dos sólidos solúveis. A fermentação ocorreu por 7 dias até que os sólidos solúveis estivessem próximos de zero. Depois o vinho foi filtrado e centrifugado para a retirada das leveduras e envasado em recipientes de vidro escuro sendo divididas em quatro tratamentos (controle e irradiados nas doses de 5; 10 e 15kGy) por período de armazenamento de 0, 60 e 120 dias após a irradiação, em triplicata. Realizou-se análises físico-químicas de sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total, acidez volátil, acidez fixa, teor alcóolico, teor de antocianinas, taninos e idade química e cinzas. Foi realizada análise para determinar o tipo de leveduras após a fermentação através da análise de PCR. Através dos resultados obtidos observa-se que para o teor alcóolico as três doses utilizadas diminuíram o teor alcóolico, mas que ao longo dos dias analisados todas as amostras se elevaram. A maioria dos padrões apresentaram-se dentro da legislação vigente, para quantificação de antocianina averiguou-se que quanto maior a dose aplicada maior a degradação das mesmas e também o mesmo se observa para o tempo analisado; para quantificação de taninos observou-se que o aumento da dose causa decaimento dos mesmos, e que ao longo do tempo a tendência dos mesmos é aumentar, seja irradiado ou não; para análise de idade química observou-se que aparentemente houve envelhecimento das amostras irradiadas, mas que o fator tempo é um grande interferente nos efeitos iniciais causados pela radiação e para análise de PCR nas leveduras chegou-se ao resultado que a levedura inicial utilizada possuía a mesma sequência de DNA da levedura colhida após o processo fermentativo. Portanto conclui-se que pelo comportamento observado através das moléculas de pigmentação que polimerizam com a irradiação características de envelhecimento o “vinho” tinto de jabuticaba sofreu envelhecimento, que as melhores doses foram a de 5 e 10kGy considerando todas as análises realizadas e as características adquiridas e que o tempo de 120 dias garantem a estabilidade necessária para esta bebida e que os padrões físico-químicos estão dentro da legislação.

Palavras-chave: irradiação, fermentado, jabuticaba, envelhecimento, padrão de qualidade

PIRES, Juliana A. *Effect of Gamma Radiation (^{60}Co) on Brazilian grape tree fermented, Red Wine type*. 2018, 76 p. Dissertação (mestrado em tecnologia Nuclear Aplicada) – Instituto de Pesquisa Energéticas Nucleares – IPEN – CENE/SP, São Paulo

ABSTRACT

Brazilian grape tree is a tropical fruit, typically Brazilian, originating in the south-central region. Popularly appreciated for its sensory characteristics *in natura*, it is also used in products such as jellies, liqueurs and fermented beverages. Any fruit that contains reasonable levels of sugar is possible to produce a good wine, with flavors characteristic of each fruit. Fermented fruit is a beverage with alcohol content of four to fourteen percent by volume, at twenty degrees Celsius, obtained by the alcoholic fermentation of healthy, fresh and ripe fruit must. The aim of this work was to brew and irradiate Brazilian grape tree wine with gamma radiation ($\text{Co}60$) for possible precocious aging. For the manufacture of the wine were, the Brazilian grape tree were sanitized with Peracetic acid PAC 200 and 24kg of the selected fruits were pressed until the breakage of the berries. The must obtained together with the peels and seeds were placed in fermenter bucket. The must was treated with 2.4 g of sodium metabisulfite and after a few minutes 250g of yeasts *Saccharomyces cerevisiae*, type Fleishmann, and 2kg of sugar were added to correct soluble solids. The fermentation occurred for 7 days until the soluble solids were close to zero. Then the wine was filtered and centrifuged to remove yeast and bottled in dark glass containers. The containers were divided into four treatment groups (control and irradiated at doses of 5, 10 and 15kGy) for a storage period of 0, 60 and 120 days after irradiation, in triplicate. Physicochemical analyzes were performed: total soluble solids (TSS), pH, total acidity, volatile acidity, fixed acidity, alcohol content, anthocyanin content, tannins, chemical age and ash. Analysis was performed to determine yeast type after fermentation by PCR analysis. From the results obtained, it can be observed that, for the alcoholic content, the three doses used decreased the alcohol content, but during the analyzed days all the samples increased. Most of the standards have been presented within the current legislation. For quantification of anthocyanin, it was found that the higher the dose applied the greater the degradation of the same and also the same is observed for the analyzed time. For anthocyanin quantification, it was found that the higher the dose applied the greater the degradation of the same and also the same is observed for the analyzed time. For tannins quantification, it was observed that the increase of the dose causes them to decay, and that over time the tendency of them is to increase, whether irradiated or not. For chemical age analysis, it was observed that there was aging of the irradiated samples, but that the time factor is a great interferent in the initial effects caused by the radiation. For PCR analysis in the yeasts it was found that the initial yeast used had the same yeast DNA sequence harvested after the fermentation process. Therefore, it was concluded that the behavior of the pigmentation molecules that polymerized with irradiation, characteristic of aged wines, the "red wine" of Brazilian grape tree was aged and considering all the analyzes performed and the characteristics acquired, that the best doses were 5 and 10kGy and that the time of 120 days guarantees the stability required for this drink and that physico-chemical standards are within the legislation.

Keywords: irradiation, fermented, Brazilian grape tree, aging, quality standard

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO	13
2.1 Objetivos específicos	13
2.2 Justificativa	13
3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	14
3.1 Jabuticaba	14
3.2 Vinho	15
3.2.1 Tipos de vinhos	15
3.2.2 Fermentados de frutas	17
3.3 Vinificação	18
3.3.1 Colheita	18
3.3.2 Esmagamento	19
3.3.3 Encubagem	19
3.3.3.1 Fermentação alcoólica	19
3.3.3.2 Maceração	20
3.3.4 Sulfitagem do mosto	20
3.3.5 Correção do mosto	21
3.3.6 Remontagem	22
3.3.7 Descuba	22
3.3.8 Prensagem dos bagaços fermentados	23
3.3.9 Trasega	23
3.3.10 Fermentação malolática	23
3.3.11 Clarificação do vinho	24
3.3.12 Envase	24
3.3.13 Envelhecimento	24
3.3.13.1 Envelhecimento em barris e barricas	25
3.3.13.2 Envelhecimento em garrafas	26
3.3.14 Conservação e armazenamento	26
3.4 Componentes do vinho	27
3.4.1 Açúcares	27
3.4.2 Álcoois	27
3.4.3 Ácidos orgânicos	28
3.4.4 Sais de ácidos minerais e orgânicos	29
3.4.5 Sólidos Solúveis	30
3.4.6 Compostos Fenólicos	30
3.4.7 Substâncias Nitrogenadas	32
3.4.8 Ésteres	32
3.4.9 Aldeídos e Cetonas	32
3.4.10 Vitaminas	33
3.4.11 Anidridos Sulfurosos	33
3.5 Irradiação	33
3.5.1 Radiação Gama	34
3.5.2 Cobalto 60	35
3.5.3 Legislação	36

3.5.4 Irradiação em bebidas	37
4. MATERIAIS E MÉTODO	40
4.1 Preparo do vinho	40
4.2 Irradiação dos vinhos	41
4.3 Tempo de armazenamento	41
4.4 Análises físico-químicas	42
4.4.1 Teor alcoólico	42
4.4.2 Acidez Total	42
4.4.3 Acidez volátil	42
4.4.4 Acidez Fixa	42
4.4.5 pH	43
4.4.6 Cinzas	43
4.4.7 Sólidos Solúveis	43
4.4.8 Antocianinas	44
4.4.9 Taninos	45
4.4.10 Idade química	45
4.5 Análise das leveduras por PCR	46
4.5.1 Preparo das leveduras	46
4.5.2 Caracterização molecular das cepas de leveduras coletadas	46
4.6 Análise estatística	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Potencial hidrogeniônico	49
5.2 Determinação de Acidez	50
5.2.1 Acidez Total	50
5.2.2 Acidez volátil	52
5.2.3 Acidez Fixa	54
5.3 Determinação do Teor Alcoólico	55
5.4 Determinação de Antocianinas	56
5.5 Determinação de Taninos Condensáveis	58
5.6 Determinação da Idade química	59
5.7 Determinação de sólidos Solúveis	62
5.8 Determinação de cinzas	63
5.9 Análise do tipo de levedura por PCR	64
6. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
APÊNDICE A	76

1. INTRODUÇÃO

A jabuticaba é uma fruta tropical, tipicamente brasileira, sendo originária da região centro-sul (SASSO; CITADIN; DANNER, 2010). Popularmente apreciada por suas características sensoriais *in natura*, mas também pela utilização em produtos processados como geleias, licores e bebidas fermentadas (MACHADO et al., 2013).

Apesar de a designação vinho referir-se segundo a Lei 5.823 de 14 de novembro de 1973 (BRASIL, 1988b) como “bebida proveniente da fermentação alcoólica de mosto de uva sã, fresca e madura”, é permitido realizar fermentação de outros tipos de frutas, pois segundo o Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009 que Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água (BRASIL, 2009).

Segundo Aquarone et al. (1990), era permitido até final da década de 90 a utilização do termo vinho para fermentados de frutas que não fosse uva desde que na rotulagem viesse o termo vinho e a fruta de que foi produzido.

Qualquer fruta que contenha níveis razoáveis de açúcar é possível de se produzir um bom vinho, com sabores característicos de cada fruta (CORAZZA; RODRIGUES; NOZAZI, 2001).

Como a jabuticaba é uma fruta com características físico-químicas parecidas com as uvas, como taninos e antocianinas presentes em suas cascas, porém em maior quantidade e presença de açúcares fermentescíveis, sendo passível de fermentação e de produção de um bom vinho (CORAZZA; RODRIGUES; NOZAZI, 2001; GUEDES, 2009; FORTES, 2012).

A qualidade do vinho muitas vezes depende da idade da bebida, vinhos comumente chamados de envelhecidos possuem características organolépticas diferenciadas, sua qualidade apresenta-se superior a de vinhos conhecidos como jovens. É no período de envelhecimento que os perfumes, as cores e os sabores fortemente característicos de determinado território, se revelam. Só o tempo permite que os precursores de aromas se convertam em perfumes e que o *bouque* se harmonize com o gosto (CALÓ et al., 2011).

O método mais utilizado para envelhecimento é realizado ao abrigo de oxigênio, conservando a bebida com precaução, para limitar ao máximo a dissolução de oxigênio, (HASHIZUME, 2001) podendo ser armazenados em garrafas ou em tonéis de madeira. Entretanto, atualmente pode-se utilizar o processo de irradiação com o mesmo fim. Várias são as razões para esse tipo de procedimento nos vinhos, entre elas estão: esterilização do mosto; mudanças das características sensoriais do vinho e aceleração do envelhecimento (URBAIN, 1986; SOUZA, 2006).

2. OBJETIVO

Fabricar e irradiar vinhos de jabuticaba com radiação gama (Co60) para possível envelhecimento precoce.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a possibilidade de envelhecimento através da variação de antocianinas, de taninos;
- Verificar a alteração na coloração da bebida.
- Verificar quais melhores doses para o intuito de envelhecimento.
- Averiguar qual melhor tempo de armazenamento para esse tipo de bebida
- Avaliar padrões de qualidade como as características químicas de pH, acidez, teor alcoólico, quantidade de sólidos solúveis dentro da legislação
- Averiguar a qualidade do vinho produzido com *Saccharomyces cerevisiae* comercial

2.2 Justificativa

Vinhos envelhecidos possuem melhor características de flavour, pois possuem características aromáticas, gustativas e olfativas, que as reações físico-químicas ocorridas após certo tempo proporcionam. O processo de irradiação pode reduzir o tempo necessário para que ocorram essas reações físico-químicas, dando ao produtor menor tempo entre a produção e a chegada do produto ao consumidor.

3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 Jabuticaba

A jabuticaba é uma fruta tipicamente brasileira, pertencente ao gênero *Myrciaria*. Dentre as espécies mais conhecidas destacam-se a *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. e a *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg. (VIEITES et al., 2011).

A cultivar mais difundida do Brasil é a jabuticaba Sabará, pertencente à espécie *M. jaboticaba* (Vell.) Berg., cujos frutos são apropriados tanto para a industrialização como para consumo *in natura*. Essa espécie possui grande potencial econômico de comercialização, devido às características sensoriais para consumo *in natura* e na fabricação de licores, vinhos e geleias (VIEITES et al., 2011).

Os compostos mais importantes presentes na jabuticaba são os polifenóis, mais conhecidos como compostos fenólicos. Estes podem variar de acordo com o cultivar, a variedade, estágio de maturação e também as condições climáticas. Na casca e na polpa são encontrados vários compostos fenólicos, entre eles os flavonoides, antocianinas, taninos e ácidos fenólicos (GUEDES, 2009). Estes são responsáveis pela proteção contra a luz, defesa contra microrganismos e insetos, pois a adstringência desses compostos apresenta-se como eficiente antiparasitário, além de serem responsáveis pela pigmentação e por características organolépticas (CALÓ et al., 2011).

As antocianinas são pigmentos pertencentes ao grupo dos flavonoides, responsáveis pelas tonalidades claras, rosa, vermelhas, roxa e azul (GUEDES, 2009). São substâncias sintetizadas nas células da casca, sendo que suas combinações são específicas em cada fruto (CALÓ et al., 2011).

A estrutura básica desse pigmento é constituída por dois anéis de benzeno ligado por um flavílio na região do terceiro carbono, geralmente glicosilado. As antocianinas podem interagir com outros compostos entre eles os flavonoides existentes na fruta e no vinho. Este fenômeno de co-pigmentação intermolecular é essencial para a modulação e estabilização da cor na bebida (LACAMPAGNE, 2010).

As jabuticabas apresentaram alta concentração de antocianinas, proporcionando aos indivíduos uma dieta rica em composto bioativo de importante função antioxidante (GUEDES, 2009).

Junto às antocianinas apresentam-se os taninos. Estes últimos são compostos fenólicos solúveis em água, resultante da polimerização de moléculas básicas com fenóis,

suas funções são semelhantes as funções das catequinas e epicatequinas. Eles são caracterizados pela sua capacidade de interagir com as proteínas (LACAMPAGNE, 2010).

Estes últimos são substâncias importantes na fabricação de vinho e responsável pelos aromas e durabilidade, provocam adstringência e contribuem para textura e confere rigidez aos frutos (GUEDES, 2009).

Devido às características sensoriais, aliada à necessidade de se ampliar a sua produção e consumo em diversos países, a jabuticaba pode ser utilizada para a produção de fermentados alternativos (GUEDES, 2009).

A quantidade e a relação que antocianinas e taninos apresentam entre si são responsáveis pela tonalidade e intensidade da cor do vinho (CALÓ et al., 2011).

3.2 Vinho

3.2.1 Tipos de vinhos

Há várias classificações para vinhos, de acordo com a Portaria n.º 229, de 25 de outubro de 1988, os vinhos se classificam como: vinhos de mesa, vinhos espumante, vinho licoroso, vinho composto. Enquanto os tipos se dividem em: tinto rosado e branco.

Contudo há outras classificações entre elas:

- Classificação geral: é a mais utilizada e a mais importante. Classifica os vinhos de acordo com sua forma de elaboração, abrangendo todos os tipos. Entre os mais importantes encontram-se: a) vinhos tradicionais e b) vinhos especiais (GUIA BÁSICA DE ENOLOGIA, s/d).
- Classificação por idade: esta baseia-se na diferença dos vinhos obtidas por seu tempo de repouso nas adegas antes de chegar ao mercado. Sendo classificados em: c) vinhos jovens, d) vinhos envelhecidos (GUIA BÁSICA DE ENOLOGIA, s/d).
- Classificação por grau de dulçor: a quantidade de açúcar nos vinhos determina sua classificação. Geralmente apresentam-se como vinhos generosos e espumantes. Os

mais importantes são: e) vinhos secos, semi secos, extra-seco, f) brut, g) vinhos suaves, h) vinhos doces, semi doces (GUIA BÁSICA DE ENOLOGIA, s/d).

a) Vinhos tradicionais: Seu teor alcoólico oscila entre 9° e 14,5°GL. Geralmente são secos e dentro desta classe destacam-se:

- Branco: vinho obtido a partir de uvas brancas. Também pode ser obtido através de uvas tintas que possuam uma polpa sem coloração e no processo fermentativo se separa as cascas do mosto (GUIA BÁSICA DE ENOLOGIA, s/d)
- Tinto: vinho obtido a partir de uvas tintas e durante o processo não se separa as cascas do mosto (GUIA BÁSICA DE ENOLOGIA, s/d)
- Rosê: vinho obtido a partir de uvas tintas, mas que durante o processo parte das cascas foram separadas do mosto. Também podem ser feitos através da mistura de uvas tintas com uvas brancas (GUIA BÁSICA DE ENOLOGIA, s/d).

b) Vinhos especiais: São elaborados com variedades de uvas *Vitis vinífera* e outras uvas híbridas e/ou americanas até o máximo de dois quintos (DORNELES, 2003).

Alguns tendem a ser doces ou semi-doces, poucos são secos e frequentemente possuem elevado teor alcoólico, que em muitos casos é devido à adição de açúcar.

c) Vinhos Jovens: São os vinhos que não descansaram em madeira ou descansaram por pouco tempo. Conservam as características das uvas varietais e de consumo ideal entre 12 e 24 meses depois da vindima. É frequente encontrar os três tipos (branco, rosê e tinto) em vinhos jovens (DORNELES, 2003).

d) Vinhos envelhecidos: São vinhos que passaram um período entre a madeira e a garrafa. Possuem características acentuadas das uvas varietais e também características organolépticas devido ao período de envelhecimento (DORNELES, 2003).

O consumo ideal para este tipo de vinho varia, pois depende de vários fatores. No geral o prazo é maior que em vinhos jovens, normalmente entre 3 e 10 anos, sendo que alguns conseguem chegar aos 20 anos. Os vinhos deste tipo são tintos em sua maioria, podendo ser encontrados também brancos e mais raramente rosês (GUERRA et al., 2009).

e) Vinhos secos, semi-secos e extra-secos: São considerados vinhos leves, de mesa, frisantes ou finos com baixos teores de açúcar (DORNELES, 2003 e GUERRA et al., 2009).

- Secos: com até 4g/L de açúcar
- Demi-sec ou semi-seco: com teor superior a 4 e até 25 g/L de açúcar
- Extra-seco: com teor inferior à 4g/L de açúcar

f) Vinho brut e extra-brut: São vinhos espumantes naturais ou gaseificados geralmente com baixo teor alcoólico (DORNELES, 2003; GUERRA et al., 2009)

- Brut: com teor superior a 8 e até 15 g/L de açúcar
- Extra-brut: com teor superior a 3 e até 8 g/L de açúcar

g) Vinhos suaves: São vinhos do tipo leves, de mesa, frisantes, finos, com teores de açúcar maiores que 25 g/L de açúcar médios (DORNELES, 2003; GUERRA et al., 2009).

h) Vinhos doces e semi-doces: São vinhos do tipo licorosos, espumantes naturais ou gaseificados, com média graduação alcoólica para os primeiros e baixa para os dois últimos (DORNELES, 2003).

3.2.2 Fermentados de frutas

De acordo com Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009 que Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, na seção III, art nº 44, fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água” (BRASIL, 2009).

Sendo descrito no § 1º do mesmo artigo, “o fermentado de fruta, durante o processo de fermentação, poderá ser adicionado de açúcares em quantidade a ser disciplinada para cada tipo de fruta” (BRASIL, 2009).

Segundo a Instrução normativa Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012 Art. 4º “A bebida fermentada deverá ser obtida da fermentação do suco de uma única fruta, ou seja, a partir do suco de maçãs ou do suco de cajus ou do suco de jabuticabas e nunca do suco obtido da mistura de frutas diferentes,

3.3 Vinificação

A vinificação para vinhos tradicionais segundo SANTOS et al., (2007), consistem dos seguintes estágios:

- Colheita;
- Esmagamento;
- Encubagem, parte correspondente a fermentação alcoólica principal ou tumultuosa e a maceração;
- Descuba e fermentação complementar;
- Prensagem de bagaços fermentados;
- Sulfitagem do mosto;
- Remontagem;
- Fermentação malolática;
- Sulfitagem do vinho;
- Trafegas;
- Envelhecimento.

Segundo FORTES (2012), o mesmo procedimento pode ser aplicado à vinificação de jabuticabas.

3.3.1 Colheita

Esta é uma das etapas mais importantes, pois a fruta deverá ser colhida no ponto certo de maturação. O ponto ideal é quando a quantidade de sólidos solúveis estiver em alta concentração, e a fruta tiver substituído toda a clorofila por antocianina (FORTES, 2012).

3.3.2 Esmagamento

Consiste em liberar o suco contido na polpa sem triturar as partes restantes da fruta. Possui como finalidade liberar o suco contido na polpa e facilitar a dissolução das substâncias responsáveis pela coloração durante a etapa de maceração (GUERRA et al., 2009).

3.3.3 Encubagem

3.3.3.1 Fermentação alcoólica

É o processo de transformação dos açúcares de cadeia simples contidos na fruta, por leveduras em etanol, dióxido de carbono (CO₂) e subprodutos, como glicerol, acetaldeído, ácido acético etc., sendo estes últimos contribuintes importantes para o sabor da bebida (HASHIZUME, 2001 e GUERRA et al., 2009).

As leveduras do gênero *Saccharomyces* são as principais responsáveis por metabolizar açúcar (glicose e frutose) em etanol e dióxido de carbono. São microrganismos aeróbicos facultativos, possuindo, portanto a habilidade metabólica de se ajustar em meios ricos em oxigênio, ou em ausência do mesmo. Sendo assim os produtos finais da metabolização das leveduras dependerá do meio em que se encontra. A conversão de açúcar em etanol ocorre em meio anaeróbio, enquanto o CO₂ e H₂O são convertido em meios aeróbio. Entretanto o objetivo primordial das leveduras é metabolizar anaerobicamente a glicose, pois é neste processo que há a geração de energia, esta com fins de trabalhos fisiológicos, além de biossíntese, necessária para manutenção da célula, crescimento e multiplicação, para perpetuar a espécie (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

A fermentação alcoólica de açúcares, de acordo com Hashizume (2001), o álcool etílico e gás carbônico são produzidos em proporções equimolares, de acordo com a equação de Gay – Lussac (equação 1):

De acordo com GUERRA (2009), no caso da fabricação de vinhos tintos, esta etapa se divide em duas fases: tumultuosa e lenta.

- Fermentação tumultuosa

Caracteriza-se pela grande atividade das leveduras, gerando a elevação da temperatura e grande liberação de gás carbônico. Este último empurra as partes sólidas para a superfície da dorna formando o “chapéu” de bagaço.

- Fermentação lenta

Na fase lenta a intensidade da fermentação diminui gradativamente, devido à diminuição do teor de açúcar e aos teores crescentes de álcool, que limitam o desenvolvimento das leveduras.

De acordo com RIZZON e MANFROI (2010), o processo fermentativo é iniciado adicionando-se 20g/hL de levedura seca à mistura, sendo cada hectolitro (hL) corresponde à 100L. A levedura mais usada é a espécie *Saccharomyces cerevisiae*. É necessário, devido ao estado que ela está sendo utilizada, hidratá-la com água morna a 35°C em proporção de dez vezes o seu peso. Para a distribuição uniforme das células de levedura é necessário fazer o processo de remontagem. A fermentação alcoólica é analisada pela determinação da densidade e do teor de açúcar do mosto, no mínimo, duas vezes ao dia. A temperatura deve permanecer entre 25°C a 30°C, para favorecer a extração dos compostos fenólicos.

3.3.3.2 Maceração

A maceração consiste em impregnar a polpa de taninos e antocianinas provenientes da casca da fruta; e de aromas e cor. Esta é possível deixando as cascas da fruta em contato com o mosto durante a fermentação alcóolica (TAPIA, 2009).

3.3.4 Sulfitagem do mosto

O metabissulfito de potássio é um sal de coloração branca, solúvel em água e que libera o dióxido de enxofre (SO₂). A utilização do gás sulfuroso é de fundamental

importância na elaboração de vinhos, sendo empregado em estabelecimentos vinícolas devido a sua capacidade antioxidante e bactericida (RIZZON; ZANUZ; MANFREDINI, 1994).

No mosto ocorre um equilíbrio entre as várias formas químicas do produto, sendo o SO₂ a forma mais eficaz no controle do crescimento de leveduras e bactérias. A eficácia depende da quantidade de açúcar, de acetaldeído, do pH e da temperatura do mosto e do vinho em elaboração. Ao longo da vinificação, fazem-se novas sulfitagens, visando corrigir os teores de SO₂, uma vez que diminuem por evaporação ou por reações químicas (GUERRA et al. 2009).

As principais propriedades do dióxido de enxofre, ainda segundo o mesmo autor, são:

- ação seletiva sobre as leveduras
- ação anti-oxidante
- ação anti-oxidásica
- ação reguladora da temperatura
- ação clarificante
- ação conservante

3.3.5 Correção do mosto

A correção do mosto é feita, devido a fatores climáticos, quando a fruta não atinge maturação completa. No Brasil é comum usar-se de dois tipos de correção: a chaptalização e a desadificação (HASHIZUME, 2001).

A chaptalização é a prática que consiste na correção da deficiência de açúcar da fruta com sacarose. Para esta correção, é necessário fazer análises de açúcar e álcool. A média calculada é de 1,8 kg de açúcar por hL de mosto para elevar 1° GL. Recomenda-se utilizar pouca quantidade de açúcar refinado diluído em mosto e efetuar esse tipo de correção entre o segundo e o terceiro dia de fermentação, para melhorar a homogeneização (RIZZON e MIELE, 2005).

De acordo com HASHIZUME (2001), há outra maneira de corrigir o mosto, adicionando-se ao mesmo, pouca quantidade de mosto concentrado. Este tipo de correção recebe o nome de desadificação. Entretanto é necessário que o mosto concentrado seja da

mesma variedade da fruta utilizada que compõe o mosto a ser corrigido, para que não haja enriquecimento em acidez.

3.3.6 Remontagem

Após alguns dias começa a formação e desprendimento de CO₂, o qual é responsável por manter cascas e sementes na superfície, formando o que se conhece popularmente como “chapéu”. Como esta camada não está em contato com a polpa, isto impede a maceração, sendo assim é necessário que se faça a remontagem (TAPIA, 2009).

Esta etapa é realizada com auxílio de uma bomba, que fará o mosto de cima misturar-se ao mosto que está em baixo, essa circulação permite extrair os componentes sólidos da fruta, homogeniza a massa em fermentação, controla a temperatura e evita o desenvolvimento de microrganismos (RIZZON e MANFROI, 2010).

3.3.7 Descuba

Esta etapa consiste da separação da parte sólida (cascas e bagaço) da parte líquida. Depois de retirada as partes sólidas a fermentação continua, os últimos traços de glicose são transformados em etanol e demais substâncias resultantes da fermentação. Os açúcares que ainda restam são normalmente pentoses, as quais são mais fermentescíveis. É após essa fermentação complementar que o mosto é transformado totalmente em vinho (SASSO; BASSIN; RONCHI, 2010).

É nessa fase que se deve tomar o máximo de cuidado com a temperatura, desprendimento de dióxido de carbono (CO₂) e controle do nível de sólidos solúveis, sendo o principal o açúcar. O término da fermentação ocorre quando o desprendimento de dióxido de carbono acaba e o teor de açúcar total estiver abaixo de 3g/L (RIZZON e MANFROI, 2010).

3.3.8 Prensagem dos bagaços fermentados

Após a descuba realiza-se a prensagem das partes sólidas extraíndo-se mais vinho retido nos interstícios das mesmas. Esta operação pode aumentar o rendimento em 10 a 15%. Contudo o produto obtido possui qualidade um pouco inferior devido à liberação de vários compostos de modo não seletivo (GUERRA et al., 2009).

Através de uma prensagem leve obtém-se um produto próximo do vinho normal que pode ser adicionado ao mesmo aumentando seu volume. Já uma prensagem severa resultará em produto de qualidade mais inferior e é destinado à elaboração de vinhos de segunda categoria ou destilados (GUERRA et al., 2009).

3.3.9 Trasega

É a etapa de transferência do vinho para outro recipiente com o objetivo de separar os sólidos insolúveis sedimentados no fundo (borra) devido ao final da fermentação. E também para aerar o vinho reequilibrando seu potencial de oxi-redução (GUERRA et al., 2009).

3.3.10 Fermentação malolática

Através de bactérias lácticas o ácido málico é convertido em ácido láctico, processo que beneficia o vinho fornecendo a ele maior complexidade aromática e suavidade gustativa (GUERRA et al., 2009).

Segundo o mesmo autor esse processo inicia-se ao final da fermentação alcoólica, quando a autólise das leveduras se intensifica. Pode ocorrer de forma espontânea ou através da inoculação de bactérias lácticas ao vinho.

3.3.11 Clarificação do vinho

A clarificação é a operação que possui a finalidade de eliminar todas as substâncias em suspensão e outras em dissolução existentes nos vinhos, para torná-los límpidos e cristalinos (SANTOS et al., 2007).

Esta etapa é dividida em colagem e filtração do vinho, sendo a primeira descrita por HASHIZUME (2001), como sendo a adição de produtos clarificantes, responsáveis pela coagulação e floculação. Os flocos formados sedimentam e arrastam partículas que geram a turbidez e clarificam. Os produtos usados nesta etapa, normalmente são de origem proteica.

A filtração é uma técnica de clarificação que consiste em passar o vinho turvo através de uma camada ou meio filtrante, com porosidade reduzida. Há vários tipos de filtros, entretanto todos são baseados ou no processo de adsorção ou no processo de tamisação (SASSO; BASSIN; RONCHI, 2010).

3.3.12 Envase

O envase é feito através do enchimento das garrafas com certa quantidade de vinho, deixando um espaço vazio devido à dilatação e para aplicar o sistema de vedação (RIZONN e MENEGUZZO, 2010).

3.3.13 Envelhecimento

Vinhos jovens possuem cor profunda, quase tinta, grande corpo e taninos firmes e potentes, que causam adstringência provocando momentaneamente a perda do poder lubrificante da saliva ao entrar em contato com as enzimas da saliva (SANTOS et al., 2007). Já vinhos envelhecidos possuem aspectos menos intensos, com cores alaranjadas, são mais suaves na boca, menos encorpados e mais delicados (TAPIA, 2009).

As antocianinas são os componentes responsáveis pela coloração características das frutas como uvas e jabuticabas, encontram-se nas cascas e tingem o mosto durante a maceração (TAPIA, 2009).

Em vinhos jovens as moléculas de antocianinas encontram-se ligadas as moléculas de taninos, formando cadeias estáveis em meios líquidos, responsáveis pela fixação da cor. À medida que o tempo passa a cor se transforma. A polimerização molecular (formação de cadeias de moléculas) tem a ver com as mudanças na coloração dos vinhos ao longo do tempo (TAPIA, 2009).

Devido à quantidade mínima ou quase nula de oxigênio que penetra pela rolha, as cadeias moleculares tornam-se maiores e caem por seu próprio peso, formando sedimentos. Esse fenômeno é responsável não só pela falta de cor intensa em vinhos envelhecidos como também pelos depósitos de intensa cor púrpura, que se formam no fundo das garrafas (TAPIA, 2009).

3.3.13.1 Envelhecimento em barris e barricas

Barris e barricas são constituídos de madeira de carvalho diferenciando-se em tamanho e o efeito produzido no vinho (CALÓ et al., 2011).

De acordo ainda com os mesmos autores, as barricas são de menor diâmetro e volume que os barris. Nelas o oxigênio penetra pelas aduelas (2,5cm), mudando sua própria configuração química, quando chega ao vinho desencadeia uma série de reações que fazem com que as antocianinas responsáveis pela cor vermelha, se liguem aos taninos (polifenóis), compostos que garantem a preservação do vinho ao longo do tempo. Devido a essas reações os vinhos tornam-se mais escuros, mais suaves, de cores mais intensas e estáveis, enquanto que o gosto fica enriquecido por substâncias oriundas da madeira, principalmente polissacarídeos que conferem ao sabor o tão valorizado toque aveludado.

Entretanto, pelo tamanho das barricas, geralmente 225 L, a bebida entra em contato com uma maior área de superfície da madeira, o que gera maior absorção das várias substâncias da madeira, pelo vinho. Assim sendo confere-se a bebida sabores e aromas, como a baunilha, que não possuem tanta combinação com o vinho, o que pode fazer com que a bebida perca sua identidade de seu território de origem e passe ter mais características da madeira, a qual muitas vezes não se sabe de onde provém (CALÓ et al., 2011).

Os barris possuem maior diâmetro e volume que as barricas, chegando muitas vezes a ter mais de 2250 L, e maiores aduelas (7 cm), portanto o oxigênio possui maior

difficuldade de penetrar, fazendo com que as reações ocorram mais entre taninos e taninos, que unem-se uns com os outros e ao atingirem determinado tamanho precipitam. Ao perder as moléculas mais reativas e adstringentes, o vinho talvez se torne menos complexo do que o maturado em barricas, mas conserva uma personalidade mais autêntica, dado o limitado contato com a madeira (CALÓ et al., 2011).

3.3.13.2 Envelhecimento em garrafas

Este tipo de envelhecimento é explicado pelo fenômeno inverso à oxidação. Este pode ser verificado medindo o potencial de oxirredução, que atinge seu valor mínimo na garrafa após vários meses (HASHIZUME, 2001). É este processo também o responsável pelas transformações, nas quais os taninos fortes e adstringentes passam a ser suaves ou comumente chamados de “aveludados”, transmitindo assim, a característica de “macio” e fácil de degustar (SANTOS et al., 2007).

É necessário evitar o máximo possível o contato com o oxigênio externo. Para isso, as garrafas devem ser armazenadas deitadas, posição na qual a rolha de cortiça é umedecida e intumescida (HASHIZUME, 2001).

3.3.14 Conservação e armazenamento

A conservação de vinhos se dá à temperatura entre 10°C e 15°C. Um ambiente um pouco mais frio não acarreta problemas, entretanto se a temperatura estiver próxima de 20°C, a maturação poderá acelerar e o vinho envelhecer precocemente. Também se tem como fator crítico além da temperatura a umidade, esta deverá estar entre 70 a 75%. Apesar do vidro da garrafa garantir um isolamento, a rolha da garrafa em sua delicadeza já não o faz, quando exposta a ambiente muito seco, fica ressecada e permite a passagem de oxigênio para dentro da garrafa. Também é por este motivo que a garrafa deve ser armazenada em posição horizontal nas prateleiras, pois assim a rolha mantém sua integridade mantendo-se entumescida e com maior volume, impedido a maior parte do oxigênio de entrar na garrafa (CALÓ et al., 2011).

A luz também é fator interferente no vinho, sendo assim ele deve ser armazenado no escuro, evitando o máximo possível de luz, ascendendo-a somente quando indispensável (CALÓ et al., 2011).

3.4 Componentes do vinho

As principais substâncias que compõe os vinhos de acordo com HASHIZUME (2001) são: açúcares, álcoois, ácidos orgânicos, sais de ácidos minerais e orgânicos, compostos fenólicos, substâncias nitrogenadas, ésteres, aldeídos, cetonas, vitaminas e anidridos sulfurosos.

3.4.1 Açúcares

Os açúcares predominantes na uva são a glicose e a frutose, açúcares redutores constituídos de seis carbonos e hidroxilas oxidáveis. Estão presentes nas frutas e encontram aproximadamente na mesma concentração, em torno de 10g/100g de suco em ambos os casos. Em algumas variedades de *V. labrusca* se encontram pequenas quantidades de sacarose e outros açúcares, sendo o primeiro representado por 0,2 a 1g/100g (DORNELES, 2003).

3.4.2 Álcoois

O álcool etílico, após a água, é o constituinte mais importante do vinho. Sendo a média do grau alcoólico destas bebidas entre 9 a 15°GL, o que representa 72 a 120g/L. Desse total, cerca de 0,5% são representados por outros álcoois como o metílico, isobutílico, isoamílico, hexílico, feniletílico, etc (BLASI, 2004).

O glicerol é outro componente importante dos vinhos, perdendo apenas para o álcool etílico. Seu teor depende da concentração de açúcar inicialmente no mosto, assim como a espécie de levedura utilizada e as condições da fermentação. Sua proporção é de 5

à 10g/L. O glicerol também é responsável pelo sabor adocicado e a maciez do vinho (BLASI, 2004).

O metanol é outro álcool importante que pode ou não estar presente na composição do vinho. Ele é proveniente da hidrólise da pectina e seu teor varia de 0 a 635mg/L, com a média de 100mg/L. Vinhos obtidos com uvas da variedade *Vitis labrusca* ou seus híbridos apresentam maior teor em metanol que os de variedade *Vitis vinifera* (HASHIZUME, 2001; BLASI, 2004).

Grau alcoométrico do vinho é dado em volumes de álcool por 100 volumes de vinho (% vol.), calculado através da relação entre o volume de álcool contido na bebida, à temperatura média de 20°C, e o volume total do vinho (BLASI, 2004).

De acordo com a Lei nº 7.678, de 08 de Novembro de 1988 Art. 9º, “vinho de mesa é o vinho com teor alcoólico de 8,6% (oito inteiros e seis décimos por cento) a 14% (catorze por cento) em volume, podendo conter até uma atmosfera de pressão a 20°C (vinte graus Célsius)”, (Redação dada pela Lei nº 10.970, de 2004).

3.4.3 Ácidos orgânicos

Os principais ácidos orgânicos de vinhos, de acordo com HASHIZUME (2001), são provenientes de duas fontes distintas: uvas e processo fermentativo. Nas uvas são: ácido D-tartárico, L-málico e L-cítrico. Já na fermentação são eles: ácido succínico, láctico e acético.

- Ácido tartárico

É o ácido específico da uva e do vinho. Sua concentração situa-se entre 2 a 5g/L. Representa cerca da terça parte ou quarta parte dos ácidos dos vinhos. É também o ácido mais forte, portanto o que libera mais íons H⁺. O pH do vinho depende muito de seu teor. Também é o mais resistente entre os ácidos da uva à ação de decomposição pelas bactérias (HASHIZUME, 2001; BLASI, 2004).

- Ácido hidroxibutanodióico

Comumente conhecido como ácido málico é o mais abundante no reino vegetal, podendo ser encontrado nas folhas e nos frutos. E ao contrário do ácido tartárico ele demonstra ser fraco e é facilmente metabolizado. Os sais provenientes do ácido

hidroxibutanodióico são todos solúveis no mosto e no vinho. Durante o processo fermentativo este componente é completamente fermentado pelas bactérias lácticas que o transformam em ácido láctico e gás carbônico (BLASI, 2004).

- Ácido cítrico

O ácido cítrico é pouco abundante na uva, cerca de 150 à 300mg/L. Ele é transformado em ácido málico durante a maturação e ainda fermentado pelas bactérias lácticas, desaparecendo do vinho (HASHIZUME, 2001).

- Ácido butanodióico

Este é produzido na fermentação alcoólica. Conhecido como ácido succínico, seu teor no vinho é de 0,5 a 1,5g/L. Trata-se de um ácido bastante estável em relação às fermentações bacterianas. (BARNABÉ, 2006).

- Ácido etanóico

Comumente conhecido como ácido acético é o principal componente da acidez volátil. Ao destilar o vinho, este ácido volatiliza-se e é recolhido no condensado, o que não ocorre com os ácidos fixos (málico, tartárico, láctico e succínico). No vinho sadio ele é encontrado em teor entre 0,20 a 0,48g/L (BLASI, 2004; BARNABÉ, 2006).

3.4.4 Sais de ácidos minerais e orgânicos

Cinzas são os resíduos obtidos após a incineração do alimento, causando a completa destruição da matriz orgânica. A determinação de cinza totais nos alimentos permite calcular o valor nutritivo de um alimento, como também fornece as informações necessárias para o conhecimento de seu conteúdo em minerais, além de ser o primeiro passo para as posteriores análises de caracterização desses minerais (ONG, 2010).

Através da análise do teor de cinza nos vinhos obtêm-se os parâmetros de caracterização química dos mesmos, permitindo indiciar práticas fraudulentas como o aguamento, a aguardentação e a adição de substâncias minerais com vista a dissimular outro tipo de fraudes (TAVARES e SILVA, 2010).

3.4.5 Sólidos Solúveis

Sólidos solúveis indicam o amadurecimento da uva e sua potencial produção de álcool, além de permitirem controlar a taxa de fermentação e proporcionarem um índice relativo do conteúdo de açúcares nas misturas (DORNELES, 2003).

Internacionalmente, os sólidos solúveis se expressam utilizando as escalas °Brix, °Balling, °Baurné ou °Oeschle. Os sacarômetros que medem °Brix ou °Balling estão calibrados para determinar concentrações de sacarose em gramas por 100gramas de solução. Entre os procedimentos densimétricos utilizados para medir os sólidos solúveis em laboratório, estão a hidrometria e a refratometria (DORNELES, 2003).

3.4.6 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal. Entre as frutas, a uva é uma das maiores fontes do mesmo (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

Estes apresentam grande importância, pois são responsáveis pela cor e grande parte do sabor dos vinhos. Devido a grandes quantidades destes nos vinhos tintos, há uma diferença acentuada entre eles e os vinhos brancos. (HASHIZUME, 2001).

Os compostos fenólicos presentes no vinho são constituídos de cinco grupos diferentes: antocianinas, flavonas, fenóis-ácidos, taninos condensados e taninos hidrolisáveis (MALCRIDA e MOTTA, 2005).

- Antocianinas

São matérias cujo teor nos vinhos jovens é de 200 a 500mg/L. Também são denominadas de heterosídeos quando suas moléculas contém uma ou duas moléculas de glicose. Durante o envelhecimento liberam a glicose (HASHIZUME, 2001).

De acordo com LACAMPAGNE (2010) as antocianinas possuem estrutura de base constituída de dois ciclos de benzeno conectados por um íon flavilium geralmente glicolizado em C3. As cinco antocianinas, agliconas, encontradas nos gênero *Vitis* são a malvidina, a paeonidina, a delfinidina, a petunidina e a cianidina, que se diferenciam por seu grau de hidroxilação e metilação do anel benzênico. A porção aglicona é o cromóforo do pigmento. As antocianinas são esterificadas por açúcares na posição R3, ou R5, seus próprios açúcares são esterificados na posição 5 por ácidos alifáticos (ácido acético) ou

aromáticos. A glicolização e a metilação participam da estabilização protegendo-as da oxidação.

As antocianinas em meio ácido, possuem vermelho como cor predominante, com variações, devido a cada estrutura química. Vinhos jovens, portanto, apresentam sua cor característica em função dos pigmentos e do pH ácido da bebida (BLASI, 2004).

- Flavonas

São de coloração amarela, cujo teor no vinho é bem reduzido. O representante mais importante desse grupo é o quercitrosídeo. Acreditava-se antigamente, que este componente era o responsável pela cor amarelada do vinho branco (HASHIZUME, 2001).

- Taninos

Os taninos são compostos fenólicos solúveis em água resultante da polimerização das moléculas elementares possuindo fenóis como catequina e epicatequina (LACAMPAGNE, 2010).

Segundo HASHIZUME (2001), podem ser divididos em dois grupos: os a) condensados e b) hidrolisáveis

a) Taninos condensáveis

São constituídos por unidades flavonoides, com diferentes graus de condensação, sendo moléculas bastante resistentes a degradação microbiológica. Sua estrutura polimérica se constitui de catequina, de leucocianidina (MACEDO, 2015)

Esses tipo de taninos provenientes das sementes, película ou casca, engaço da uva e estão presentes na fruta da jabuticabeira (HASHIZUME, 2001 e FORTES, 2012). Ocorrem nos vinhos tintos de 1 a 3g/L, já nos vinhos brancos aparecem somente algumas dezenas de miligramas. A adstringência deste composto é relacionada com seu grau de polimerização (BARNABÉ, 2006).

b) Taninos Hidrolisáveis

São compostos por grupos de ácido gálico ou elágico e possuem um núcleo de glicose, no entanto pode ser constituído por outros açúcares (MACEDO, 2015).

Ainda segundo o mesmo autor, por terem em sua constituição ácido gálico algumas de suas propriedades são aletradas, como adstringência, facilidade de ocorrer hidrólise das ligações com ésteres e a reatividade de grupos hidróxi-fenólicos

Taninos desse tipo não existem na uva, mas existem na jabuticaba. Sua presença no vinho provém do uso de barril no processo de envelhecimento, por contato da madeira com

a bebida. Outra possibilidade é o emprego de tanino comercial na bebida, processo chamado taninagem (HASHIZUME, 2001; BARNABÉ, 2006).

3.4.7 Substâncias Nitrogenadas

Existem no vinho de 1 a 3g/L de substâncias nitrogenadas. Sua importância no gosto é reduzida, porém são substâncias nutritivas indispensáveis a leveduras e bactérias. Entre elas estão as proteínas, os polipeptídeos e os aminoácidos. As proteínas nos vinhos brancos novos provocam a turbidez. Elas podem ser precipitadas pela ação do calor e de tanino (HASHIZUME, 2001; BARNABÉ, 2006).

3.4.8 Ésteres

A significância de ésteres no aroma e no buquê de vinho é bastante controversa. Assim, uma quantidade elevada de acetato de etila proporciona uma imagem de produto deteriorado ou acetificado, embora não o seja. Em baixa concentração, é considerado como constituinte favorável ao aroma. Além deste, outros ésteres são importantes, tais como: laurato de etila, butanoato de etila, acetato de amila, acetato de pentila e acetato de hexila (JACKSON, 2000; HASHIZUME, 2001; BARNABÉ, 2006).

3.4.9 Aldeídos e Cetonas

O teor de acetaldeído, na visão de HASHIZUME (2001), indica o grau de aeração a que foi submetido o vinho. Vinho branco com mais de 100mg/L indica que foi arejado ou oxidado, já no tinto sua concentração é bem mais reduzida que no branco, normalmente menos de 50mg/L, e se deve à presença de tanino e antocianinas.

As principais cetonas encontradas no vinho são: acetona, acetoína, diacetil, butilolactona. O teor de diacetil pode ser superior a 3mg/L, mas quando ultrapassar a 4mg/L torna-se indesejável. A acetona é encontrada normalmente no vinho de 3,0 a 31,8mg/L (HASHIZUME, 2001).

3.4.10 Vitaminas

As vitaminas encontradas no vinho, segundo HASHIZUME (2001), contribuem de uma forma bem modesta na ração alimentar.

Os teores médios por litro de vitaminas no vinho tinto são: 0,10mg de tiamina B₁; 0,18mg de riboflavina B₂ ; 0,98mg de ácido pantotênico; 1,89mg de nicotinamida PP; 0,47mg de piridoxina B₆; 334mg de mesoinositol; 2,1mg de biotina H; 0,06mg de cobalamina B₁₂ ; 10 mg de ácido nicotínico; 0,074 mg de ácido p-aminobenzóico; 2,4mg de ácido pterolglutâmico e 0,33g de inositol (PEYNAUD, 1961 apud HASHIZUME, 2001).

3.4.11 Anidridos Sulfurosos

O anidrido sulfuroso (SO₂) é um produto indispensável na elaboração de vinho. O seu limite de uso varia de acordo com a legislação de cada país. No Brasil, seu emprego é permitido até 350mg/L como SO₂ total. O parâmetro de SO₂ livre foi abolido na legislação brasileira, bem como em muitos outros países. Todavia, seu papel é muito importante (HASHIZUME, 2001).

O anidrido sulfuroso pode ser empregado na forma líquida, que se gaseifica no momento de uso ou em forma de sais como metabissulfito de potássio. Entretanto, não existe diferença, pois ambas as formas são solúveis no mosto ou no vinho e atuam da mesma forma com a mesma eficiência (HASHIZUME, 2001).

O SO₂ apresenta caráter redutor. Ele atua sobre os microrganismos que se desenvolvem no vinho, sendo nocivo para todos, mas em grau diferente. Sendo assim, em função dessa propriedade e da dose empregada, age como elemento seletivo dos microrganismos. Por causa dessa característica, até o presente não existe outro produto que possa substituí-lo (HASHIZUME, 2001).

3.5 Irradiação

Os estudos com irradiação atualmente se concentram na indústria alimentícia, principalmente para alimentos em que o calor é inviável para sua conservação. A irradiação é, entre todos os processos de conservação, a que tem sido mais investigada (HARDER, 2009).

As radiações nucleares são emitidas por um elemento radioativo ou em forma de partículas, como alfa e beta, ou por radiação gama. Esta última é a mais utilizada para conservação alimentícia e para envelhecimentos em bebidas como vinhos e cachaças. Sendo mais comum, para estes fins, a utilização do isótopo Co60 (Cobalto-60) como fonte desta radiação (MEDEIROS, 2004; LEITE, 2006).

As doses de radiação são quantificadas em termos de energia absorvida pelo produto irradiado. A unidade geralmente utilizada é Gray (Gy) ou kilogray (kGy), onde 1 Gray é igual a 1 Joule de energia absorvida por quilograma de produto irradiado (KOVÁCS e KERESZTES, 2002).

Com intuito de envelhecimento do vinho, as doses utilizadas podem estar num intervalo de 1,0kGy à 6,0kGy, variando de acordo com o vinho a ser irradiado (URABAIN, 1963; HASHIZUME, 1977 apud SOUZA, 2006).

3.5.1 Radiação Gama

A descoberta dos raios gama ocorreu em 1900 pelo físico e químico francês Paul Villard quando estudava a radiação emitida por uma amostra de rádio. Nesse experimento Villard emitiu radiação em uma placa fotográfica revestida finamente por uma camada de chumbo, apenas o suficiente pra barrar partículas α (alfa). Ele observou que dois tipos de radiação diferentes atravessavam a fina camada de chumbo. Um tipo era defletido quando submetido a um campo magnético, ou seja, era a radiação β (beta) descoberta um ano antes pelo também físico e químico Ernest Rutherford. Enquanto o outro tipo não sofria nenhuma deflexão, indicando possível ausência de carga elétrica. Villard também observou que esta radiação possuía poder penetrante muito superior à radiação alfa e beta. Apesar de seus estudos, foi Rutherford em 1903 dando continuidade a descoberta de Villard, que

identificou a radiação como o terceiro tipo de radiação decorrente do decaimento radioativo e designando-a por radiação gama (LIMA, 2014).

Os raios gama são um tipo de radiação eletromagnética produzida em processos de decaimento nuclear. São altamente energético devido à sua elevada frequência e, consequentemente, baixo comprimento de onda. Sua frequência situa-se acima de 10^{19} Hz, o que implica comprimentos de onda abaixo de 10-12 m e energias acima de 0,1 MeV (a energia da radiação visível oscila entre 1 e 4 eV, cerca de 50 000 vezes menor) (LIMA, 2014).

Este tipo de radiação viaja a 3000.000Km/s, ou seja, a velocidade da luz, pois possui a mesma natureza da luz visível. Ela é altamente penetrante, devido à ausência de massa, de carga elétrica positiva e negativa e por não ser uma partícula. Seu poder de ionização pode ser inferior aos das partículas alfa e beta, mas os danos causados por suas ionizações podem ser maiores, comparando-os aos destas partículas. São consideradas radiações ionizantes aquelas que possuem energia suficiente para atravessar a matéria e remover elétrons, ionizando os átomos e moléculas (MEDEIROS, 2004; LEITE 2006).

Radiação ionizante quando absorvida por materiais biológicos interage com átomos ou moléculas, particularmente com a água, e produz radicais livres (KOVÁCS e KERESZTES, 2002; LEITE, 2006).

3.5.2 Cobalto 60

Utiliza-se no processamento de alimentos com maior frequência fontes de Cobalto (^{60}Co) ($T_{1/2} = 5,263$ anos, $b=0,314$ Mev, $g=1,173$ e $1,332$ Mev) e elétrons acelerados. Os raios gama, originários da fonte de ^{60}Co , possuem poder de penetração maior do que os provenientes de feixes de elétrons, atingindo assim, os objetivos de irradiar alimentos (DIEHL, 1998; LEPKI, 1998; HARDER, 2009).

Este isótopo é o mais utilizado, devido a sua disponibilidade, seu custo e por ser um metal insolúvel em água, o que proporciona maior segurança (LEITE, 2006).

3.5.3 Legislação

No Brasil, o primeiro Decreto-Lei com regras básicas para a irradiação surgiu em agosto de 1973. Duas portarias foram criadas posteriormente: a portaria nº. 09 DINAL/MS, de 08 de março de 1985 e a nº. 30 de 25 de setembro de 1989. Ambas foram revogadas pela Resolução RDC nº. 21 de 26 de janeiro de 2001, criada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esta resolução leva em consideração à necessidade de melhorias no controle sanitário, fitossanitário, zoossanitário, visando harmonizar as normas e regulamentos técnicos. É aplicada a todos os alimentos tratados por irradiação e determina que a mesma não possa ser utilizada em substituição as boas práticas de fabricação ou agrícolas. A resolução vigente determina que qualquer alimento, poderá ser tratado por radiação, desde que sejam observadas as seguintes condições: a) a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida; b) a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais dos alimentos. A referida resolução também deixa claro que na rotulagem dos alimentos irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos em geral e específico do alimento, deve constar no painel principal: “alimento tratado por processo de irradiação”. Deste modo não é especificada a dosagem máxima de radiação para um determinado alimento e transfere a responsabilidade do processo de irradiação ao fabricante ou fornecedor (BRASIL, 2001; FROEHLICH, 2004, HARDER, 2009).

De acordo com o Codex Alimentarius (1984) são permitidas para uso em alimentos as seguintes radiações:

- a) raios gama de radionucleotídeos como Cobalto 60 (Co60), com energia máxima de 1,332 MeV e meia vida de 5,263 anos, e Césio 137 (Ce137) com energia máxima de 0,0662 MeV e meia vida de 30 anos;
- b) raios X gerados por máquinas operando com energia de até 5 MeV;
- c) elétrons gerados por máquinas operando com 10 MeV ou abaixo desse valor.

Em alimentos irradiados, um dos fatores importantes de ser avaliado é o aspecto sensorial do alimento após o processo de irradiação.

Os testes sensoriais afetivos qualitativos medem as respostas subjetivas de um pequeno subgrupo dos consumidores sobre as propriedades sensoriais do produto através da verbalização de seus sentimentos e opiniões sobre o produto, numa entrevista individual ou num pequeno grupo. Os métodos qualitativos são usados:

a) para avaliar as respostas iniciais dos consumidores sobre o conceito e/ou protótipo de um produto, e;

b) para conhecer o comportamento do consumidor em relação ao uso de um produto (FERREIRA, 2000; HARDER, 2009).

3.5.4 Irradiação em bebidas

A irradiação em bebidas com ^{60}Co vem sendo estudada desde a década de 1960. Em 1963, averiguou os efeitos desta irradiação em vinhos tintos e brancos, ambos secos, além do vinho do porto, observando uma descoloração das amostras e a diminuição do potencial redox (SINGLENTON, 1963). Este tipo de potencial em um ambiente é afetado por vários compostos, sendo o oxigênio a molécula que mais contribui para o seu aumento em alimentos (GAVAS; SILVA; FRIAS, 2008). Entretanto não houve percepção de atributos indesejáveis ou prejudiciais, em relação ao quesito aroma e sabor para dose de radiação de 1kGy, mas acima desta dose mudanças drásticas foram observadas (SINGLENTON, 1963).

Em 1977, constatou ser a dose de 6kGy a mais favorável para vinhos tintos e 2kGy para vinhos brancos, sendo estas mais fracas que a dose letal para leveduras. Verificou-se que doses maiores proporcionam característica de gosto amadeirado nas amostras e doses no intervalo citado proporcionam características semelhantes ao vinhos envelhecidos de maneira tradicional (HASHIZUME, 1977 apud SOUZA, 2006).

Em 1986, verificou-se que vinhos secos mantêm sua característica sensorial aceitável em um intervalo de 6,0 a 7,0kGy, já os semi-doces adquirem sabor amargo. Vinhos californianos, quando irradiados em intervalo de 1,0 a 10kGy, aumentam seu conjunto de características relacionadas a aroma e sabor (flavor), típico de envelhecimento. Para doses abaixo de 0,1kGy não foi notada diferença significativa (URBAIN, 1986; SOUZA, 2006).

Em 1992, irradiou-se com raios gama, vinho de tâmara em um intervalo de dose de 1,5 a 6,0kGy, obtendo eliminação total de germes e bolores (GUOZHU; XIAOLING, 1992 apud SOUZA, 2006).

Em 2000, irradiou-se cachaças em vidro, em intervalos de 0; 0,1kGy; 2kGy; 5kGy e 10kGy, as quais apresentaram diminuição do seu teor alcoólico, característica essa de

envelhecimento. Também foi observado a existência de oscilações no pH, na cachaça irradiada nos intervalos de 2kGy; 5kGy e 10kGy, havendo diminuição do pH, também característico de envelhecimento desta bebida (SOUZA, 2000).

Em 2002, analisou-se o efeito da radiação gama proveniente de ^{60}Co em vinhos de arroz, em intervalos de 0, 200, 400, 600 e 800Gy em uma taxa de 20Gy / h. Constatou-se nenhuma mudança de cor para as amostras testadas, demonstrando assim, não haver efeito da radiação gama nos compostos responsáveis pela coloração deste vinho (CHANG, 2002).

Em 2011, averiguou-se que vinhos tintos secos irradiados em doses de 1; 3 e 6kGy apresentaram mudanças na coloração de vermelho para nuances amareladas, diminuição do pH, teor alcóolico, aumento da acidez, sólidos solúveis e taninos (PIRES e SCANHOLATO, 2011).

PIRES; HARDER; ARTHUR (2013), avaliaram a coloração de cachaças que continham pedaços de uva no interior do seu recipiente, quando irradiadas com doses de 0,3; 2,0; e 3,0 kGy e durante o período de 5, 10, 20 e 50 dias após o tratamento com radiação gama (^{60}Co). Não foi observadas alterações significativas estatísticas na análise colorimétrica realizada com colorímetro em escala Hunter Lab, nem na comparação entre doses e nem entre dias, no entanto as características físico-químicas se alteraram, apresentando familiaridade com cachaças envelhecidas.

ARTHUR et al. (2014), irradiaram cachaças comerciais com radiação gama (^{60}Co) nas doses de 0,1; 0,2 e 0,3kGy, obtendo como resultado alterações em suas características físico-químicas principalmente na acidez.

Ainda no mesmo ano SILVA, LEIRAS E WAGNER (2014), irradiaram através de radiação de nêutrons vinho Carbenet Sauvignon, obtendo como resultados a redução da densidade, teor alcóolico e teor de cinzas, o aumento de taninos e de antocianinas este último sendo inesperado.

ZHENG et al. (2014) utilizou ultra som, na frequência de 45kHz, com 360 W por 30 min, para alterar físico-quimicamente vinhos do tipo greengage, tornando os próximo de em características dos vinhos envelhecidos.

KONDAPALLI et al. (2014) utilizaram radiação gama em vinhos de manga em doses de 0 à 3kGy obtendo como resultado final aumento significativo de polifenóis totais e flavonoides, aumento dos radicais livres e consequentemente também de compostos

antioxidantes. Além de haver a melhora na qualidade deste vinho e redução da carga microbiana.

PIRES et al. (2015), testou os efeitos da radiação gama em cachaça artesanal na presença de uvas do tipo Crimson, sendo aplicada a dose de 0,3kGy e obtendo como resultado a eficácia para aumentar a quantidade de sólidos solúveis, tanto em cachaças puras como na presença de uva e os nos parâmetros pH e acidez a dose utilizada foi mais efetiva quando houve presença de uva, do que em cachaça com a ausência das mesmas.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Preparo do vinho

Para a produção do “vinho” de jabuticaba, foram obtidos frutos de jabuticaba, colhidos nas árvores pertencentes à fazenda do Areão, localizada na cidade de Piracicaba no interior de São Paulo, no mês de outubro, época da fruta.

Foram colhidas e armazenadas em recipiente plástico para o transporte até o Laboratório de Radiobiologia e Ambiente do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo.

Posteriormente foram devidamente higienizadas em solução sanitizante Ácido Peracético PAC 200. O esmagamento das jabuticabas para o rompimento das cascas foi realizado com auxílio de uma prensa manual e o mosto obtido foi colocado em fermentador de plástico para alimentos devidamente higienizado com sanitizante Ácido Peracético PAC 200.

O mosto para obtenção do vinho tinto de jabuticaba foi preparado com 24kg de jabuticabas maduras. Foram adicionado 2,4g de metabissulfato de sódio para aproximadamente 12L de mosto, para controle bacteriano (FORTES, 2012).

Posteriormente foram utilizadas 250g de leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* do tipo Fleischmann, encontrada em estabelecimento local, para a litragem citada. Foi feita a correção da quantidade de sólidos solúveis com adição de sacarose até atingir 15°Brix, sendo utilizado 2kg de açúcar.

A temperatura foi controlada para que não excedesse 30°C e nem que ficasse abaixo de 28°C.

Também foi monitorada a quantidade de sólidos solúveis durante todo o período de fermentação alcoólica até que este valor fosse estabilizado, ocorrendo em torno de 3°Brix (FORTES, 2012).

As cascas das jabuticabas permaneceram em contato com o mosto durante toda a fermentação alcoólica, que durou aproximadamente cinco dias (FORTES, 2012).

A remontagem, ou seja, mergulhar a parte sólida que sobe à superfície, foi feito 2 vezes ao dia, para evitar avinagrar (GUERRA et al., 2009).

A descuba foi feita de acordo com a metodologia de Guerra et al. (2009), onde foi realizada separando cascas e bagaços (parte sólida) do líquido abrindo a torneira existente

no recipiente fermentativo. A trasfega foi realizada dois dias após sessar a fermentação. O líquido foi filtrado separando a borra da parte líquida. Após a finalização da fermentação alcoólica, deixou-se o mosto descansar mais alguns dias, para que ocorresse a fermentação malolática, permitindo a ação das bactérias lácticas.

As amostras ainda por permanecerem turvas devido a quantidade de fermento ainda existente, foram centrifugadas em centrífuga de bancada do tipo refrigerada da marca Hettchick, com capacidade para 4 recipientes de 500mL cada.

Os vinhos após a centrifugação foram envasados em garrafas de 250mL de material inerte e de cor âmbar, devidamente esterilizadas em água fervente.

4.2 Irradiação dos vinhos

Para o tratamento das amostras foi utilizado o irradiador com fonte de Cobalto-60 Tipo Multipropósito, instalado no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, em São Paulo. Foram utilizadas as doses 0; 5; 10 e 15kGy.

4.3 Tempo de armazenamento

As amostras foram analisadas em 3 períodos distintos 1, 60 e 120 dias após a irradiação com (^{60}Co).

Três recipientes de cada dose foram analisados logo após o tratamento de irradiação e também a mesma quantia foi separada para cada período (60 e 120 dias) para cada dose e controle, que foram armazenados em ausência de luz até o momento de serem realizadas as análises.

4.4 Análises físico-químicas

4.4.1 Teor alcóolico

Optou-se pelo uso do ebuliômetro devido à alta quantidade de matéria orgânica. As amostras dos “vinhos” tintos de jabuticaba foram colocadas no aparelho, até atingirem a ebulição do líquido e estabilidade na temperatura, a qual foi utilizada para obter o grau alcoólico através da correspondência da temperatura na régua de conversão (NOGUEIRA et al., 2003).

4.4.2 Acidez Total

A análise de acidez total foi realizada baseada em pH potenciométrico, utilizando-se pHmetro, juntamente com o agitador magnético e uma bureta contendo hidróxido de sódio (NaOH) à 0,1N padronizada. A titulação foi monitorada até o pH atingir entre 8,1 e 8,2 (AOAC, 1995).

4.4.3 Acidez volátil

Foi utilizado o extrator de acidez volátil REDUTEC, para a extração de toda substância volátil contida nas amostras de vinho tinto de jabuticaba (PEREIRA, 2003).

Após extrair as substâncias voláteis dos “vinhos” de jabuticaba, foi estabelecido o teor de ácido acético por acidez titulável utilizando como base NaOH à 0,01N padronizada para a neutralização do ácido e o indicador fenolftaleína (AOAC, 1995).

4.4.4 Acidez Fixa

Foi realizada de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), demonstrada na equação (2).

$$At - Av = \text{acidez fixa em meq/L} \quad (\text{eq. 2})$$

At = acidez total, em meq/L

Av = acidez volátil em meq/L

4.4.5 pH

Foram analisadas as amostras dos “vinhos” tintos de jabuticaba, utilizando-se o pHmetro, devidamente calibrado com solução tampão pH 7 e pH 4 (AOAC, 1995).

4.4.6 Cinzas

O teor de cinza nos vinhos é um dos parâmetros da caracterização química destes produtos que permite indiciar práticas fraudulentas como o aguamento, a aguardentação (adição de álcool) e a adição de substâncias minerais com vista a dissimular outro tipo de fraudes (TAVARES e SILVA, 2010).

Para está análise foi utilizada a metodologia da AOAC, (1995) a qual consiste da incineração total do material em mufla à 550°C.

Aa amostras foram pesadas (1g) em cadinhos de porcelana que foram levados primeiramente à chapa aquecedora para que não houvesse perda de amostra dentro da mufla.

Depois de alguns minutos na chapa as amostras foram para a mufla por quatro horas.

Posteriormente os cadinhos foram postos em dessecador até resfriarem e posteriormente foram pesados.

4.4.7 Sólidos Solúveis

Foi realizada leitura em refratômetro óptico de bancada conforme metodologia da AOAC (1995).

4.4.8 Antocianinas

Primeiro foram preparados as soluções tampão de cloreto de potássio com pH 1,0 e solução acetato de sódio com pH 4,5 de acordo com a metodologia descrita por Aliberti (2009).

A solução cloreto de potássio foi preparada a partir de 125mL da solução de KCl 0,2 M com 385 mL de HCl 0,2 M. Para o preparo da solução de KCl 0,2 M foram dissolvidos 3,725 g de cloreto de potássio em 250mL de água desliada, enquanto que para a solução de HCl 0,2 M dilui-se 13,10 mL de ácido clorídrico concentrado em 770 mL de água destilada.

Para a solução de acetato de sódio utilizou-se 400 mL de acetato de sódio 1 M (136g/L), 240 mL de HCl 1 N (83,mL/L) e 360 mL de água destilada. Sendo que a solução de acetato de sódio 1M foi preparada dissolvendo-se 54,4g de acetato de sódio em 400mL de água destilada e a solução de ácido clorídrico 1N foi preparada diluindo 19,9mL de ácido clorídrico em 240 mL de água destilada.

De cada amostra de “vinho” de jabuticaba foi transferido 0,5 mL para dois balões volumétricos de 25mL; completou-se um dos balões com solução tampão pH1,0 e outro com solução tampão pH 4,5.

As soluções permaneceram em repouso por 15 min, ao abrigo de luz e as leituras foram lidas em absorbância 520nm (pH1) e 700nm (pH 4,5) em espectrofotômetro.

As concentrações de antocianinas foram expressas como ciadina-3-glicose em mg/L, calculados de acordo com a equação (3) (FORTES, 2012).

$$\text{Concentrações de antocianinas (mg/L)} = A \cdot MM \cdot FD/\epsilon \cdot b \quad (\text{eq.3})$$

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 1,0 - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 4,5$$

$$MM = 449 \text{ g/mol (massa molar da ciadinina-3-glicose)}$$

$$ED = \text{fator de diluição (50)}$$

$$\epsilon = 26.900 \text{ L/mol/cm (coeficiente de extinção da ciadinina-3-glicose)}$$

$$b = 1 \text{ cm}$$

4.4.9 Taninos

Foram pesadas 5mL de amostra do “vinho” de jabuticaba, previamente secos em chapas aquecedoras e adicionou-se 10mL de metanol para sua diluição.

A mistura foi submetida à centrifugação à 4000rpm por 20 min. O sobrenadante foi transferido para balões volumétricos de 10mL, no qual o volume foi completado com metanol. De cada extrato foi retirado 1mL e colocados em tubos de ensaio.

Foi preparada a solução de vanilina 1:1, sendo 50mL de vanilina 1% e 50mL de HCl 8% em metanol, e adicionou-se aos tubos de ensaio. Estes foram cobertos com alumínio para não haver perdas.

Os tubos foram colocados em um béquer e em seguida no banho-maria à 30°C, com agitação, por 20 minutos.

Para calibração do espectrofotômetro, foi preparada uma solução de branco, sendo 1mL de metanol e 5mL de HCl 4% em metanol, a qual foi utilizada para leitura no aparelho. Posteriormente foi realizada a leitura de catequina, metanol e vanilina, em cada dosagem, para ser montada a curva padrão. As leituras ocorreram no escuro e em um comprimento de onda de 500nm.

Os tubos de ensaio foram retirados do banho-maria, sendo feitas as respectivas leituras das amostras no espectrofotômetro (PRICE; HAGERMAN; BUTLER, 1980).

4.4.10 Idade química

Foi transferido 10mL de cada amostra para quatro tubos de ensaio. No primeiro foi adicionado 0,02g de metabissulfato de potássio, no segundo 0,1mL de acetaldeído, no terceiro 0,1mL HCl à 1mol/L e no quarto tubo não adicionou-se nada além da amostra. A leitura foi realizada em absorbância 520nm para cada tubo em espectrofotômetro, sendo que 4, 5 e 6 foram determinadas pelas equações (4) (5) e (6) (FORTES, 2012):

$$IQ\ 1 = ASO_2/ACH_3CHO \quad (eq.\ 4)$$

$$IQ\ 2 = ASO_2/AHCl \quad (eq.\ 5)$$

$$IQ\ 3 = ASO_2/A_{520nm} \quad (eq.\ 6)$$

4.5 Análise das leveduras por PCR (objetivo controle fermentativo)

4.5.1 Preparo das leveduras

Para o preparo das leveduras utilizou-se a metodologia de Kurtzman e Robnett (1998). As leveduras utilizadas na fermentação (pé de cuba) foram colhidas e postas em placas de Petri com meio rico em açúcar para crescimento e o mesmo foi feito com as leveduras industrializadas adquiridas em estabelecimento comercial da mesma marca e lote utilizadas na fermentação.

Após o crescimento foram retiradas pequenas amostras das colônias e as mesmas foram estriadas em placas com meio YPD.

Depois do estriamento, as amostras foram retiradas das placas e transferidas para os tubos com meio de cultura líquido com propósito de multiplicação.

Retirou-se 1,5mL do meio de cultura líquido (solução celular) e este foi transferido para eppendorfs. Estes foram centrifugados em rotação de 3000 rpm por 5 min para a sedimentação das células.

Descartou-se o sobrenadante e acrescentou-se mais 1,5mL da solução celular. Depois mais uma vez foi centrifugado e o sobrenadante descartado.

4.5.2 Caracterização molecular das cepas de leveduras coletadas

a) Extração de DNA

Para análise de Extração de DNA, foi utilizada a metodologia de CTAB (DOYLE, DOYLE, 1987).

Primeiramente foi transferido a amostras preparadas e descritas no tópico 5.6.1 tanto do pé de cuba quanto das leveduras industrializadas, para tubos de eppendorfs estéril (1mL), contendo 700 µL de tampão de extração, previamente aquecido, vortexizados por 20 min à 55°-60°C, homogeneizado suavemente as intervalos de 5min.

Deixou-se a amostra à temperatura ambiente por 5 min a adicionou-se 600 microlitros de Clorofórmio Álcool isoamílico (CIA), preparado com 24mL de clorofórmio e 1 mL de álcool, em frascos estéril resistente a clorofórmio.

Transferiu-se a fase aquosa (superior) para um tubo novo (600µL, evitando perturbar a interface) e adicionou-se 600 µL de CIA, homogenizou-se por inversão dos tubos 25 vezes. Centrifugar 14 000rpm, em temperatura ambiente por 7 min.

Transferir a fase aquosa (superior) para outro tubo novo (550 µL) e adicionou-se 600 µL de isopropanol, para precipitar o DNA, à temperatura ambiente. Homogeneizou-se suavemente, por inversão do tubo por 1 min. Centrifugar 14 000rpm, 4°C por 15min.

Lavou-se o precipitado, sem ressuspendê-lo, 1 vez com 600 µL etanol 70%, preparado em tubo e mili-Q estéril. Deixado no freezer por 20 min, antes de centrifugar por 15 minutos, a 4°C, a 14000rpm.

O etanol 70% foi preparado com 7mL de etanol absoluto e 3mil-Q estéril.

Posteriormente descartou-se o sobrenadante, cuidadosamente com auxílio de uma pipeta, marcar a posição do pacot e deixar o tubo sobre o lenço de papel, secando por uns 15 min. para evaporação completa do etanol.

Em seguida ressuspendeu o pellet em 20 µL de tampão TE e armazenou-se à 4°C.

A verificação da qualidade do DNA total e a quantificação foram realizadas adicionando-se às amostras o tampão *Dye*, composto de azul de bromofenol (Anexo A1), por eletroforese em gel de agarose (1%) em tampão TAE. As bandas são visualizadas através de coloração com brometo de etídeo (0,01ng/µL) sob luz ultravioleta (Sambrook et al., 1989) e comparadas com padrões de peso molecular.

b) Amplificação e caracterização molecular

A reação de PCR do DNA genômico das leveduras com 4 pares de *primers* específicos para caracterização molecular de cepas (CARVALHO-NETTO et al., 2012), foi feita para um volume final de 20µL.

A amplificação do segmento de DNA da levedura foi realizada em duas etapas, devido a diferenças na temperatura de anelamento dos pares de *primers*. Para dois pares (P1 e P2) o programa utilizado no termociclador TECHNE, modelo TC-4000, será 5 minutos iniciais a 94°C, e 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 40 segundos a 54°C e 1 minuto e 30 segundos a 72°C; mais 2 minutos a 72°C, para extensão final. Para os outros dois pares de primers (P3 e P4), foi alterado apenas a temperatura de anelamento, ficando portanto: 5 minutos iniciais a 94°C, e 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 40 segundos a 57°C

e 1 minuto e 30 segundos a 72°C; mais 2 minutos a 72°C, para extensão final (Carvalho-Netto et al., 2012).

O produto de PCR (10µL de cada reação) foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% com tampão TBE 0,5x (Anexo A3), submetido a corrente de 75V por 60 minutos, tendo como marcador de peso molecular 1kb DNA *Ladder* (Fermentas), todos acrescidos de tampão de amostra (*Dye IV*) (Sambrook et al., 1989). As bandas foram visualizadas por meio de coloração com brometo de etídio (0,01ng/µL) sob luz ultravioleta.

4.6 Análise estatística

Os valores em quadruplicatas foram submetidos à análise de variância, utilizando o teste F ao nível de 95% de confiança. Posteriormente, para as causas de variações significativas foram aplicados o teste de Tukey com 5% de significância. Estas análises foram realizadas pelo programa estatístico computacional SAS (*STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM*, 1996).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas nos “vinhos” tintos de jabuticaba irradiados com doses 5, 10 e 15kGy e avaliados durante o período de 120 dias encontram-se nas Tabelas de 1 à 10.

5.1 Potencial hidrogeniônico

Na Tabela 1, apresentam-se as médias encontradas nas análises de potencial Hidrogeniônico (pH).

Analizando os resultados de amostras de “vinhos” tintos de jabuticaba submetidos aos diferentes tratamentos de irradiação, observa-se que o efeito das doses de irradiação ocorrem somente nas amostras tratadas com 10 e 15 kGy, após 60 dias da irradiação, apresentaram diferença estatística significativa.

No quesito período de armazenamento, verifica-se que as amostras de vinho controle apresentaram diferença estatística significativa nos valores de pH conforme o período de armazenamento. Já as amostra irradiadas com a dose de 5 kGy não apresentou diferença estatística significativa durante o período de armazenamento. As amostras irradiadas com 10 e 15 kGy apresentaram o mesmo comportamento, aos 60 dias de armazenamento entre si. No entanto os valores de pH diminuíram de um período pra outro, enquanto aos 120 dias esses valores médios voltaram a aumentar.

Tabela 1- Valores médios encontrados na análise de potencial Hidrogeniônico (pH) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento

Dose (kGy)	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	3,23 ^{aA*} ± 0,02 ^{**}	3,13 ^{aB} ± 0,02	3,02 ^{aC} ± 0,05
5	3,29 ^{aA} ± 0,03	3,15 ^{aA} ± 0,01	2,42 ^{aA} ± 0,02
10	3,23 ^{aB} ± 0,00	3,06 ^{bC} ± 0,02	3,33 ^{aA} ± 0,02
15	2,93 ^{aB} ± 0,01	2,23 ^{cC} ± 0,01	3,36 ^{aA} ± 0,07

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Vinhos que são colocados para envelhecer começam a diminuir seu pH ao longo do tempo (HASHIZUMI, 2001).

Estudos mostram que a radiação gama possui a capacidade de alterar a composição físico-química as bebidas fermentadas e destiladas, como demonstrado no trabalho de PIRES e SCANHOLATO (2011) que irradiaram vinho tinto seco em doses de 1; 3 e 6 kGy obtendo diminuição do pH conforme o aumento dose. O mesmo resultado observado ao 60º dia.

Já para o comportamento observado ao 120º dia a irradiação pode ter favorecido ao longo do tempo a precipitação de bitartarato de potássio, portanto o aumento verificado nas amostras submetidas as doses de 10 e 15 kGy após 120 dias de armazenamento pode ser devido a precipitação do sal que possui capacidade de aumentar o pH, pois RIZZO; ZANUS; MIELE (1998) afirmam que após a fermentação alcoólica ocorre a fermentação malolática, nesta última há transformação de ácido málico em ácido láctico pelas bactérias lácticas, este processo favorece a precipitação de bitartáto de potássio, este último aumenta o pH.

BARROS (2016) irradiou suco de uva em doses de 2; 4 e 8 kGy. Os resultados da análise de pH demonstra diminuição dos valores de pH nas amostras irradiadas com doses de 2 e 8 kGy, sendo a diminuição gradativa (4,79; 4,74; 4,66; 4,58) conforme o aumento da dose. Também observou que apenas as amostras irradiadas com a dose de 4 kGy não apresentaram diferenças estatísticas com a amostra controle. Os resultados encontrado ao 60º dia de armazenamento no presente trabalho são semelhantes aquele observados por BARROS (2016).

5.2 Determinação de Acidez

5.2.1 Acidez Total

Na Tabela 2, observando as doses de irradiação e seus efeitos, verificou-se que no período zero, as amostras irradiadas com dose de 10 kGy, apesar de apresentarem o maior valor médio, apresentou diferença estatística significativa apenas nas amostras submetidas ao tratamento com a dose de 15 kGy. No 60º dia, as amostras irradiadas com doses de 10 e 15 kGy apresentaram queda nos valores de acidez total quando comparados com a amostra

controle e com as amostras irradiadas com a dose de 5 kGy, e somente as amostras irradiadas com 10 kGy apresentaram diferença estatística significativa. Em 120 dias, ocorreu estabilização da acidez total e as amostras irradiadas não diferiram mais entre si estatisticamente, porém as amostras do tratamento controle apresentaram valores de acidez total menores do que as amostras irradiadas.

Tabela 2- Valores médios dos teores de acidez total expressos em ácido cítrico (%) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento.

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	2,79 ^{abC*} ± 0,01 ^{**}	3,18 ^{aB} ± 0,08	3,65 ^{aA} ± 0,14
5	2,79 ^{abB} ± 0,01	3,13 ^{aA} ± 0,09	3,05 ^{bA} ± 0,01
10	2,96 ^{aA} ± 0,15	2,84 ^{bA} ± 0,01	3,07 ^{bA} ± 0,11
15	2,68 ^{bB} ± 0,11	3,15 ^{aA} ± 0,07	3,01 ^{bA} ± 0,06

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Analisando a interferência do tempo (períodos de armazenagem), constata-se que no controle a acidez apresentou o crescimento gradativo dos valores médios conforme o aumento do tempo de armazenagem. Efeito coerente ao observado na Tabela 1 para o pH, já que os valores médios de pH e de acidez são inversamente proporcional, o pH diminui e acidez aumenta.

Para as amostras irradiadas com doses de 5 e 15 kGy, no 60º dia de armazenagem, verificou-se o aumento nas médias de acidez total. Nos 120 dias, foram observados valores de acidez total maiores que o controle, mas não diferiram estatisticamente aos 60º dias. Já para as amostras irradiadas com 10 kGy não houve diferença estatística significativa ao longo dos períodos de armazenagem.

No trabalho de BARROS (2016) utilizando amostras de suco de uva irradiado com as doses de 2; 4 e 8 kGy também houve variações nas amostras irradiadas, sendo que apresentaram aumento da acidez total sendo 0,27 g100mL⁻¹ (controle); 0,28 g100mL⁻¹ (dose de 2kGy); 0,33 g100mL⁻¹ (dose de 4kGy); 0,38 g100mL⁻¹ (dose de 8 kGy).

As médias da tabela 2 correspondem ao intervalo variando de 475 a 482 mEq/L valores estes bem maiores dos que os valores estabelecidos pela Instrução Normativa nº

34, de 29 de novembro de 2012 que estabelece 50 mEq/L como valor mínimo e 130mEq/L como valor máximo de ácido total em fermentado de jabuticaba (BRASIL, 2012).

Em vinhos de jabuticaba observa-se que um dos problemas é sua alta acidez, devido a presença de ácido cítrico, variando de 80 a 90 mEq/L (NAVES et al., 2010; GUIMARÃES, 2006; JHAM et al., 2007).

Nesta pesquisa o problema foi o ponto de maturação das jabuticabas que se encontravam no ponto de senescência portanto foram colhidas depois do ponto ótimo de maturação. Portanto nesse ponto a acidez dos frutos de jabuticaba apresentam um teor de acidez de 148 mEq/L, sendo que esse valor já apresenta-se acima do valor máximo para o fermentado de jabuticaba (130mEq/L)

Quando a fruta foi colhida em estado ótimo de maturação o vinho feito apresentou uma acidez total de 125,95 mEq/L, e a acidez da fruta foi de 95,51 mEq/L, estando estes valores dentro dos limites estabelecidos pela legislação como é mostrado no Apêndice A.

Com relação a acidez e pH esses valores também são diferentes, a fruta em senescência apresenta o pH de 2,80 enquanto que a jabuticaba em estado ótimo de maturação apresenta valor de 3,40.

5.2.2 Acidez volátil

Na Tabela 3 observa-se que as amostras submetidas à diferentes doses de irradiação não apresentaram diferenças significativas nos valores de acidez volátil. O mesmo ocorreu no tempo 0 e 60 dias após o início do armazenamento. Já ao 120º dias, apenas a amostra irradiada a 5 kGy apresentou diferença estatística significativa em relação aos demais tratamentos e o controle.

O mesmo comportamento de diminuição entre doses foi observado por PIRES (2015) em vinhos de jabuticaba irradiados com doses de 2,5 e 5 kGy ao 120º dias de armazenamento.

Tabela 3- Valores médios encontrados na análise de acidez volátil expressa em ácido acético (%) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	0,75 ^{aA*} ± 0,15 ^{**}	0,69 ^{aA} ± 0,08	0,90 ^{aA} ± 0,05
5	0,60 ^{aB} ± 0,15	0,77 ^{aA} ± 0,03	0,66 ^{bA} ± 0,08
10	0,65 ^{aB} ± 0,10	0,83 ^{aA} ± 0,07	0,93 ^{aA} ± 0,03
15	0,45 ^{aB} ± 0,15	0,79 ^{aA} ± 0,03	0,83 ^{aA} ± 0,02

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Quando foi observado o tempo de armazenamento, percebe-se que as amostras irradiadas com 10 e 15 kGy, no período inicial, apresentaram menores valores médios e não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação aos outros tratamentos. Enquanto que nos tempos de 60 e 120 dias as médias obtidas apresentaram diferenças estatísticas significativas e foram maiores que na primeira avaliação e iguais entre si. Já a dose de 5 kGy permaneceu sem alteração ao longo do período de armazenamento.

Os resultados demonstraram que ácidos carboxílicos, como o ácido etanoico (ácido acético), podem ter formado éteres através de combinação com álcoois. Sendo assim a explicação, para o comportamento de acidez volátil observado na Tabela 3 (aumento da acidez aos 60º dias), pode estar relacionado ao efeito da irradiação devido ao rearranjo de moléculas, pois segundo CLELAND, PARKS E CHENG (2003), a radiação gama, por ser de alta energia, tem maior ação ionizante nos materiais poliméricos, promovendo modificações, nas reações de cisão e rearranjo.

Segundo DIHEL (1995) a irradiação induz efeito em determinadas moléculas, como recombinação, ou união. Sendo assim a primeira reação provocada nas amostras irradiadas no primeiro período pode ser proveniente da formação do éster acetato de etila, vindo da combinação de ácido acético e etanol. Posteriormente com o tempo decorrido de 60 dias as moléculas quebraram e voltaram a sua formação original de ácido e álcool, sendo responsável pelo aumento observado nos dois últimos períodos.

As médias obtidas na tabela 3 correspondem ao intervalo de 13 a 15 mEq/L valores estes que estão de acordo com a legislação que estabelece o máximo de 20 mEq/L de ácido acético em vinho tinto de mesa (BRASIL, 2012)

Esse aumento obtido ao longo do tempo de armazenamento está condizente com o trabalho de FORTES (2012), que avaliou os vinhos de jabuticaba produzidos entre a safra de 2003 à 2008 que obteve o aumento nos teores de ácido acético conforme o tempo de envelhecimento.

5.2.3 Acidez Fixa

Na Tabela 4 podemos observar que os valores médios de acidez fixa apresentaram somente diferenças significativas a partir do 60º dia, e as amostras tratadas com doses de 5kGy e 10kGy apresentaram-se os menores teores do que a amostra controle e maiores que as amostras irradiadas com 15kGy. Já no 120º dia foi possível observar que todas as amostras irradiadas apresentaram os menores valores em relação ao controle, mas não apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 4- Valores médios encontrados na análise de acidez fixa (%) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	2,14 ^{aC*} ± 0,14 ^{**}	2,49 ^{aB} ± 0,04	2,75 ^{aA} ± 0,08
5	2,19 ^{aB} ± 0,13	2,36 ^{bA} ± 0,09	2,39 ^{bA} ± 0,09
10	2,31 ^{aA} ± 0,22	2,01 ^{cA} ± 0,07	2,14 ^{bA} ± 0,12
15	2,23 ^{aA} ± 0,18	2,36 ^{bA} ± 0,09	2,18 ^{bA} ± 0,07

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Observando o efeito do tempo nas amostras foi possível verificar que a acidez fixa na amostra controle aumentou significativamente no decorrer dos períodos de armazenamento.

Nas amostras irradiadas, a influência do tempo só foi significativo na amostra tratada com 5 kGy, que apresentou o menor valor médio no período 0, e quando comparada com os 60 e 120 dias.

5.3 Determinação do Teor Alcoólico

Na Tabela 5, verifica-se que houve diminuição nas médias, das amostras irradiadas, em relação ao controle, no tempo 0 dia. Entretanto, não diferiram significativamente entre si.

Considerando as amostras irradiadas, no tempo 60 dias, as mesmas apresentaram valores superiores que o controle, mas não diferiram estatisticamente entre si. No último tempo de armazenagem, as amostras não apresentaram diferença estatística significativa.

Tabela 5- Valores médios encontrados na análise de Teor Alcoólico (°GL) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento.

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	11,0 ^{aA*} ± 0,40 ^{**}	10,6 ^{bA} ± 0,66	10,9 ^{aA} ± 0,79
5	9,3 ^{bB} ± 0,28	12,0 ^{aA} ± 0,32	11,6 ^{aA} ± 0,23
10	8,8 ^{bB} ± 0,28	11,9 ^{aA} ± 0,49	11,8 ^{aA} ± 0,40
15	8,7 ^{bB} ± 0,28	12,0 ^{aA} ± 0,33	12,0 ^{aA} ± 0,41

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Com relação a interferência do tempo, pode-se averiguar que as amostras irradiadas, aumentaram significativamente no 60º dia e após este período, não apresentaram diferenças significativas. Somente o controle não apresentou diferença estatística, nos três tempos.

De acordo com DIEHL (1995), a irradiação induz efeito em determinadas moléculas, e a recombinação (equação 7 e 8) ou a dimerização, união de dois monômeros, formando um dímero (equação 9). Estes são por sua vez efeitos secundários, devido à elevada reatividade dos radicais livres produzidos como resultado dos efeitos primários.

Baseando-se neste exemplo do metano dado por DIEHL (1995), onde ocorre a possibilidade de formação do éster (acetato de etila) proveniente do etanol e do ácido acético, provavelmente ocorrido nas amostras é a formação de acetato de etila logo após a

irradiação a quebra da molécula em seus compostos originais após os 60 dias. Este fato provavelmente explica o aumento de álcool constatado na Tabela 5 após 60 dias e a sua estabilidade até o fim do período de armazenagem, assim como o aumento da acidez volátil no mesmo período como mostrado na Tabela 3 do item, 5.2.2.

Os resultados obtidos neste trabalho condizem com os resultados do estudo de SOUZA (2006) que irradiou cachaça em garrafa em doses de 0,15 e 0,30 kGy e o trabalho de MIRANDA, HORI, ALCARD (2006), que irradiaram cachaças no interior de em barris com dose de 0,15 kGy.

Em relação ao valor permitido pela legislação, verifica-se que os vinhos estão dentro do intervalo que define vinho de mesa contendo de 4% a 14% v/v (BRASIL, 2012).

5.4 Determinação de Antocianinas

Na Tabela 6, avaliando-se primeiramente o efeito das doses de irradiação, observou-se que no tempo 0 dia houve diminuição de todas as amostras irradiadas em relação ao controle, sendo o mesmo comportamento observado ao 60 dias e ao 120 dias. No entanto ao se observar as médias foi possível verificar que o decaimento das antocianinas foi proporcional ao aumento das doses de radiação em todos os tempos.

Tabela 6 – Valores médios encontrado na análise de antocianinas (mg/L) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado durante o armazenamento.

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	72,50 ^{aA*} ±0,89 ^{**}	35,19 ^{aB} ±0,47	30,50 ^{aB} ±0,75
5	20,16 ^{bA} ±0,89	9,95 ^{bB} ±0,62	5,81 ^{bB} ±0,27
10	10,11 ^{bA} ±0,62	3,94 ^{bB} ±0,61	3,78 ^{bB} ±0,90
15	6,89 ^{bA} ±0,52	3,80 ^{bB} ±0,69	3,72 ^{bB} ±0,67

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

A diminuição significativa dos teores de antocianina, ocorreu a partir do 60º dia. Ao 120º dia, os valores encontrados não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao segundo tempo, mas permaneceram com valores menores que no primeiro.

A diferença na coloração das amostras na sequência de doses crescentes em nos dias analisados também pode ser vista na Figura 1.

Figura 1: Amostras ao 1º, 60º e 120º dias

FONTE: Autor

Segundo DAVID et al. (2007), durante o envelhecimento as antocianinas se polimerizam, reação essa normalmente instável, que resulta na precipitação desses compostos que conseqüentemente diminuem a cor. Essa polimerização pode explicar a redução do teor de antocianinas durante o armazenamento do presente estudo.

Os valores de antocianinas em vinhos de jabuticabas prontos para o consumo, ou seja, vinhos que obtiveram descanso, são baixos, de acordo com FORTES (2012), giram em torno de 0,31mg/L a 13,23mg/L dependendo da safra da jabuticaba.

Na fabricação de vinhos, as bebidas jovens devem descansar por 3 meses, enquanto vinhos envelhecidos passam mais de um ano descansando (HASHIZUME, 2001).

Os teores iniciais de antocianinas no vinho de jabuticaba logo após envase apresentavam valores de aproximadamente, seis vezes maiores que os encontrados por FORTES (2012), pois o maior valor encontrado pelo autor foi 13,23 mg/L, enquanto que o valor encontrado inicialmente no controle do presente trabalho foi de 72,50 mg/g. Entretanto o processo de vinificação foi realizado com a presença da casca da jabuticaba até cessar a fermentação, como a casca da jabuticaba é rica em compostos fenólicos, apresentando uma concentração, segundo TERCÍ (2004) e GUEDES (2009), de antocianinas de 314,00 mg/ 100g de fruto, este fato explica a grande quantidade de antocianina encontrada no controle.

Nas amostras irradiadas a 10 e 15 kGy o decaimento das antocianinas chegou a níveis, considerados e que segundo FORTES (2012), bons para consumo. Também os valores obtidos estão dentro do nível de um vinho de jabuticaba pronto para consumo.

A diminuição das antocianinas ocorre devido a interferência do pH e da acidez, pois estes são importantes na estabilização das antocianinas. Antocianinas são anfóteras e conforme o pH sua coloração e forma se alteram (FREITAS, 2006). Em meio ácido as antocianinas se encontram na forma de sais de oxônio, geralmente de coloração vermelha. Se o pH aumenta, esse pigmento passa a ter estrutura quinoidal, púrpura, ou seja, em meio alcalino apresentam-se na coloração azul (BOBBIO e BOBBIO, 2001). Percebe-se que o pH dos vinhos, do presente trabalho, apresentaram-se ácido e com tendência a diminuição da acidez o que favorece a forma de sais de oxônio de coloração mais avermelhada.

5.5 Determinação de Taninos Condensáveis

Na Tabela 7, verifica-se no tempo 0 e 60 dias diminuição significativa das médias de taninos nas amostras irradiadas em relação ao controle, enquanto que entre as amostras irradiadas não houve diferença estatística significativa.

Com relação ao 120º dia, o controle não apresentou diferença significativa em relação às amostras irradiadas, no entanto, a amostra irradiada com dose de 5 kGy apresentou o maior teor de taninos. As outras amostras não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 7- Valores médios encontrado na análise de taninos (mg/g) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado durante o armazenamento.

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	3,73 ^{aA*} ± 0,59 ^{**}	3,35 ^{aA} ± 0,63	4,86 ^{abA} ± 0,62
5	2,25 ^{bB} ± 0,20	1,84 ^{bB} ± 0,07	5,47 ^{aA} ± 0,37
10	2,69 ^{bB} ± 0,37	1,48 ^{bC} ± 0,08	4,38 ^{abA} ± 0,35
15	2,18 ^{bB} ± 0,24	1,31 ^{bC} ± 0,02	4,24 ^{ba} ± 0,10

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Para entender o que ocorreu com o tanino nas amostras irradiadas, primeiramente é necessário saber que o tanino é um antioxidante (MACEDO, 2015) e que a radiação gama é um agente oxidante (CHORILLI, LEONARD e SALGADO, 2007).

A oxidação é uma reação química, que provoca danos devido à formação de radicais livre, sendo que os mais comuns e nocivos ao organismo humano são os provenientes de oxigênio. Os radicais hidroxila (OH^-) e o superóxido (dois átomos de oxigênio associados com um único elétron não-pareado) são os que mais aparecem na reação de oxidação (CHORILLI; LEONARD; SALGADO, 2007).

O radical OH^- normalmente não ocorre devido à força das ligações da água quem mantem as moléculas de água juntas, no entanto quando a matéria contendo água é exposta a alguns tipos de radiação, essas ligações podem se romper, gerando os radicais de hidroxila (CHORILLI; LEONARD; SALGADO, 2007).

Já os taninos, por estarem na categoria de compostos fenólicos, são agentes antioxidantes naturais, sendo que em vegetais os taninos são condensáveis e hidrolisáveis, possuem o papel de antioxidante (MACEDO, 2015).

Assim sendo a diminuição dos taninos observada nas amostras irradiadas se deve aos efeitos da radiação gama, pois a mesma age como um efeito oxidante e o tanino reage com os radicais livres levando a degradação dos mesmos.

Já o aumento dos mesmos durante o tempo, é um comportamento comum em vinhos, pois algumas antocianinas se polimerizarem no decorrer do tempo e tornam-se taninos (BARNABÉ, 2006).

No trabalho de PIRES (2015), ao analisar o comportamento de taninos em vinhos tintos de jabuticaba irradiados com 2,5 e 5kGy ao longo de 120 dias, observou variação na quantidade de tanino, havendo diminuição em relação à testemunha e posterior aumento nos últimos meses.

5.6 Determinação da Idade química

A determinação da idade da química é baseada nas medidas dos espectros relacionadas ao equilíbrio das antocianinas e vem sendo utilizado como um parâmetro indireto para prever o estado de envelhecimento de vinhos tintos (FORTES, 2012).

Na metodologia utilizada foi à medida espectrofotométricas de 520 nm que corresponde a região do vermelho.

Sabe-se que quanto mais velho é o vinho mais antocianinas responsáveis pela coloração vermelha se polimerizam e taninos responsáveis pela coloração amarela se sobrepõem (HASHIZUME, 2001).

Assim sendo neste trabalho o vinho é analisado em seu estado original e é então tratado com excesso de SO₂, acetaldeído e ácido clorídrico para investigar o equilíbrio de antocianinas no vinho. As antocianinas monoméricas na presença de SO₂ sofrem descoloração, o que não ocorre com as antocianinas poliméricas. O acetaldeído se liga preferencialmente ao SO₂ presente no vinho, retirando assim o efeito descolorante. A adição de HCl faz com que as antocianinas monoméricas passem para sua forma mais colorida, porém a diminuição do pH não afeta as antocianinas poliméricas. Ou seja, maiores valores de idade química significam maior proporção de antocianinas polimerizadas, e estas são formadas no decorrer do envelhecimento dos vinhos. Sendo assim nesta metodologia as variáveis idades química IQ1 e IQ3 indicam a proporção de antocianinas polimerizadas mais abundantes nos vinhos mais velhos (FORTES, 2012).

Nas tabelas 8, 9 e 10 encontram-se os valores para idade química nos tempos 1, 60, 120 dias.

Tabela 8- Valores médios da análise de idade química ao 1º dia após o processo de irradiação no “vinho” tinto de jabuticaba

Dose	1 dia		
	IQ1	IQ2	IQ3
0	0,66 ^{b*} ±0,03 ^{**}	0,54 ^b ±0,03	0,59 ^b ±0,02
5	0,73 ^{ab} ±0,02	0,71 ^a ±0,03	0,71 ^a ±0,04
10	0,74 ^{ab} ±0,01	0,73 ^a ±0,01	0,73 ^a ±0,01
15	0,79 ^a ±0,03	0,79 ^a ±0,03	0,79 ^a ±0,02

*Letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão

Através delas pode-se observar que IQ1 e IQ3 na Tabela 8 apresentam valores maiores nas amostras irradiadas em relação à testemunha. Sendo assim, foi possível averiguar que a irradiação polimerizou as antocianinas, indicando envelhecimento da amostra irradiada à 15 kGy, pois esta ao contrário das demais apresenta maior valor médio e difere estatisticamente em relação a testemunha em IQ1 IQ2 e IQ3.

Também foi possível averiguar que o efeito da radiação perdurou aos 60 dias, pois na Tabela 9 verifica-se que a as amostras irradiadas com 15 kGy apresentam maior valor do que as demais amostras e do controle, nos três parâmetro de IQ.

Tabela 9- Valores médios da análise de idade química ao 60º dia após o processo de irradiação no “vinho” tinto de jabuticaba

Dose	60º dia		
	IQ1	IQ2	IQ3
0	0,341 ^{b*} ±0,00 ^{**}	0,319 ^b ±0,01	0,324 ^b ±0,01
5	0,339 ^b ±0,05	0,325 ^b ±0,05	0,344 ^b ±0,02
10	0,181 ^c ±0,02	0,163 ^c ±0,01	0,166 ^c ±0,02
15	0,714 ^a ±0,00	0,727 ^a ±0,02	0,716 ^a ±0,03

*Letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão

No entanto ao observar a amostra irradiada com 10 kGy, percebe-se que os valores são menores do que as outras amostras.

Ao 120º dia, a amostra irradiada com 15k Gy ainda permanece com os maiores valores estatístico em relação às outras amostras no três parâmetros de IQ, no entanto verifica-se na tabela 10 que a amostra que apresentou menor valor é de 5 kGy, diferentemente do 60º dia que a dose com menor polimerização é de 10 kGy.

Tabela 10- Valores médios da análise de idade química ao 60º dia após o processo de irradiação no “vinho” tinto de jabuticaba

Dose	120º dia		
	IQ1	IQ2	IQ3
0	0,651 ^{d*} ±0,01 ^{**}	0,657 ^c ±0,01	0,630 ^c ±0,02
5	0,713 ^c ±0,00	0,670 ^c ±0,06	0,646 ^c ±0,09
10	0,820 ^b ±0,01	0,796 ^b ±0,01	0,759 ^b ±0,03
15	0,863 ^a ±0,01	0,859 ^a ±0,02	0,829 ^a ±0,02

*Letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão

Também podemos observar que quando comparadas as três tabelas ocorre sempre um aumento na polimerização das antocianinas, demonstrando que o tempo é fator importante no processo de envelhecimento.

No trabalho desenvolvido por FORTES (2012), os vinhos de jabuticaba foram analisados conforme o tempo apresentaram maior polimerização das antocianinas sendo os valores de IQ1 e IQ3 maiores de um ano para outro.

Neste tipo de análise a bebida está em seu estado original e é tratada com SO₂, acetaldeído e ácido clorídrico para avaliar o equilíbrio das antocianinas. No entanto o vinho possui dois tipos de antocianinas as monoméricas (analisadas anteriormente no item 6.4) e as poliméricas. As primeiras em presença de SO₂ sofrem descoloração, acontecimento este que não se verifica com antocianinas poliméricas. Já o acetaldeído nas amostras liga-se com SO₂ presente naturalmente no vinho e retira o efeito descolorante. A adição de HCl ao baixar o pH faz com que as antocianinas monoméricas passem para sua forma mais coloridas, contudo não afeta as poliméricas. Sendo assim, maiores valores encontrados para idade química indicam maior proporção de antocianinas polimerizadas, sendo que estas são formadas no processo natural de envelhecimento dos vinhos (SOMERS e EVANS, 1977).

5.7 Determinação de sólidos Solúveis

Na Tabela 11, analisando o efeito dos tratamentos nas amostras, averiguou-se que não houve diferença estatística significativa entre as doses e o controle, a 0 dias. No entanto, a amostra irradiada com a dose de 15 kGy apresentou diferença estatística significativa em relação ao controle, no 60 dias.

No período de 120 dias, não houve diferenças estatística significativas entre as amostras.

Tabela 11- Valores médios de sólidos solúveis (°Brix) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	1	60	120
0	8,8 ^{aA*} ±0,34 ^{**}	8,9 ^{aA} ±0,17	8,0 ^{aB} ±0,92
5	9,0 ^{aA} ±0,11	8,8 ^{abB} ±0,32	8,8 ^{aB} ±0,09
10	8,8 ^{aA} ±0,23	8,7 ^{abA} ±0,16	8,6 ^{aB} ±0,16
15	9,2 ^{aA} ±0,05	8,7 ^{bA} ±0,16	8,6 ^{aB} ±0,28

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Avaliando os períodos de armazenamento, verificou-se que para o controle somente no 120 dias. Para as amostras irradiadas com 5 kGy ocorreu diminuição aos 60 e 120 dias. Nesse período, as médias de °Brix não apresentaram diferenças significativas, quando comparados entre si, mas houve diminuição significativa quando comparado ao controle. Com relação as amostras irradiadas com 10 e 15 kGy, estas apresentaram o mesmo comportamento do controle, só havendo diminuição significativa ao 120 dias.

Segundo KARASZ (2005), em vinhos brancos Riesling Itálico, normalmente secos, a quantidade de sólidos solúveis não altera durante o envelhecimento de dois anos. A quantidade de sólidos solúveis destes vinhos fica entre 1,24 à 5,25 °Brix. Todavia, neste trabalho observou-se a redução dos sólidos solúveis a partir de 120 dias, tanto no controle quanto nas amostras irradiadas a 10 e 15 kGy.

Em um estudo realizado por PIRES e SCANHOLATO (2011), as amostras de vinho tinto suave irradiadas com 3 e 6 kGy, apresentaram redução nos teores de sólidos solúveis, assim, como mostrado na Tabela 6, no 60º dia, com utilização da dose de 15kGy, a média apresentou-se menor que o controle.

5. 8 Determinação de cinzas

Na Tabela 12 averiguou-se que as doses utilizadas não causaram efeitos nas amostras, pois não houve diferenças significativas estatísticas em nenhum dos tempos analisados.

Tabela 12- Valores médios encontrados na análise de cinzas (%) do “vinho” tinto de jabuticaba irradiado e durante o armazenamento

Dose	Tempo após a irradiação (dias)		
	0	60	120
0	0,44 ^{aA*} ±0,07 ^{**}	0,43 ^{aA} ±0,06	0,31 ^{aA} ±0,11
5	0,50 ^{aA} ±0,10	0,31 ^{aAB} ±0,06	0,16 ^{aB} ±0,09
10	0,46 ^{aA} ±0,08	0,39 ^{aA} ±0,03	0,22 ^{aB} ±0,10
15	0,43 ^{aA} ±0,18	0,37 ^{aAB} ±0,09	0,16 ^{aB} ±0,08

*Letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey

**± Desvio Padrão na mesma coluna

Com relação à análise da interferência do tempo de armazenamento, pode-se observar que nas amostras controle não houve diferença significativa em nenhum dos períodos avaliados. As amostras irradiadas com dose de 5 kGy não apresentaram diferença significativas no 60º dias, quando comparadas ao tempo inicial e ao 120º dias, sendo que neste experimento os valores apresentados são menores que o controle.

Para as amostras irradiadas com 10 kGy, houve uma diminuição significativa ocorreu somente no 120 dias, sendo que os períodos 0 e 60 dias não apresentaram diferença estatística significativa entre si. E nas amostras irradiadas com 15 kGy, observou-se comportamento igual as amostras irradiadas com 5 kGy.

A legislação permite que haja nos vinhos tintos o mínimo de 1,5 g/L de cinzas e não há valores estabelecidos para o máximo (BRASIL, 1988b). Os valores encontrados neste trabalho estão de acordo com a legislação vigente.

5.9 Análise do tipo de levedura por PCR

Para a fermentação, foi utilizado levedura de pão Fleishmann comercial. Ao final da produção do vinho, quando este foi centrifugado e engarrafado, a amostra da levedura, remanescente e precipitada no fundo do fermentador, foi coletada e analisada através de caracterização molecular. Resultados das análises de 5 amostras isoladas

estão apresentadas na figura 2. Pode-se observar que o padrão de bandas obtido da análise com os primers P1 (Figura 2a), P2 (Figura 2b), P3 (Figura 2c) e P4 (Figura 2d), o

padrão de bandas foi semelhante para todas as amostras (1 a 5). Com base nestes resultados, pode-se observar que a levedura não foi substituída ao longo do ciclo de produção do vinho de jabuticaba, também não foi detectado qualquer contaminação no processo com outras espécies de leveduras.

Para que se tivesse um padrão de comparação da levedura resultante da fermentação do vinho de jabuticaba, em relação a levedura comercial Fleishmann, foi feita a análise através de caracterização molecular. Resultados dessas análises das 5 amostras isoladas podem ser visualizadas na figura 3. Pode-se observar que o padrão obtido com as amostras de leveduras remanescentes da produção do vinho de jabuticaba, comprovou que a levedura comercial Fleishmann de pão permaneceu no processo de produção do vinho e que não foram detectadas leveduras selvagens durante o processo.

Figura 2: Padrão de bandas dos *primers* P1 (a) e P2 (b), a 54°C, e P3 (c) e P4 (d), a 57°C, das amostras 1 a 5 de levedura remanescente da produção de um vinho de jabuticaba utilizando-se levedura comercial Fleishmann, para caracterização molecular, comparados com o padrão de peso molecular (PM).

Figura 3. Padrão de bandas dos *primers* P1 (a) e P2 (b), a 54°C das amostras 1 a 5 de levedura comercial Fleishmann, para caracterização molecular, comparados com o padrão de peso molecular (PM).

SILVA FILHO (2003) analisou destilarias, da região Nordeste do Brasil, que utilizavam leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae*, como cultura start em seus processos fermentativos. Por PCR ele também comprovou que as leveduras dominantes

após o processo fermentativo eram da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Resultado este igual ao encontrado no pé-de-cuba do vinho de jabuticaba após a fermentação.

ANTONANGELO (2012) analisou leveduras destilaria de São Manuel, localizada no estado de São Paulo, por PCR e encontrou 138 colônias de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto também foram encontradas leveduras selvagens no processamento, já que a destilaria optava por fermentação natural.

6. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que:

- Quanto maior a dose de irradiação aplicada no vinho maior são as quebras das moléculas responsáveis pela pigmentação da cor vermelha e azul e polimerização das moléculas responsáveis pela pigmentação, portanto havendo alteração na sua coloração e variação dos teores de antocianinas e de taninos, características de vinhos envelhecidos.
- As características que ocorrem com o tratamento de irradiação nas doses de 5 e 10 kGy foram adequadas para o envelhecimento do vinho com uso da irradiação.
- Em relação ao tempo de armazenagem do vinho, o período de 120 dias foi suficiente para atingir a sua estabilidade.
- Através da avaliação das características físico-químicas de pH, acidez, teor alcoólico, quantidade de sólidos solúveis e cinzas, conclui-se que foi produzido uma bebida dentro dos padrões de qualidade exigidos pela legislação
- As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* comerciais Fleishman atendem aos requisitos para uma boa fermentação alcoólica para produção de bebida e é resistente a competição com outras leveduras, pois na análise de PCR não foi detectado nenhum outro DNA que não fosse da levedura comercial Fleishmann.
- “Vinho” tinto de jabuticaba precisa ser produzido com a fruta em estado ótimo de maturação, pois quando processado com frutas em senescência seu teor de acidez fica acima do permitido pela legislação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of AOAC International*. 16 ed., v.2. Washington: AOAC, 1995

ANTONANGELO, A. T. B. F., **Genotipagem de leveduras presentes no processo industrial de produção de álcool combustível e estudo do polimorfismo de genes envolvidos no processo fermentativo em *Saccharomyces cerevisiae***. 2012, fl. 83 Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Botucatu, Universidade “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2012

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, V.S. 243p (1990)

[ARTHUR, V.](#) ; PIRES, J. A. ; SILVA, L. C. A. S. ; [HARDER, M. N. C.](#) ; FRANCO, S. S. H. ; FRANCO, J. G. ; MACHI, A. R. ; ARTHUR, P. B . Irradiação de cachaça comercial visando o envelhecimento precoce. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 8, p. 11-13, 2014.

BARNABÉ, D. **Produção de vinho de uvas dos cultivares Niágara rosada e bordô: análises físico-químicas, sensorial e recuperação de etanol a partir do bagaço**. 2006 fl. 106 Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas. Botucatu, ago. 2006.

BARROS, E. A. de., **Produção de bebida mista de extrato Hidrossolúvel de soja e suco de uva submetida a diferentes doses de radiação gama**. 2016. Fl. 136. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Botucatu, 2016

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos** ed. 3. Campinas, Varela, p.143, 2001

BLASI, Tereza Cristina. **Análise de consumo e constituintes químicas de vinhos produzidos na quarta colônia de imigração italiana no Rio Grande do Sul e sua relação com as frações lipídicas sanguíneas**. 2004. fl. 85 Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2004.

BRASIL (a) **Lei nº 7.678, de 08 de Novembro de 1988**. Art. 9º. Disponível em:<http://www.uvibra.com.br/legislacao_lei7678.htm> Acessado em: 10 maio 2017

BRASIL (b) Portaria nº 229, de 25 de outubro de 1988. Ministro de Estado da Agricultura. Disponível em: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:DTLrVbz2BXIJ:www2.agricultura.rs.gov.br/uploads/126989498929.03_enol_p_229_88_mapa.doc+&cd=3&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br Acesso em: 23 maio 2017

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009 que Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas

BRASIL. Instrução Normativa nº 34, de 29 de novembro de 2012. Minsitério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-34-de-29-de-novembro-de-2012.pdf> Acesso em: 23 maio 2017

CHANG, A. C.. *The effects of gamma irradiation on rice wine maturation.* **Food Chemistry**, n. 83, p. 323-327, jan. 2003

CHORILLI, M.; LEONARD, G. R.; SALGADO, H. R. N. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 3, p. 113-118, 2007

CLELAND, M.R.; PARKS, L. A; CHANG, S.. Nuclear Radiation Inactivation of Bioterrorism Agents. p. 66 e 208, 2003

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e Caracterização do vinho de laranja. **Quim. Nova**, v.24, n. 4., p. 449-452, 2001

DAVID, J. M. P.; DAVID, J. P.; SANTSO, V. L. C. S.; SANTOS, M. L. S. MOTTA, M. D.. Resveratrol: ações e benefícios à saúde humana. **Diálogos e Ciência – Revista da Rede de Ensino FTC**, ano 5, n. 10, p. 1-11, maio 2007.

DIEHL, J. F. *Safety of irradiated food.* New York, Marcel Dekker, 1995. 345p.

DORNELES, D. Influência do emprego de variedades de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de vinho tinto de uva Terci oriunda do município de Colombo – PR. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003

FERREIRA, V. L. P. **Análise sensorial:** testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, 2000. 127 p.

FOGAÇA, A. O., **Compostos fenólicos em uvas e vinhos da variedade Merlot**. 2012 fl. 142. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004

FORTES, G. A. C. **Análise multiparimétrica da qualidade dos frutos, mostos e vinhos de jabuticaba**. 2012, fl.62. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012

FROEHLICH, A. **Irradiação de ovo líquido, congelado e ovo, gema e clara em pó: redução da população de *Salmonella enteritidis* e aspectos sensoriais e físico-químicos**. 2004. 66 p. Tese (Doutorado em Microbiologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2004.

GAVAS, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G.. Fatores que afetam a multiplicação de microorganismos, Microbiologia dos alimentos. **Tecnologia dos Alimentos, Princípios e Aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008, p. 98

GUEDES, M. N. S. **Diversidade de acessos de jabuticabeira sabará em diamantina por meio de caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiológica das sementes**. 2009. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Jequitinhonha, Diamantina, 2009

GUERRA, C.C. et al., Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos. Documento n. 48, Bento Gonçalves, jun. 2009

GUÍA BÁSICA DE ENOLOGIA, *Curso sobre el Vino. Léccion 1*. p. 2-3

GUIMARÃES, D.P. **Avaliação de estresse e do potencial fermentativo de isolados de *Saccharomyces* na microvinificação da jabuticaba**. 2006. Fl. 94. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Lavras, Lavras 2006.

HARDER, M. N. C., **Efeito da radiação gama em proteínas alergênicas de ovos de galinhas poedeiras**. 2009. fl. 60. Tese (Doutorado em Ciências) Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP, Piracicaba, 2009

HASHIZUME, T. *et al.* (org) Produção de etanol. In: Tecnologia do vinho. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos**. v. 4. São Paulo: Blucher, 2001, p.22 a 30; 47 a 63

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo, 2008

JACKSON, R. S. *Wine science: principles, practice, perception*. ed. 2 San Diego: Academic Press, 2000. p.648

JHAM, GN; FERNANDES, SA; GARCIA, CF, PALMQUIST, D. *Comparison of GC and HPLC for quantification of organic acids in two jaboticaba (Myrciaria) fruit varieties. Quim. Nova*, v.30, n.7, p.1529- 1534, 2007.

KARASZ, Patrícia et. al. Influência do envelhecimento na aceitação e nas características físico-químicas de vinhos brancos Riesling Itálico brasileiros. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara. V. 16, n. 1, p. 45-50, jan.-mar., 2005

KONDAPALLI, N.; SADINENI V.; VARIYAR, P.S.; SHARMA, A.; OBALAM, V. S. R. *Impact of -irradiation on antioxidant capacity of mango (Mangifera indica L.) wine from eight Indian cultivars and the protection of mango wine against DNA damage caused by irradiation. Process Biochemistry*. v.49, ed. 11, p. 1819-1830, 2014

KOVÁCS, E.; KERESZTES, A. *Effect of gamma and UV-B/Cradiation on plant cells. Micron*, Oxford, v. 33, n. 2, p. 199-210, 2002.

KURTZMAN, C.P.; ROBNETT, C.J. *Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S). Ribossoma, DNA partial sequences*. Antoniee van Leewenhoek, v. 73, n.4, p. 331-371, 1998.

LACAMPAGNE, S. *Localisation et caractérisation des tannins dans la pellicule du raisin : Etude de l'impact de l'organisation physico-chimique des parois cellulaires sur la composante tannique, la qualité du fruit et la typicité des raisins de Bordeaux*. 2010. Tese (Doutorado em Microbiologia). Universidade de Bordeaux, Bordeaux, 2010

LEITE, D. T. S., **Avaliação dos efeitos da radiação gama na qualidade de abacaxi (Ananas comosus (L.) Meer) cv. Smooth Cayenne minimamente processado, armazenado em diferentes temperaturas e embalagens**. 2006. fl. 91 Tese (Doutorado em ciências) Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP, Piracicaba, 2006

LEPKI, L. F. S. F., **Efeito da radiação na viscosidade do ovo industrializado**. 1998. fl 90 Dissertação (Mestrado em Ciências) Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares - USP, São Paulo, 1998

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: Produção do Etanol. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. vol. 3 São Paulo: Blucher, 2001, p. 12

LIMA, L. S. Radiação Gama. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 4, p. 1-2. , 2014

MACEDO, G. B. **Estabilidade e tratamento de taninos condensados**. 2015, . fl. 39. Trabalho de Graduação (Graduação em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015

MACHADO, A.M.R. et al., Identificação de Antocianinas na Casca de Jabuticaba Liofilizada. In: XVIII Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, São Paulo, NET. 13, set. 2013.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos em suco de uva. **Ciência Tecnologia e Alimentação**, Campinas, n. 25, p. 659-664, out-dez. 2005. 80

MEDEIROS, M. A. Radiação Nuclear, edição de 23 de maio de 2004. Disponível em: <<http://www.quiprocura.net/radianuclear.htm>>. Acessado em: 18 abr. 2016

PRICE, M. L.; HAGERMAN, A. E., *Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas, and human mung beans*. **J. Agric. Food Chemistry**, v.28, n.2, p.459-461,1980.

MIELE, A. Técnicas de análise sensorial de vinhos e espumantes. NET, Toda Fruta. São Paulo. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br>> Acesso em: 15 jul. 2016

MIRANDA, M. B. **Avaliação físico-química de cachaças comerciais e estudo da influencia da irradiação sobre a qualidade da bebida em tonéis de carvalho**. 2005. fl. 86. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, Piracicaba, 2005

MIRANDA, M. B. de; HORII, J.; ALCARDE, A. R.. Estudo do efeito da irradiação gama (^{60}Co) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas. V. 26, n. 4 out.- dez. 2006

NAVES, S. S.; FORTES, G. Ap. C.; ALVARES, R.; SILVA, A. P. de; REIS, C. F. de; SANTOS, S. C. Análise dos ácidos orgânicos e açúcares no fruto, mosto e vinhos da jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*) . Net. Goiania. Disponível

em:<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pivic/trabalhos/SARA_SAN.PDF>
 Acesso em: 04 jul 2017

NOGUEIRA, A. et al. Análise dos indicadores físico-químicos de qualidade da sidra brasileira. SEMINA: Ciências Agrárias, Londrina, v. 24, n.2 p. 289-298, jul.-dez. 2003.

PEREIRA, N. E. et al. Compostos secundários em cachaças produzidas no estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n°5, out. 2003.

PIRES, J. A. e SCANHOLATO, M. Envelhecimento de vinho por irradiação gama (^{60}Co), 2011, fl. 89. Trabalho de Graduação (Graduação em Tecnologia de Biocombustíveis). Faculdade de Tecnologia – FATEC, Piracicaba, 2011

PIRES, J. A. **Efeito da irradiação na aceleração do envelhecimento do vinho de jaboticaba**. 2015, fl 32. Trabalho de Graduação (Graduação em Tecnologia em Agroindústria), Faculdade de Tecnologia – FATEC, Piracicaba, 2015

PIRES, J. A.; ARTHUR, V.; HARDER, M. N. C. Envelhecimento precoce de cachaça com irradiação gama (^{60}Co) através da extração de compostos da uva. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n. 1, 2013, p.43-47

PIRES, J. A.; DELABIO, A. S.; VICENTE, R. P.; HARDER, M. N. C.; SILVA, L.C.A.; ARTHUR, V.. Efeito da radiação gama (Co^{60}) em cachaça na presença de uvas (Crimson). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, 2015

PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. *Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeonpeas and mung beans*. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 2, p. 459-461, 1980.

RIZZON, L. A.; MANFROI, L.. Fermentação. Sistema de produção de vinho tinto. Embrapa, NET. São Paulo, out. 2010. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoTinto/fermentacao.htm>> Acessado em: 15 out. 2016

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J.. Engarrafamento. Sistema de produção de vinho tinto. Embrapa NET. São Paulo, out. 2010. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoTinto/engarraffamento.htm>> Acessado em: 28 ago. 2016

RIZZON, L. A. ; MIELE, A. Correção do mosto da uva Isabel com diferentes produtos na Serra Gaúcha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, p.450-454, mar-abr. 2005.

RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; MIELE, A. Evolução da acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícolas do Rio Grande do Sul. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol. 18 n. 2, Campinas, maio,1998

SANTOS, J.; MACHADO, A.; DIAS, E.; NOVAIS, E.; FERREIRA, A. Processamento Industrial de Vinho Tinto. Processamento Geral dos Alimentos I. NET, Coimbra, out. 2007. Disponível em: <http://www.esac.pt/noronha/pga/0708/trabalhos/Processamento_Industrial_Vinho_Tinto_PGA_07_08.pdf> Acessado em: 05 maio 2017

STATISTICAL ANALISYS SYSTEM INSTITUTE ¾ SAS. User's guide: Statistics. Cary: 2009

SASSO, S.A.Z., CITADIN, I., DANNER, M. A. Propagação de Jaboticabeira por estaquia. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 577-583, jun. 2010

SILVA FILHO, E. A. Caracterização genética de populações de leveduras de destilarias de álcool combustível para otimização do processo de fermentação. 2003. fl. 108. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos), Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2003

SINGLENTON, V. L. e ROSSI Jr., J. A. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagentes. American Journal Enology Viticulture* v.16, p. 144-158, 1965

SOMERS, T. C.; EVANS, M. E. *Spectral Evaluation of Young Red Wines: Anthocyanin Equilibria, Total Phenolics, Free and Molecular SO₂, "Chemical Age". Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 28, p. 279-287, 1977

SOUZA, M. D. C. A. **Identificação, quantificação e comparação das substâncias químicas responsáveis pelos aromas da cachaça de alambique e do rum comercial tratados pelo processo de irradiação.** 2006. fl. 121 Tese (Doutorado em Aplicações da Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – USP, São Paulo, 2006

TAPIA, P. **Vinhos sem segredo.** São Paulo: Planeta, ed. 4, p. 81, 2009

TERCI, D.B.L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004, fl. 224, Tese (Doutorado em Química). Instituto de química, UNICAMP, Campinas, 2004.

URBAIN, W. M. ***Food Irradiation***. New York: Academic, 1986.

VIEITES, R. L. et al. Caracterização físico-química, bioquímica e funcional da jaboticaba armazenada sob diferentes temperaturas **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 2, p. 362-375, jun. 2011

ZHENG, X.; ZHANG, M.; FANG, Z.; LIU, Y., *Effects of low frequency ultrasonic treatment on the maturation of steeped greengage wine*. ***Food Chemistry***, v. 162, p. 264–269, 2014

APÊNDICE A

Tabela : Valores médios encontrados para análise de qualidade da jabuticaba em ponto de senescência , no ponto ótimo de maturação e de vinho do jabuticaba produzido com a fruta no ponto ótimo de maturação

	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez Total (mEq/L)	Acidez Volátil (mEq/L)	Teor Alcoólico (°GL)	Cinzas (%)
Fruto em senescência	2,80		148,01			
Fruto em ponto ótimo de maturação	3,40	12	95,51			
Vinho com fruto em ponto ótimo de maturação	3,28	Inicial: 13 Final: 3	125,95	13,64	10	0,40